



**DENEYSEL OTİZM MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
APİTERAPİ (PROPOLİS, ARI SÜTÜ VE ARI EKMEĞİ) VE OMEGA-3
TAKVİYESİNİN ETKİSİ**

İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN

**DOKTORA TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN

29/05/2023

DENEYSEL OTİZM MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA APİTERAPİ (PROPOLİS, ARI SÜTÜ VE ARI EKMEĞİ) VE OMEGA-3 TAKVİYESİNİN ETKİSİ

(Doktora Tezi)

İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2023

ÖZET

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) son zamanlarda prevalansı artmakta olan sosyal iletişim eksiklikleri, kısıtlı ve tekrarlayan davranış, duyuşsal anormalliklerle karakterize nörogelişimsel bir durumdur. Otizm spektrum bozukluğunda görülen nörolojik hasarda oksidatif stres çok kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca OSB'de bağışıklık sistemi disfonksiyonları ve bağırsak mikrobiyota değişiklikleri de gözlenmektedir. Bu nedenle bu çalışmada, propiyonik asit (PA) ile sıçanlarda deneysel otizm modeli oluşturularak oksidatif hasar ile sıçanlarda bağışıklık sistemi ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri incelenmiş ve sıçanlara apiterapi (propolis, arı sütü, arı ekmeği) ve omega- 3 yağ asidi (w-3) takviyeleri uygulanarak, PA ile oluşturulan hasar üzerindeki moleküler etkiler değerlendirilmiştir. Çalışmada, 38 adet genç Wistar türü erkek sıçan kullanılmıştır. Otizm modelinin uygunluğu açısından ön çalışma yapılarak 3 gün boyunca PA (250mg/kg) uygulaması yapılan sıçanların beyin (glial hücre) ve diğer dokuları incelenmiştir. Sıçanlara 4 hafta boyunca propolis ve arı ekmeği (250mg/kg); w-3 yağ asidi ve arı sütü (200mg/kg) ürünleri oral gavaj yöntemiyle uygulanarak inflamatuvar belirteçler (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α), oksitosin hormonu, karaciğer enzimleri, bağırsak bakterileri (*Clostridium sp*, *Laktobasiller*) ile CAT, SOD, GSH, GST gibi antioksidan enzimler ve karaciğer, böbrek, beyin ve ince bağırsak dokuları üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Sıçanların gruplara göre ağırlık ortalaması, PA uygulaması yapılan grup kontrole göre azalmış; arı sütü, arı ekmeği ve omega-3 yağ asidi uygulaması ile anlamlı derecede artmıştır ($p<0,05$). Propiyonik asit ile oluşturulan otizm modelinde, sıçanlarda PA uygulaması ile kontrole göre serum ALT değerlerinde anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0,05$). Apiterapi ürünleri uygulaması ile yükselmiş olan ALT değerleri azalmıştır. Propiyonik asit uygulaması sonucu sıçanların serum demir düzeylerinde görülen artış, apiterapi ürünleri ve omega – 3 uygulaması ile azalmıştır. Propiyonik asit uygulanan gruplarda azalma görülen demir düzeyi, propolis uygulaması sonrası anlamlı derecede yükselmiştir ($p<0,05$). Propiyonik asit ile oluşturulan otizm modelinde, sıçanlarda PA uygulaması ile kontrole göre serum SOD değerlerinde anlamlı bir azalma görülmüştür. Apiterapi ürünleri ve w-3 yağ asidi uygulaması ile azalmış olan SOD düzeyinde anlamlı derecede artış olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Propiyonik asit ile oluşturulan otizm modelinde, sıçanlarda PA uygulaması ile kontrole göre serum 8-OHdG değerlerinde anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0,05$). Apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması yapılan grupların 8-OHdG düzeyinde PA ve kontrol grubuna göre anlamlı derece azalma olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Propiyonik asit ile oluşturulan otizm modelinde, sıçanlarda PA uygulaması ile kontrole göre serum kaspaz-1 değerlerinde artış görülmüştür. Kaspaz-1 değeri arı sütü grubunda PA grubuna göre anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ek olarak PA uygulaması yapılan grup ile kontrol grup biyokimyasal değerlerin

karşılaştırılmasında serum AST, GGT, kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, albumin, kalsiyum, oksitosin, GSH, TAS, MDA, GST, GPX, katalaz, GSTs, C vitamini, GSSG, GSH/GSSG, IL-10, IL-6, IL-1 β ve TNF- α değerlerinde değişiklikler gözlenmiştir. Serum değerleri apiterapi ürünleri ve w-3 yağ asidi takviyesi sonucunda farklı oranlarıda düzülerek kontrol grubu serum değerlerine yaklaştığı gözlenmiştir. Fekal Clostridium spp. düzeyi arı sütü, arı ekmeği ve propolis grupları ile PA grubu arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bağırsak, beyin, böbrek ve karaciğer dokularında PA uygulaması ile ortaya çıkan doku hasarının, apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulamalarına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada; apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması PA kaynaklı otizm spektrum bozukluğunda görülen bozulmaların azalmasına yardımcı olabileceği belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 1007
Anahtar Kelimeler : Otizm, Apiterapi, Omega-3, Propiyonik Asit, Sıçan
Sayfa Adedi : 158
Danışman : Prof. Dr. A. Gülçin SAĞDIÇOĞU CELEP

EFFECT OF APITHERAPY (PROPOLIS, ROYALJELY AND BEE BREAD) AND
OMEGA-3 SUPPLEMENT IN RATS WITH AN EXPERIMENTAL AUTISM MODEL

(Ph. D. Thesis)

İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2024

ABSTRACT

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition characterized by social communication deficits, restricted and repetitive behavior, and sensory abnormalities with an increasing prevalence recently. Oxidative stress plays a critical role in the neurological damage seen in autism spectrum disorder. In addition, immune system dysfunctions and intestinal microbiota changes are also observed in ASD. Therefore, in this study, an experimental autism model was created in rats with propionic acid (PA) and its effects on oxidative damage and the immune system and intestinal microbiota in rats were investigated, and apitherapy (propolis, royal jelly, bee bread) and omega-3 fatty acid (w-3) supplements, molecular effects on PA-induced damage were evaluated. In the study, 38 young male Wistar rats were used. In terms of the suitability of the autism model, a preliminary study was made and the brain (glial cell) and other tissues of the rats administered PA (250mg/kg) for 3 days were examined. Propolis and bee bread (250mg/kg) for 4 weeks; w-3 fatty acid and royal jelly (200mg/kg) products are administered by oral gavage method to detect inflammatory markers (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α), oxytocin hormone, liver enzymes, intestinal bacteria (*Clostridium* sp, *Lactobacilli*) and antioxidant enzymes such as CAT, SOD, GSH, GST and their effects on liver, kidney, brain and small intestine tissues were evaluated. The mean weight of the rats according to the groups decreased in the PA treated group compared to the control; increased significantly with royal jelly, bee bread and omega-3 fatty acid application ($p<0.05$). In the autism model created with propionic acid, a significant increase in serum ALT values was observed with PA administration in rats compared to the control ($p<0.05$). ALT values, which were elevated with the application of apitherapy products, decreased. The increase in serum iron levels of rats as a result of propionic acid administration decreased with apitherapy products and omega-3 administration. Iron level, which was decreased in the groups treated with propionic acid, increased significantly after the application of propolis ($p<0.05$). In the autism model created with propionic acid, a significant decrease in serum SOD values was observed with PA administration in rats compared to the control. A significant increase was observed in the SOD level, which was decreased with apitherapy products and w-3 fatty acid administration ($p<0.05$). In the autism model created with propionic acid, a significant increase in serum 8-OHdG values was observed with PA administration in rats compared to the control ($p<0.05$). It was observed that the groups treated with apitherapy and w-3 fatty acids had a significant decrease in 8-OHdG levels compared to the PA and control groups ($p<0.05$). In the autism model created with propionic acid, an increase in serum caspase-1 values was observed with PA administration in rats compared to the control. Caspase-1 value was found to be significantly different in the royal jelly group compared to the PA group ($p<0.05$). In addition, in the

comparison of the biochemical values of the PA treated group and the control group, serum AST, GGT, cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, albumin, calcium, oxytocin, GSH, TAS, MDA, GST, GPX, catalase, GSTs, vitamin C, GSSG, Changes were observed in GSH/GSSG, IL-10, IL-6, IL-1 β and TNF- α values. As a result of apitherapy products and w-3 fatty acid supplementation, it was observed that serum values decreased at different rates and approached the serum values of the control group. Fecal Clostridium spp. A significant difference was found between the royal jelly, bee bread and propolis groups and the PA group ($p<0.05$). It was determined that tissue damage caused by PA application in intestinal, brain, kidney and liver tissues decreased due to apitherapy and w-3 fatty acid applications. As a result, in this study; It has been determined that apitherapy and w-3 fatty acid administration may help reduce the deterioration in PA-induced autism spectrum disorder.

Science Code : 1007
Key Words : Autism, Apitherapy, Omega-3, Propionic Acid, Rat
Page Number : 158
Supervisor : Prof. Dr. A. Gülçin SAĞDIÇOĞU CELEP

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesi ve planlanmasında bana yol gösteren, sabrını, desteğini ve kıymetli vaktini esirgemeyen tez danışmanım Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP'e ve Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nde bulunan bütün değerli hocalarıma,

Tez çalışmamda dokuların histopatolojik değerlendirilmesi aşamasında göstermiş olduğu değerli katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi Üyesi Sayın Prof. Dr. Evrim ARZU KOÇKAYA,

Tez çalışmama desteklerinden dolayı Tez İzleme Komitesi Üyesi Sayın Prof. Dr. Gamze AKBULUT'a,

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hiç esirgemeyen canım ailem; sevgili annem Hacer ÇAĞIRAN'a, sevgili babam Abidin Zeki ÇAĞIRAN ve sevgili kardeşlerim Ömer Lütfi ÇAĞIRAN ve Muhammet Talha ÇAĞIRAN'a

Hayatımda olduğu günden beri daima sevgimi ve üzüntümü önyargısız paylaşabildiğim; sabır ve sevgisiyle destek olup yanımda olan hayat arkadaşım kıymetli eşim Erva ÇAĞIRAN'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından TDK-2022-7871 proje kodu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB).....	5
2.1.1. Otizm spektrum bozukluğu tarihçesi	6
2.1.2. Otizm spektrum bozukluğu tanı kriterleri.....	7
2.1.3. Prevalans	10
2.1.4. Etiyolojisi.....	11
2.1.5. Dağılım	11
2.1.6. Genetik faktörler	12
2.1.7. Çevresel faktörler.....	13
2.1.8. Otizm spektrum bozukluğu patolojisi.....	14
2.1.9. Nöropatoloji	14
2.1.10. Ekstraserebral patoloji	15
2.2. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Serum Biyokimyasal Belirteçler	17
2.3. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Antioksidan Değerleri	19
2.4. Otizm Spektrum Bozukluğu ve İnflamatuvar Değerleri.....	20

	Sayfa
2.5. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Mikrobiyota Dengesi	21
2.6. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Beslenme	23
2.7. Apiterapi	25
2.7.1. Propolis	28
2.7.2. Arı ekmeği (perga)	29
2.7.3. Arı sütü.....	30
2.8. Omega- 3 Yağ Asidi	32
2.9. Otizm Hayvan Modelleri	33
2.9.1. Valproik asit modeli	34
2.9.2. Propiyonik asit modeli	35
2.9.3. Propiyonik asit ve otizm spektrum bozukluğu	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
3.1. Çalışma Hipotezleri	45
3.2. Çalışmanın Sınırlılıkları.....	45
3.3. Çalışmanın Güçlü Yönleri	46
3.4. Etik Kurul	46
3.5. Hayvanların Temini ve Bakımı.....	46
3.6. Otizm Hayvan Modeli Ön Çalışması.....	47
3.7. Yem İçeriği	48
3.8. Hayvanların Ağırlık Ölçümleri	48
3.9. Propiyonik Asit Uygulaması.....	49
3.10. Omega-3 Yağ Asidi Uygulaması.....	49
3.11. Apiterapi Numuneleri	49
3.12. Numunelerin Toz Haline Getirilmesi ve Tartılması	49
3.13. Apiterapi Ekstraksiyonlarının Hazırlanışı	50
3.14. DPPH Radikal Temizleme Etkinliği.....	50

	Sayfa
3.15. Tedavi Yöntemi	52
3.16. Propiyonik Asit Uygulaması:.....	53
3.17. Dekapitasyon ve Numunelerin Alınması.....	54
3.18. Doku Analizleri.....	55
3.19. Biyokimyasal Analizler	55
3.20. Dışkı Toplama ve DNA Analizleri	57
3.20.1. DNA ekstraksiyon.....	57
3.20.2. PCR (polimeraz zincir reaksiyonu).....	58
3.21. İstatistiksel Analiz.....	60
3.22. Araştırma Desteği	61
4. BULGULAR	63
4.1. Gruplara Göre Vücut Ağırlıklarının Değişim Bulguları.....	63
4.2. Gruplara Göre Kan Değer Bulguları.....	64
4.3. Gruplara Göre Antioksidan ve Oksidan Değer Bulguları.....	68
4.4. Gruplara Göre İnflamatuvar Değerleri Bulguları	69
4.5. Fekal Clostridium spp. ve Laktobasiller Bakteri Bulguları	72
4.6. Histopatolojik Bulgular.....	76
4.6.1. Grupların bağırsak dokusu histopatolojik bulguları	77
4.6.2. Grupların beyin dokusu histopatolojik bulguları	78
4.6.3. Grupların böbrek dokusu histopatolojik bulguları.....	79
4.6.4. Grupların karaciğer dokusu histopatolojik bulguları	80
5. TARTIŞMA	83
5.1. Apiterapi ve W-3 Yağ Asidi Besin Takviyesinin Vücut Ağırlıklarının Değişimi Üzerine Etkileri.....	83
5.2. Sıçanların Kan Bulgularının Değerlendirilmesi	83
5.3. Gruplara Göre Antioksidan ve Oksidan Değerlerinin Karşılaştırılması.....	89

Sayfa

5.4. Otizm Spektrum Bozukluğunda Apiterapi Takviyesinin İnflamatuvar Seviye Üzerine Etkileri.....	96
5.5. Otizm Spektrum Bozukluğunda Apiterapi ve Omega-3 Yağ Asidi Takviyesinin Fekal <i>Clostridium spp.</i> ve <i>Laktobasiller</i> Bakteri Sayısı Üzerine Etkileri	99
5.6. Sıçanların Apiterapi ve W-3 Yağ Asidi Gruplarına Göre Serum 8-OHdG Düzeyi ile Serum Antioksidan ve İnflamatuvar Seviye Arasındaki İlişki	100
5.7. Sıçanların Apiterapi ve W-3 Yağ Asidi Gruplarına Göre Fekal <i>Laktobasiller</i> Sayısı ile Serum Antioksidan ve İnflamatuvar Seviye Arasındaki İlişki	100
5.8. Otizm Spektrum Bozukluğunda Apiterapi Takviyesinin Periferel İnflamasyon Üzerine Etkileri.....	101
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	103
6.1. Sonuçlar	103
6.2. Öneriler	106
KAYNAKLAR	109
EKLER.....	147
EK-1. Etik Kurul Onayı	148
EK-2. Bulgu Grafikleri	149
ÖZGEÇMİŞ	153

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. DSM-5 tanı kriterleri.....	7
Çizelge 2.2. Otizm spektrum bozukluğunda genetik biyobelirteçler	15
Çizelge 2.3. Otizm spektrum bozukluğu serum biyobelirteçleri.....	19
Çizelge 2.4. Otizm spektrum bozukluğunda oksidatif stres ve antioksidan biyobelirteçler	20
Çizelge 2.5. Otizm spektrum bozukluğu ve inflamatuvar değerleri.....	21
Çizelge 2.6. Valproik asidin olası etkileri	35
Çizelge 3.1. Standart yem diyet örüntüsü.....	48
Çizelge 3.2. Apiterapi ürünlerinin serbest radikal süpürme yüzdeleri	52
Çizelge 3.3. Grupların sınıflandırılması	53
Çizelge 3.4. <i>Laktobasiller reuteri</i> Realtime PCR Kit	59
Çizelge 3.5. <i>Clostridium spp.</i> Realtime PCR Kit	60
Çizelge 4.1. Gruplara göre ağırlık değişimi sonuçlarının karşılaştırılması.....	63
Çizelge 4.2. Gruplara göre serum biyokimyasal bulguların karşılaştırılması	65
Çizelge 4.3. Gruplara göre antioksidan ve oksidan değerlerinin karşılaştırılması.....	67
Çizelge 4.4. Gruplara göre inflamatuvar belirteçlerinin karşılaştırılması	71
Çizelge 4.5. Gruplara göre fekal bakteri değerlerinin karşılaştırılması	73
Çizelge 4.6. Sıçanların apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarına göre serum 8-OHdG düzeyi ile serum antioksidan ve inflamatuvar seviye arasındaki ilişki	75
Çizelge 4.7. Sıçanların apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarına göre fekal Laktobasiller sayısı ile serum antioksidan ve inflamatuvar seviye arasındaki ilişki.....	75
Çizelge 4.8. Histopatolojik bulguların insidansları	76

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Otizm spektrum bozukluğu DSM-5 kriter ve tanımlayıcıları	9
Şekil 2.2. Otizm spektrum bozukluğunun klinik belirtileri.....	16
Şekil 2.3. Farklı türdeki apiterapi örnekleri	32
Şekil 2.4. Propiyonik asidin sentezi	36
Şekil 2.5. Propiyonik asit	37
Şekil 3.1. 3 günlük PA uygulaması ön çalışma doku örneği.....	47
Şekil 3.2. Propiyonik asit modeli deney akış şeması.....	54
Şekil 3.3. Dilüsyon işlemi	56
Şekil 4.1. Grupların bağırsak doku örnekleri	78
Şekil 4.2. Grupların beyin doku örnekleri.....	79
Şekil 4.3. Grupların böbrek doku örnekleri.....	80
Şekil 4.4. Grupların karaciğer doku örnekleri.....	81

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Sıçanların barınma koşulları.....	47
Resim 3.2. Hayvan ağırlık ölçümü.....	48
Resim 3.3. Numunelerin toz haline getirilmesi ve tartılması	50
Resim 3.4. Ultrasonik banyo ve santrifüj cihazında ürünlerin hazırlanması.....	50
Resim 3.5. UV-2500/Ultraviyole görünür spektrofotometresi.....	51
Resim 3.6. Oral apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması.....	53
Resim 3.7. Sıçanların dekapitasyon işlemi sonrası organ ve kan numunelerinin alınması	54
Resim 3.8. Biyokimyasal analiz uygulaması.....	56
Resim 3.9. Fekal analiz uygulaması	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat
µl	Mikrolitre
g	Gram
kg	Kilogram
Km	Michaelis-Menten sabiti
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
µmol	Mikromol
ng	Nanogram
pg	Pikogram
pH	Potansiyel hidrojen
ug	Mikrogram

Kısaltmalar	Açıklamalar
8-OHdG	8-hidroksi deoksiguanozin
AS	Arı sütü
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CDC	Hastalık kontrol ve korunma merkezi
Cu	Bakır
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSM	Ruhsal bozuklukların tanısal ve istatistiksel el kitabı
Fe	Demir
GI	Gastrointestinal
GPX	Glutasyon peroksidaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
GPx	Glutasyon peroxidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon.
GST	Glutasyon - S - transferaz
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
ICD	Uluslararası hastalık sınıflandırması
IFN γ	İnterferon gama
IL-1	İnterleukin 1
IL-10	İnterleukin 10
IL-12p40	İnterlökin 12 ailesi
IL-12p70	İnterlökin ailesi
IL-13	İnterlökin 13
IL-15	İnterlökin 15
IL-17	İnterlökin 17,
IL-1b	İnterleukin 1 beta
IL-1α	İnterlökin 1alfa,
IL-2	İnterlökin 2
IL-23	İnterlökin 23
IL-4	İnterlökin 4
IL-5	İnterlökin 5
IL-6	İnterleukin 6
IL-7	İnterlökin 7
IL-8	İnterlökin 8,
IL-9	İnterlökin 9
IL-RA	İnterlökin 1 reseptör antagonisti
IL-β	İnterlökin beta,
IP-10 (CXCL10)	İnterferon gama kaynaklı protein
K	Potasyum
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MCP-1(CCL2)	Monosit kemoatraktan protein-1

Kısaltmalar	Açıklamalar
MDA	Malondialdehit
Mg	Magnezyum
MIP-1α (CCL3)	Makrofaj inflamatuvar protein ailesi
MIP-1β (CCL4)	Makrofaj inflamatuvar protein ailesi
Mn	Manganez
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
Na	Sodyum
PA	Propiyonik asit
PDD-NOS	Başka bir şekilde belirtilemeyen yaygın gelişimsel bozukluk
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Toplam antioksidan seviyesi
TFİ	Toplam fenolik içerik
TNF-α	Tümör nekrozis faktörü- α
TNF-β1	Tümör nekrozis faktörü beta 1,
TSH	Tiroit uyarıcı hormon
VPA	Valproik asit
W-3	Omega- 3
Zn	Çinko

1. GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) son zamanlarda prevalansı artmakta olan ve dünya çapında karşılaşılan en büyük tıbbi zorluklardan birisidir (Aabed, Shafi Bhat, ve diğerleri, 2019; de Theije ve diğerleri, 2014). Bu bozukluk sosyal iletişim eksiklikleri, kısıtlı ve tekrarlayan davranış, duyuşal anormallik ile karakterize nörogelişimsel bir durumdur (Doreswamy ve diğerleri, 2020). OSB'li bireylerin beyinindeki karmaşa, davranış fenotiplerinden sorumlu olan etiyolojik mekanizmaları tam olarak anlaşılmasına engel olmaktadır. Bu nedenle otizm patogeneğinde yer alan mekanizmaların ortaya çıkmasına yardımcı olan etkili bir tedavi için çok sayıda hayvan otizm modeli geliştirilmiştir (El-Ansary ve diğerleri, 2018; Baker ve diğerleri, 2020). Kullanılan hayvan modelleri, temel mekanizmaları incelemek ve bu bozukluğun semptomlarının değerlendirilmesine yönelik yaklaşımları belirlenmesi için büyük önem taşımaktadır (Baker ve diğerleri, 2020; Hrabovska ve Salyha, 2016a). Otizm spektrum bozukluğunda kabul görmüş propiyonik asit (PA) modeli gibi farklı modelleme teknikleri bulunmaktadır (Hrabovska ve Salyha, 2016b).

Propiyonik asit kullanılarak uygulanan otizm modeli yöntemi yaygın olarak tercih edilmektedir. Propiyonik asit vücutta asetat ve bütirat gibi diğer kısa zincirli yağ asitleri ile birlikte bağırsak bakterileri tarafından üretilir (El-Ansary ve diğerleri, 2018). Propiyonik asit zayıf organik asit olması nedeniyle bağırsaklardan kolaylıkla geçerek kan-beyin bariyerinden beyin dokularına ulaşır (Karuri ve diğerleri, 1993). Sıçanlara oral yolla PA verilmesi otizimli hastalarda gözlenen hiper lokomosyon, bozulmuş sosyal etkileşim, anksiyete gibi davranışsal ve nöropatolojik değişiklikleri arttırıcı etkiye sahiptir (Al-Salem ve diğerleri, 2016). Bağırsakta birincil kolonilerden biri olan *Clostridial* türü bakteriler PA üretmektedir (Aljumaiah ve diğerleri, 2022). Enfeksiyonlara ve bir çok antibiyotiğe karşı dirençli olan *Clostridium* türü bakteriler otizimli hastalarda yüksek olarak bulunmaktadır (El-Ansary ve diğerleri, 2017). Bağışıklık sistemindeki değişiklik endokrin ve sinir sistemlerinin işlevlerini etkileyebileceği değerlendirilmektedir. Bağışıklık, sinir ve endokrin sistemleri arasındaki etkileşim olarak tanımlanan immünoneuroendokrin ağ, kan-beyin bariyerinde artmış PA oranıyla birlikte etkilenmektedir (Aabed, Shafi Bhat, ve diğerleri, 2019). MacFabe ve diğerleri (2007) intraventriküler PA infüzyonunun laboratuvar faresindeki davranışı insanda gözlenen OSB semptomlarıyla uyumlu bir şekilde değiştirdiğini göstermiştir (Macfabe ve diğerleri, 2007a). Propiyonik asit hayvan modeli davranışsal, nöropatolojik ve biyokimyasal bulgular, otizmin beyni etkileyen sistemik metabolik bir ensefalopatik süreç

olabileceği hipotezine desteklemektedir. Ayrıca, PA maruziyetini takiben sosyal davranışta geri dönüşlü bozulmalar olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur (Shultz ve diğerleri, 2008). El-Ansary ve diğerlerinin (2012) PA uygulaması yaptıkları sıçanlarda lipit peroksidasyonu gibi oksidatif stres belirteçlerinde artış; glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan aktivelerde azalma olduğunu belirtmiştir. Ek olarak, PA uygulaması yapılan sıçanlarda OSB'li bireylere paralel olarak IL-6, TNF-a, IFN- γ seviyelerini etkilediğini belirtmiştir (El-Ansary ve diğerleri, 2012a). Propiyonik asit, nörogelişimsel bozukluklarla ilişkili kısa zincirli yağ asitleri arasında en düşük Km değerine sahip (2,03) ve en yüksek beyine geçiş oranına (%43,53) sahiptir (El-Ansary ve diğerleri, 2012b). Ek olarak, OSB'li hastalarda sağlıklı yaş uyumlu kontrol grubuna kıyasla daha düşük plazma konsantrasyonuna ve yüksek beyine akış oranına sahip olan tek kısa zincirli yağ asidi olması nedeniyle PA kullanılması tercih edilmiştir (El-Ansary ve diğerleri, 2011).

Otizm spektrum bozukluğunda bazı besinler mide ağrısı ile ilişkilendirilmektedir. Fakat bazı besinler de otizm semptomlarının azalmasına yardımcı olabilmektedir (Adams ve diğerleri, 2011). Propolis, arı poleni, arı sütü ve arı ekmeği gibi apiterapi ürünleri otizmle ilişkili olan serotonin, dopamin ve noradrenalin gibi nörotransmitter seviyelerinde iyileşmeye yardımcı olabilmektedir (Al-Salem ve diğerleri, 2016). Arı poleni, antiinflamatuvar etki yaparak PA kaynaklı artmış IFN- γ ve kaspaz-3 seviyesinin azalmasını sağlamıştır (Al-Salem ve diğerleri, 2016; El-Ansary ve diğerleri, 2017). *Clostridia*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* gibi mikrobiyaller otizmlili hastada, özellikle ve ampisilin türü antibiyotik kullanımı sonucu bu bakteri türlerinde artış olmaktadır (Eraslan ve diğerleri, 2009). Arı poleni ve propolis kullanımı bu patojenlere karşı olumlu etki yaparak miktarlarında azalma sağladığı belirtilmektedir (Aabed, Shafi Bhat, ve diğerleri, 2019; Baltrušaitis ve diğerleri, 2007; Komosinska-Vassev ve diğerleri, 2015). Ek olarak, propolis yüksek flavonoid içeriği nedeniyle güçlü antioksidan etki yapmaktadır (Didaras ve diğerleri, 2020).

OSB'li kişilerin yağ metabolizmasında görevli olan enzimlerde anormallik olması oksidatif stress artışına neden olabilmektedir (Kittana ve diğerleri, 2021). Yağ asidi metabolizmasındaki bu anormallik gelişim döneminde normal beyin fonksiyonunu etkilemektedir (Chauhan ve Chauhan, 2006). Metabolizmadaki bu bozukluk bağırsak mikrobiyal dengesinin de bozulmasına neden olmaktadır (Orozco ve diğerleri, 2019). Bozulan dengenin düzeltilmesi otizm semptomlarının azalmasında potansiyel etkisinin

olabileceği belirtilmektedir. Yapılan birçok çalışma mikrobiyotanın bağırsak-beyin eksen varlığını ne sürerek otizm tedavisinde olumlu etkisinin bulanacağını belirtmiştir (Alharthi ve diğerleri, 2022; Shanmugam ve diğerleri, 2022).

Omega- 3 yağ asidi uygulaması OSB’de bozulmuş olan sosyal davranış üzerinde önemli gelişmeler göstermiştir (Shanmugam ve diğerleri, 2022). Yüksek dozda w-3 yağ asidi takviyesi sosyal güçlükler ile karakterize OSB tedavisinde etkili olan prostaglandin ve oksitosin hormon sentezinde olumlu etki yapmaktadır (Boone ve diğerleri, 2022; Z. Liu ve diğerleri, 2023).

Bu araştırma, propiyonik asit ile deneysel otizm modeli oluşturularak apiterapi (propolis, arı sütü, arı ekmeği) ve w-3 yağ asidi(w-3) takviyesinin proinflamatuvar, antiinflamatuvar sitokin (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α), hormon (oksitosin), karaciğer enzimleri, bağırsak bakterileri (*Clostridium sp*, *Laktobasiller*) ile katalaz, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon -S- transferazın (GST) gibi antioksidan kapasitesi ve karaciğer, böbrek, beyin, ince bağırsak dokuları üzerine olası etkilerini incelenmesi amacıyla planlanıp yürütülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB)

Gelişimsel bozukluklar, bireyin tekli ya da çoğul zihinsel ve fiziksel bozukluğu olarak ifade edilen, gelişim döneminde başlayan ve süresiz olarak devam eden sosyal, mesleki ve günlük yaşamda önemli kısıtlamalara neden olan bir durumdur (Joon ve diğerleri, 2021). Gelişimsel bozukluklar arasında dikkat eksikliği, hiperaktivite, otizm, öğrenme güçlüğü, zihinsel engel, motor bozukluklar, serebral palsy, asperger bozukluğu, rett sendromu, görme ve işitme bozuklukları yer alır. Zihinsel bozukluklar, düşünme sürecini, duyguları, ruh halini ve davranışları etkilemektedir (Joon ve diğerleri, 2021; Volkmar ve McPartland, 2014).

Otizm spektrum bozukluğu gibi gelişimsel bozukluklar, Amerikan Psikiyatri Birliği tarafından derlenen “Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı (DSM)” ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından dağıtılan “Uluslararası Hastalık Sınıflandırması (ICD)” tarafından tanımlanmaktadır. Klinik olarak benzer klavuzlar olan ICD ve DSM bölgelere göre kullanım farklılıkları göstermektedir. Amerika kıtasında DSM tercih edilirken, Avrupa ülkelerinde yaygın olarak ICD kullanılmaktadır (Volkmar ve McPartland, 2014). Günümüzde kullanımı hızlı şekilde yaygınlaşan “Otizm Spektrum Bozukluğu” terimi son halini alması bir asırdan fazla sürmüştür. "Otizm" kelimesi, kendi kendine izole edilmiş veya otomatik hareket ile eşanlamlı olan Yunanca kökenli "autos" kelimesinden gelmektedir (Volkmar ve McPartland, 2014). Otizm spektrum bozukluğu, bebek ve yürüme çağı çocuklarında olağandışı bir gelişim modelinin yer aldığı heterojen, çok faktörlü, gelişimsel bir yetersizliktir (Park ve diğerleri, 2016). Bu bozukluktan etkilenen çocuk, kendisini çevreleyen etkileşimlerden izole etmeyi tercih etmektedir (Bhat ve diğerleri, 2014).

Otizm spektrum bozukluğu gecikmiş büyümeden daha farklı semptomlar göstermesi nedeniyle nörogelişimsel yetersizlik hastalıklarından ayrılmaktadır (Rutter ve Schopler, 1987). Otizm spektrum bozukluğu ve zihinsel bozukluk semptomları genel olarak aynı anda ortaya çıkmaktadır. DSM-5'e göre, OSB, “Otistik Bozukluk, Başka Bir Şekilde Belirtilemeyen Yaygın Gelişimsel Bozukluk (PDD-NOS) ve Asperger Bozukluğu” da dahil olmak üzere karmaşık gelişimsel engellerin tamamını kapsayan bir ifade olarak belirtilmektedir (American Psychiatric Association, 2013a; Rutter ve Schopler, 1987). Otizm spektrum bozukluğu, yalnızca karşılıklı sosyal iletişimin ve sosyal etkileşimlerdeki

kalıcı bozulmalarla değil, aynı zamanda sınırlı, tekrarlayan davranış, ilgi alanları da ifade etmektedir. Bu klinik belirtiler, bebeklik döneminin ilk yıllarından yaşamın son yıllarına kadar gözlenmektedir (American Psychiatric Association, 2013a). Temel tanısız özellikler gelişimsel aşamada belirgindir, ancak bazı semptomlar beslenme ve özel desteklerle düzeltilebilmektedir (Joon ve diğerleri, 2021).

2.1.1. Otizm spektrum bozukluğu tarihçesi

Bin sekizyüzlü yılların başında otistik durumun ilk tanımlanmasından günümüze kadar OSB tanım ve tanı kriteri çok yönlü değişikliklere uğramıştır (Fletcher-Watson ve Happé, 2019). Güncel OSB kavramının temellerini İsviçreli psikiyatrist Paul Eugen Bleuler, Avusturyalı çocuk uzmanı Hans Asperger ve Amerikalı psikiyatrist ve sosyal aktivist Leo Kanner tarafından atılmıştır (de Castro, 1997, 1999; Kelishadi, 2007). Benzer tarih olan 1925 yılında OSB'yi Rus kadın psikiyatrist Grunya Efmovna Sukhareva ilk olarak “şizoid psikopati” olarak tanımlamış, 1959 yılında tanımını “otistik psikopati” olarak yeniden adlandırmıştır. Hindistan'da OSB'nin ilk tanımı 1944 yılında atılmıştır. Batı Bengal bölgesinde yer alan Darjeeling'de çalışan Viyanalı çocuk uzmanı A. Ronald, gelişimsel bozukluk sorunu olan çocuklar için “anormal çocuklar” terimini kullanmıştır. (Finucane ve diğerleri, 2011; GA., 2003; Mattson ve diğerleri, 2014). Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı (DSM) otizm ve şizofreni gibi birçok nörolojik hastalığı birlikte sınıflandırmıştır. Amerikan Psikiyatri Birliği geçen süre zarfında otizm spektrum bozukluğunu şizofreniden ayırarak tanısal nörolojik bir hastalık olarak ele almıştır (Fletcher-Watson ve Happé, 2019). Kanner otizmi tanımladığı tarihte prevalansı 10.000'de 2-4 olarak tahmin edilen nadir, karmaşık bir bozukluk olarak belirtmiştir. Kanner 1980 yılına kadar OSB'yi çocukluk çağı şizofrenisi (infantil psikoz) olarak sınıflandırmıştır. Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı 3. kitabıyla (DSM-III) birlikte OSB, şizofreniden farklı olarak 'infantil otizm' kategorisi başlığı altında 'yaygın gelişimsel bozukluk' jenerik terimiyle tanımı yapılmıştır (Harris, 2016). Otizm spektrum bozukluğu prevalansı DSM-III-R revizyonuna kadar kısıtlayıcı kriter nedeniyle düşük seyretmiştir. Kriterler, Uluslararası Hastalık Sınıflandırması onuncu baskıda (ICD10) yer alan sınıflandırmaya uygun olarak DSM-IV düzenlenmiştir. Lorna Wing, klinik çalışmaları yaygın gelişimsel bozukluğa ek kategori olarak Asperger sendromu ve Rett sendromunu da içeren bir otizm spektrumu eklemiştir. DSM-IV ayrıca atipik vakaların sınıflandırılmasında daha ayrıntılı klinik tanım yapmaktadır (Moss ve Howlin, 2009; Volkmar ve diğerleri, 2005). Ek olarak, DSM-IV atipik vakaların

sınıflandırılmasında da daha ayrıntılı klinik bulgu ve bilgi vermektedir (Volkmar ve diğerleri, 2005). Bu alt kategorilerin tamamı 2013 yılında yayınlanan mental bozuklukların tanı kitabı olan DSM-5'te 'otizm spektrum bozukluğu başlığı altında toplanmıştır (Fletcher-Watson ve Happé, 2019). DSM-5 sendromik otizm ve entelektüel eksiklik gibi nörojenetik bozukluklar için belirleyici olmaktadır. Bu sayede idiyopatik ve sendromik otizm, otizm spektrumunun bir parçası olarak sınıflandırılmıştır (Harris, 2016). DSM-5 kitabına , bazı nörojenetik sendromlarla ilgili olabilecek yeni bir kategori olarak sosyal (pragmatik) iletişim bozukluğu başlığı eklenmiştir (Moss ve Howlin, 2009; Volkmar ve diğerleri, 2005).

2.1.2. Otizm spektrum bozukluğu tanı kriterleri

DSM-5'e göre OSB tanı ölçütlerini karşılamak için, bir çocuğun üç sosyal iletişim ve etkileşim alanının her birinde kalıcı eksikliklere ve dört türden en az ikisinde kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlara sahip olması gerekir.

Çizelge 2.1. DSM-5 tanı kriterleri

-
- A. O sırada ya da öyküden alınan bilgilere (ayrıntılama çok örnekleyen) göre, aşağıdakilerle kendini gösteren, değişik biçimleriyle toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde süregiden eksiklikler:
1. Sözelimi, olağandışı toplumsal yaklaşım ve karşılıklı konuşamamadan, ilgilerini, duygularını ya da duygulanımını paylaşamamaya, toplumsal etkileşimi başlatamamaya ya da toplumsal etkileşime girememeye dek değişen aralıkta, toplumsal-duygusal karşılıklık eksikliği.
 2. Sözelimi, sözel ve sözel olmayan tümleşik iletişim yetersizliğinden, göz iletişimi ve beden dilinde olağandışlıklara ya da el-kol devinimlerini anlama ve kullanma eksikliklerine, yüz ifadesinin ve sözel olmayan iletişimin hiç olmamasına dek değişen aralıkta, toplumsal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişim davranışlarında eksiklikler.
 3. Sözelimi, değişik toplumsal ortamlara göre davranışlarını ayarlama güçlüklerinden, imgesel oyunu paylaşma ya da arkadaş edinme güçlüklerine, yaşlılarına ilgi göstermemeye dek değişen aralıkta, ilişkiler kurma, ilişkilerini sürdürme ve ilişkileri anlama eksiklikleri.
- O sıradaki ağırlığını belirtiniz:
Ağırlık düzeyi, toplumsal iletişim bozukluklarına ve kısıtlı, yineleyici davranış örüntülerine göre değişir.
- B. O sırada ya da öyküden alınan bilgilere (ayrıntılama çok örnekleyen) göre, aşağıdakilerden en az ikisi ile kendini gösteren, sınırlı, yineleyici davranış örüntüleri, ilgiler ya da etkinlikler:
1. Basmakalıp ya da yineleyici devinsel (motor) eylemler, nesne kullanımları ya da konuşma (örn. yalın devinsel basmakalıp davranış örnekleri, oyuncakları ya da oynar nesneleri sıraya dizme, yankılama [ekolali], kendine özgü deyişler).
 2. Aynılık konusunda direnme, sıradanlık dışına esneklik göstermeme ya da törensel sözel ya da sözel olmayan davranışlar (örn. küçük değişiklikler karşısında aşırı sıkıntı duyma, geçişlerde güçlükler yaşama, katı düşünce örüntüleri, törensel selâmlama davranışları, her gün aynı yoldan gitmek ve aynı yemeği yemek isteme).
 3. Yoğunluğu ve odağı olağandışı olan, ileri derecede kısıtlı, değişkenlik göstermeyen ilgi alanları (örn. alışılmadık nesnelere aşırı bağlanma ya da bunlarla uğraşma durma, ileri derecede sınırlı ya da saplantılı ilgi alanları).
 4. Duyusal girdilere karşı çok yüksek ya da düşük düzeyde tepki gösterme ya da çevrenin duyusal yanlarına olağandışı bir ilgi gösterme (örn. ağrı/ısıya karşı aldırırsızlık, özgül birtakım seslere ya da dokulara karşı ters tepki gösterme, nesneleri aşırı koklama ya da nesnelere aşırı dokunma, ışıklardan ya da devinimlerden görsel büyülenme).
-

Çizelge 2.1. (devam) DSM-5 tanı kriterleri

O sıradaki ağırlığını belirtiniz:

Ağırlık düzeyi, toplumsal iletişim bozukluklarına ve kısıtlı, yineleyici davranış örüntülerine göre değişir.

- C. Belirtiler erken gelişim evresinde başlamış olmalıdır (toplumsal gerekler sınırlı yeterliğin üzerine çıkana dek tam olarak kendini göstermeyebilir ya da daha sonraki yıllarda, öğrenilen yöntemlerle maskelenebilir).
- D. Belirtiler, toplumsal, işle ilgili alanlarda ya da önemli diğer işlevsellik alanlarında klinik açıdan belirgin bir bozulmaya neden olur.
- E. Bu bozukluklar, anlıksal yetiyitimi (anlıksal gelişimsel bozukluk) ya da genel gelişimsel gecikme ile daha iyi açıklanamaz. Anlıksal yetiyitimi ve otizm açılımı kapsamında bozukluk sıklıkla bir arada ortaya çıkar. Otizm açılımı kapsamında bozukluk ve anlıksal yetiyitimi eştanı tanısı koymak için, toplumsal iletişim, genel gelişim düzeyine göre beklenenin altında olmalıdır.

Not: DSM-IV otistik bozukluk, Asperger bozukluğu ya da başka türlü adlandırılmayan yaygın gelişimsel bozukluk kesin tanısı almış olan kişilere otizm açılımı kapsamında bozukluk tanısı konmalıdır. Toplumsal iletişimde belirgin eksiklikleri olan, ancak belirtileri, otizm açılımı kapsamında bozukluk için başka türlü tanı ölçütlerini karşılamayan kişiler, toplumsal iletişim bozukluğu açısından değerlendirilmelidirler.

Varsa belirtiniz:

Eşlik eden anlıksal bozukluk olan ya da olmayan

Eşlik eden dil bozukluğu olan ya da olmayan

Eşlik eden, bilinen bir sağlık durumu ya da kalıtsal durum ya da çevre etkeni olan (Kodlama notu: Eşlik eden sağlık durumu ya da kalıtsal durum için ek kod kullanın.)

Eşlik eden diğer bir nörogelişimsel, ruhsal ya da davranışsal bozukluk olan (Kodlama notu: Eşlik eden nörogelişimsel, ruhsal ya da davranışsal bozukluk[lar] için ek kod[lar] kullanın.)

Bilinen bir sağlık durumu, kalıtsal bir durum, çevresel etken ya da başka bir nörogelişimsel, ruhsal ya da davranışsal bozukluğun eşlik ettiği otizm açılımı kapsamında bozukluk için otizm açılımı kapsamında bozukluğa eşlik eden (durumun, bozukluğun ya da etkenin adın) yazınız (örn. otizm açılımı kapsamında bozukluğa eşlik eden Rett sendromu). Ağırlık düzeyi, Çizelge 1’de yer alan iki psikopatoloji alanında gerekli olan desteğin düzeyine göre yazılmalıdır (örn. "toplumsal iletişimdeki eksiklikler çok önemli ölçüde desteği gerektirir ve kısıtlı, yineleyici davranışlar önemli ölçüde desteği gerektirir"). Daha sonra "eşlik eden anlıksal bozukluk olan" ya da "eşlik eden anlıksal bozukluk olmayan tanımlaması yazılır Dil bozukluğu tanımlaması bundan sonra yazılır. Dil bozukluğu eşlik ediyorsa, o sıradaki sözel işlevsellik düzeyi yazılmalıdır (örn. "eşlik eden dil bozukluğu olan-anlaşılabılır konuşma yok" ya da "eşlik eden dil bozukluğu olmayan-deyişlerle konuşma"). Katatoni varsa, ayrıca "katatoni ile giden otizm açılımı kapsamında bozukluk" diye yazın (American Psychiatric Association, 2013).

DSM-5 Otizm Spektrum Bozukluğu

Temel Kriter	Şiddet Seviyesi	Belirteçler	Diğer Kriterler
A. Sosyal iletişim bozukluğu	1. Destek gerektiren 2. Önemli destek gerektiren 3. Çok önemli destek gerektiren	Eşlik eden zihinsel bozukluk olması yada olmaması	C. Erken gelişim döneminde belirti gösterme
B. Kısıtlı ve tekrarlayan davranışlar		Dil bozukluğu olması yada olmaması	D. Sosyal, meslek edinme veya farklı durumlarda klinik olarak anlamlı bozulmaya neden olan semptomlar
		Tıbbi, genetik durum veya çevresel maruziyetle ilişkili	E. Zihinsel yetersizlik veya küresel gecikme ile daha iyi açıklanamayan rahatsızlıklar
		Nörogelişimsel, zihinsel veya davranışsal bozuklukla ilişkili: DEHB Anksiyete bozuklukları Gelişimsel koordinasyon bozukluğu Yıkıcı davranış bozuklukları Dürtü kontrol bozukluğu Davranış bozukluğu Bipolar bozukluk Tikler Tourette bozukluğu Kendine zarar verme Eliminasyon bozukluğu Uyku düzensizliği	

Şekil 2.1. Otizm spektrum bozukluğu DSM-5 kriter ve tanımlayıcıları

2.1.3. Prevalans

Otizm, ömür boyu sürecek bir sorumluluk olduğu ve bugüne kadar tedavisi bulunmadığı için araştırmacılar arasında büyük ilgi uyandırmıştır. Son yıllarda dünya çapında OSB vakalarındakeskin bir artış gözlenmiştir (Ashwood ve van de Water, 2004; Baio ve diğerleri, 2018; Park ve diğerleri, 2016; Pistollato ve diğerleri, 2020). Gelişmiş otizm teşhisi ve toplumda artan farkındalık sebebiyle OSB prevalansı artmıştır (Fombonne, 2018).

Otuz yıl içerisinde küresel bazda OSB'nin yaygınlığını ölçmek için sürekli epidemiyolojik araştırmalar yürütülmüştür (Park ve diğerleri, 2016). Farklı ülkelerde yapılan bu çalışmalarda otizm prevalansının düzenli olarak arttığı gösterilmiştir. 2016 yılında dünya genelinde yaklaşık 62 milyon OSB'li birey rapor edilmiştir (Vos ve diğerleri, 2017). 2011 yılında İngiltere'de OSB prevalansı %1 iken, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) sekiz yaş çocuklarda %1,85 olarak ölçülmüştür (Fombonne ve diğerleri, 1997; Icasiano ve diğerleri, 2004). Avrupa ülkelerinde ortalama prevalansa benzer olarak 89'da 1 olarak ölçülmüştür (Brugha ve diğerleri, 2011). Otizm ve Gelişimsel Yetersizlik İzleme Grubu'nun tahminlerine göre, sekiz yaşındaki her 59 çocuktan 1'ine (%1,7) OSB tanısı almaktadır (Baio ve diğerleri, 2018). Literatürde OSB insidansının erkeklerde kadınlara göre çok daha yüksek olduğunu gösteren çeşitli raporlar bulunmaktadır. Otizm spektrum bozukluğu erkek/kadın oranları 8:1 ila 2:1 aralığında değişkenlik göstermektedir (Pistollato ve diğerleri, 2020; Židová, 2021). ABD'de Otizm ve Gelişimsel Engellileri İzleme Grubu 2006–2012 döneminde erkek: kadın oranını 4,5:1 belirtmiştir (Baio ve diğerleri, 2018; van Wijngaarden-Cremers ve diğerleri, 2014). Erkekler, kadınlara kıyasla OSB tanısı almaya dört kat daha yatkındır. Erkek-kadın oranı yapılan başka bir çalışmada ise benzer olarak 3:1 bulunmuştur (Baio ve diğerleri, 2018; Tubío-Fungueiriño ve diğerleri, 2021).

Yapılan çalışmalar kadınların klinik belirtilerini gizlemeleri nedeniyle yaygınlık açısından bir farklılık olabileceğini göstermektedir. Kadınlara kıyasla erkeklerde OSB'nin daha yüksek prevalansının bir açıklaması olarak bir 'kadın koruyucu etkisi', son çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Loomes ve diğerleri, 2017; Olson ve diğerleri, 2020; Tubío-Fungueiriño ve diğerleri, 2021).

Otizm prevalansı tüm ırksal ve etnik popülasyonlarda görülmektedir. Al-Dewik'in (2020) yapmış olduğu çalışmada 0-17 yaş arası Asyalı hastalarda otizmin yaygınlık tahminleri

Hindistan'da %0,09, Bangladeş'te %0,15-0,8 ve Sri Lanka'da %1,07 olarak bulunmuştur (Al-Dewik, 2020). Hastalık Kontrol Merkezi raporuna göre ABD'de yaklaşık 10.000'de 185, Kanada'da 10.000'de 152, Japonya'da 10.000'de 161 ve Fransa'da 10.000 çocuktan 100'ünde görüldüğü belirtirken, İtalya, Hollanda ve Almanya da daha düşük prevalansta olduğu belirtmiştir (Hossain ve diğerleri, 2017). Hindistan'ın 1300 kişilik nüfusunu yaklaşık 430 milyonu 0-15 yaş arası çocuk oluşturmaktadır. Bu rakamlara göre 2 milyondan fazla çocuğun OSB'den etkilendiği değerlendirilmektedir. Hindistan'da yapılan farklı bir çalışmada 10 yaş altı çocuklarda otizm prevalansı 1000'de 15 olarak bulunmuştur ve vakalar çoğunlukla kırsal kesimlerden olduğu belirtilmiştir (Krishnamurthy, 2008; Chiarotti ve Venerosi, 2020). Yapılan bir çalışmada, kırsal bölgelerdeki OSB insidansında kentsel bölgeler arasında farklılıklar bulunduğunu göstermiştir (Krishnamurthy, 2008). Kentsel bölgelerde yapılan sistematik çalışmada, 0-15 yaş arası çocuklarda kümülatif prevalans %0,09; kent dışı yerleşim bölgelerinde ise 1-18 yaş arası çocuklarda kümülatif prevalans %0,11 olarak bulunmuştur (Chauhan ve diğerleri, 2019; Jain ve diğerleri, 2013; Raina ve diğerleri, 2017).

2.1.4. Etiyolojisi

Otizm spektrum bozukluğunun etiyolojisi, genetik ve genetik dışı çok faktörlü durumlardan kaynaklandığı değerlendirilmektedir. Otizm spektrum bozukluğu sendromik veya duruma göre sendromik olmayabilir. Sendromik seyreden OSB kromozomal anormallikler veya monogenik değişiklikler ile ilişkilidir (Sauer ve diğerleri, 2021a). Rett sendromu, frajil X sendromu ve MECP2 duplikasyon sendromu da sendromik grubu altında yer alır. Sendromik OSB'nin aksine sendromik olmayan OSB'nin etiyolojisi, genetik heterojenliği nedeniyle tanımı tam olarak yapılamamaktadır. *De novo*-mutasyonlar doğum öncesi ve sonrası çevresel faktörlerin rol aldığı değerlendirilmektedir (Sauer ve diğerleri, 2021a; Sztainberg ve Zoghbi, 2016).

2.1.5. Dağılım

ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Ajansı Merkezi (CDC)'ne göre, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki her 36 çocuktan 1'i OSB tanısı aldığını belirtmektedir. 2009-2017 yılları arasında yapılan bir araştırmaya göre, 3-17 yaş arasındaki çocukların yaklaşık %17'sinde otizm ve dikkat eksikliği bozukluğu gibi yerleşik bir gelişimsel yetersizliklere sahip olduğunu göstermiştir (Chiarotti ve Venerosi, 2020b). Avrupa'da yapılan çalışmalarda teşhis

kriterlerindeki değişiklikler nedeniyle yıllar boyunca değişken sonuçlar elde edilmiştir. İspanya, İtalya, İrlanda, Fransa, Belçika ve Polonya gibi 14 farklı ülkeyi kapsayan “Avrupa'da Otizm Spektrum Bozuklukları” başlıklı çalışmada, 2015 yılında 7-9 yaş arası çocuklarda OSB prevalansı Fransa'da 4,76/1000 ve İzlanda'da 31,3/1000 olarak bulunmuştur. İtalya'da OSB prevalans değeri 7,99/1000 olduğu tahmin edilmiştir. Ek olarak Güney, Doğu ve Batı Asya bölgelerinde OSB prevalansını araştıran meta-analiz çalışmasında, en yüksek prevalans (51/1000) değerine sahip bölge Doğu Asya (Güney Kore ve Çin dahil), ikinci sırada Batı Asya (5/1000) ve üçüncü sırada Güney Asya (3,1/1000) olarak bulunmuştur. Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde OSB prevalansı değerlendirme ve teşhis araçlarının eksikliği nedeniyle doğru bilgiler bulunmamaktadır (S. Qiu ve diğerleri, 2020; Shaw ve diğerleri, 2020). 2020 yılında yapılan güncel çalışmada Hong Kong, Güney Kore, Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve İrlanda'nın en yüksek vaka prevalansına sahip ülkeler olduğunu belirtilmektedir (WHO, 2022). Hong Kong'ta her 10.000 çocuktan 372'si OSB'li olduğu belirtilmiştir. Son on yılda yapılan çalışmalarda birçok ülkede OSB tanılarında bir artış olduğu bildirilmektedir (Ferri ve diğerleri, 2018; Shaw ve diğerleri, 2020). 1960 yılında Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde otizm üzerine yapılan çalışmalarda, OSB 2-4/10.000 prevalansa sahip nadir bir hastalık olarak belirtilmektedir. Güncel prevalansın yüksek olmasının nedeni artmış farkındalık ve güncel tanı kriterinden kaynaklanmaktadır (Rivet ve Matson, 2011).

2.1.6. Genetik faktörler

Otizm spektrum bozukluğu, yüksek kalıtsallığa sahip karmaşık bir genetik bozukluk olarak kabul edilmektedir. Mevcut OSB vakalarının bulunduğu ailelerde, ailesel kümelenme görülebilmektedir. Otizm spektrum bozukluğu tanısı alan aile üyelerinde küçük kardeş özellikle erkek kardeş için yüksek risk taşımaktadır (Abrahams ve Geschwind, 2008; Ozonoff ve diğerleri, 2011). Otizm spektrum bozukluğuna sahip çocuk veya yetişkinlerin %20-25'i genetik nedenlerden (*de novo* mutasyon), genetik varyasyondan ve OSB ile ilişkili polimorfizmden kaynaklanmaktadır (Genovese ve Butler, 2020; Geschwind, 2011; Miles, 2011). SFARI (Simons Foundation Autism Research Initiative) gen veritabanında, OSB ile ilişkili yaklaşık 1000 geni listesi bulunmaktadır. Veritabanında bulunan genler OSB riski ile ilişki derecesine göre puanlanarak üç farklı kategoriye ayrılır. S sendromu kategori 1, kategori 2 ve kategori 3 (Sfari Gene, 2019). Kategori 1 genleri, en yüksek OSB riski taşıyan genler kategorize edilmektedir. Kategori 2 yer alan 211 gen OSB ile ilişkili olarak

belirlenmektedir. Kategori 3, OSB ile ilişkili 506 gen içermektedir (Satterstrom ve diğerleri, 2020).

2.1.7. Çevresel faktörler

Otizm spektrum bozukluğu riski üzerine etki eden genetik olmayan faktörler, ebeveyn yaşı, annenin beslenme durumu, annenin metabolik durumu, fetal dönem enfeksiyonu, doğum öncesi stres ve ağır metal maruziyeti olarak sıralanabilir. Ebeveyn yaşı, genetik mutasyonlara bir katkısı olabilir. Babanın yaşının ilerlemesi çocuklarda OSB riskini arttırdığı gösterilmiştir (Jyonouchi ve diğerleri, 2001). Gebelik boyunca annenin beslenme durumu, normal beyin gelişimi için kritik bir bileşendir. Folik asit, çinko, demir, D vitamini ve w-3 yağ asidi gibi mikro besinlerin fazlalığı veya eksikliği, bozulmuş nörogelişimsel problemlere neden olabilmektedir. Fetal dönemde folik asit eksikliği ile karşılaşan çocuklarda OSB riski daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Malik ve diğerleri, 2011). Bununla birlikte, aşırı folik asitte nörobilişsel bozukluklara yol açabilmektedir. Ağır metal dishomeostazı beyin gelişimini etkilemekte ve OSB gelişimine neden olmaktadır (Emberti Gialloreti ve diğerleri, 2019). Hayvan çalışmalarında vücutta civa ve kurşun gibi toksik metal birikmesi, fetal dönemde çinko eksikliği OSB ile ilişkilendirilmektedir. Otizm spektrum bozukluğu riskini artıran genetik olmayan bir diğer faktör gebelik döneminde anne de enfeksiyon görülmesidir (Wu ve diğerleri, 2017). Konjenital kızamık enfeksiyonu ile OSB gelişimi arasındaki ilişki bulunmaktadır. Enfeksiyonun neden olduğu sitokin aktivasyonu maternal immün yanıtı neden olur. Hayvan çalışmalarında artmış maternal immün aktivasyon, maternal sitokinlerin plasentaya kayarak fetüste grubunda ve aşırı sitokin üretimine yol açarak gen düzensizliğine neden olmaktadır. Rhesus makak maymunları üzerinde yapılan çalışmada, annenin bağışıklık aktivasyonu yoluyla fazla antikor üretimi, OSB endofenotipini desteklemekte, yavrularda artan beyin büyümesine ve toplam beyin hacmi artışına neden olmuştur (Modabbernia ve diğerleri, 2017). İnflamatuvar anormalliklerin gebelik sonrasında da OSB'li bireylerde anormal adaptif ve doğuştan gelen bağışıklık fonksiyonunu bozukluğu olabilmektedir. Otizm spektrum bozukluğuna sahip bireylerde merkezi sinir sistemi ve periferik kanda yüksek kemokin ve sitokin seviyesi görülmektedir (Hagmeyer ve diğerleri, 2015; Karimi ve diğerleri, 2017; Vargas ve diğerleri, 2005). Yaşam boyu artan proinflamatuvar sitokin seviyesi, astroglia ve mikrogliya hücre aktivasyonu, OSB davranışı görülmesine neden olan nöroinflamatuvar fenotip olarak değerlendirilmektedir (Hagmeyer ve diğerleri, 2015). Gebelik sırasında annenin

antiepileptik ve antidepresan ilaçlarından olan valproat kullanımı OSB riski ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan bir hayvan çalışmasında annenin fetal dönemde valproat maruziyeti OSB ve çeşitli nörogelişimsel değişikliklere neden olmuştur. Serotonin geri alım inhibitörleri gibi gebelik sırasında antidepresan kullanımı OSB gelişme riskini arttırmaktadır (Bölte ve diğerleri, 2019).

2.1.8. Otizm spektrum bozukluğu patolojisi

Beyin gelişimi ve çalışması, OSB araştırmalarının odak noktası olmaktadır. Merkezi sinir sistem (MSS) patolojisini brüt morfolojik düzeyde ve hücresel düzeyde (nöronlarda ve glial hücrelerde) tanımlanmakta ve nöropatolojiler OSB üzerinde etkili olabilmektedir. Bağışıklık tepkisi ve bağırsak-beyin sinyali üzerine yapılan çalışmalar OSB'deki patolojilerin MSS dışında olabilme ihtimalini göstermektedir (Careaga ve diğerleri, 2017).

2.1.9. Nöropatoloji

Otizm spektrum bozukluğu tanısı alan 1-4 yaş arası çocuklarda artmış baş çevresi ve kafa içi hacim bozukluğu gibi anormallikler görülmektedir (Nickl-Jockschat ve diğerleri, 2012). Otizm spektrum bozukluğu olan bireyler ile yapılan meta-analiz çalışmalarında lateral oksipital lobda, perisantral bölgede, medial temporal lobda, bazal ganglionlarda ve sağ parietal operkulumda farklılıklar olduğu belirtilmektedir (Haar ve diğerleri, 2016). Ek olarak, Otizm spektrum bozukluğu olan yaşlı bireylerde, daha büyük intrakraniyal, amigdala, korpus kallozum hacmi; daha küçük serebellar hacim ve değişmiş hipokampus hacimi gibi anatomik anormallikler görülmektedir (Courchesne ve diğerleri, 2011). Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerde beyin bağlantısının farklı olduğu bildirilmektedir. Uzak beyin bölgeleri arasında daha düşük bağlantı ve proksimal beyin bölgelerinde ise artmış bağlantı bulunmaktadır (Fatemi ve diğerleri, 2012). Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerin beyninin sitomimarisinde azalmış sayıda serebellar Purkinje hücresi gibi anormallikler görülmektedir (Mohammad-Rezazadeh ve diğerleri, 2016).

Otizm spektrum bozukluğunun en net nöropatolojisi sinaptik disfonksiyondur. Otizm spektrum bozukluğu için yüksek risk (sendromik ve kategori 1) ile ilişkili 207 SFARI geninin çoğu, beyindeki sinaptik işlevde çok önemli bir rol oynayan proteinleri kodlamaktadır. Genetik üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* modellerde OSB ile ilişkili

genler, protein sentezi bozulması, kromatinlerin farklılaşması ve sinaptik fonksiyonda sorumlu yollarda yer almaktadır. Bu nedenle OSB sinaptopati olarak ta sınıflandırılır. Sinapslarda, OSB patolojisi için iki sinyal yolu kritik önem taşımaktadır. Sendromik OSB ve NRXN-NLGN-SHANK yolu ile ilişkili olan mTOR/PI3K yolu sinaptogenezin kilit düzenleyicileridir. Varlıkları büyük ölçüde uyarıcı sinapslarla sınırlıdır. Sonuç olarak uyarıcı ve engelleyici aktarım arasında bir dengesizliğe neden olabilmektedir. Otizm spektrum bozukluğu için birçok genetik ve genetik olmayan risk faktörünün mekanik olarak sinaptik düzeyde birleştiği tahmin edilmektedir (Grubruker, 2013). Çizelge 2.2’de OSB’nin olası genetik biyobelirteçleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Otizm spektrum bozukluğunda genetik biyobelirteçler

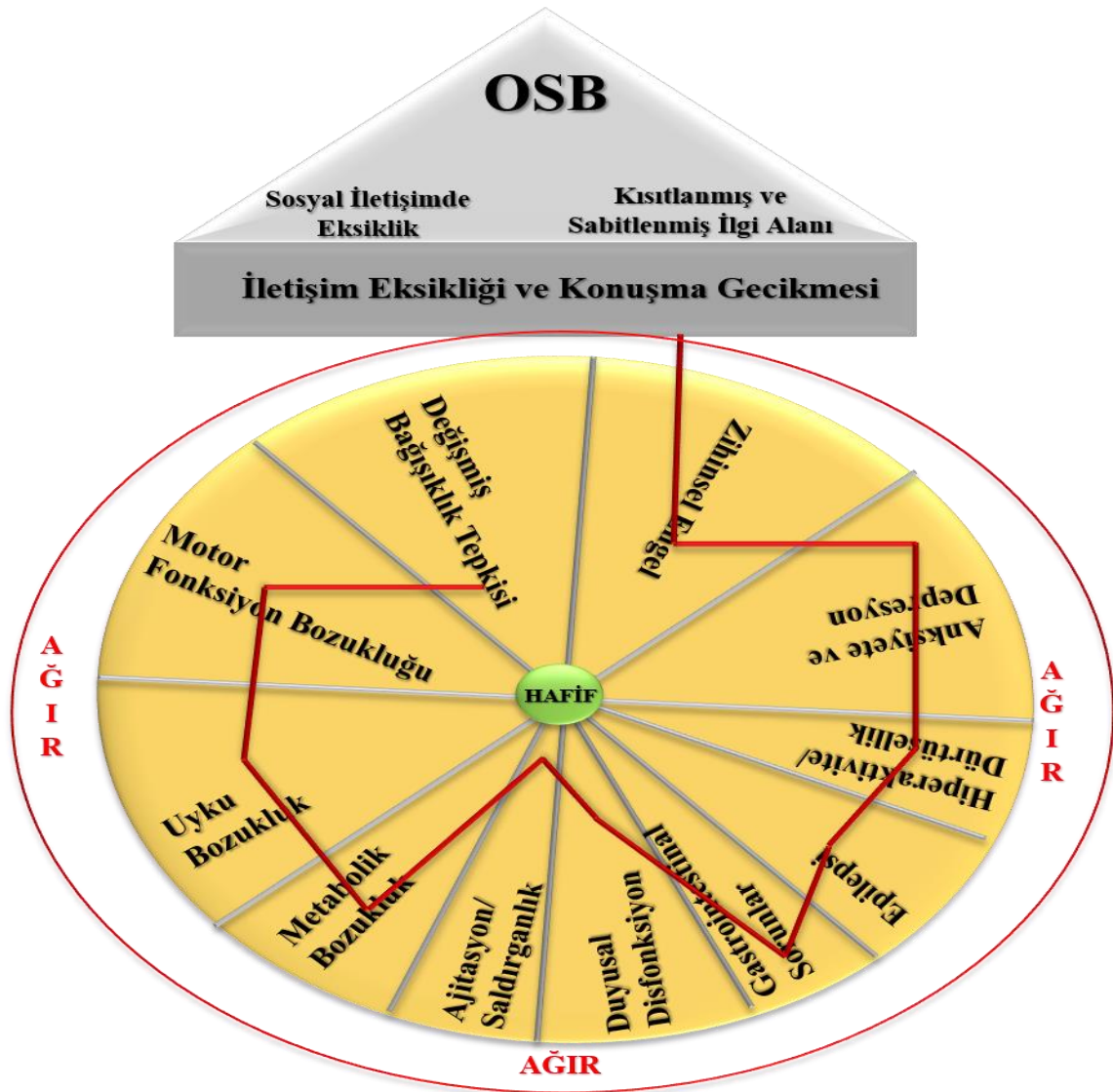
Neurexin 1 (NRXN1) silme	7q11.23 çoğaltma
15q11-13 çoğaltma	16p11.2 çoğaltma ve silme
SHANK 3	SHANK 2
SNC2A	CHD8
DYRK1A	POG2
GRIN2B	KATNAL2
CNTN4 silme	CNTNAP2
5p14.1	CDH10
CDH9	MTHFR 677 > T
SEMA5A	TAS2R1
2q22.1	3p26.3
4q12	14q23
NLGN4	

(Goldani ve diğerleri, 2014)

2.1.10. Ekstraserebral patoloji

Otizm spektrum bozukluğu olan birçok bireyde gastrointestinal (GI) fonksiyon bozukluğu görülmektedir. Otistik popülasyondaki GI bozuklukları ile ilgili araştırma tahminlerine göre %20-86 arasında değişmektedir. Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerde otistik olmayan bireylere göre GI işlev bozukluğunun daha yaygın olmasının yanı sıra, GI anormalliklerinin şiddeti, OSB’nin şiddeti ile doğru orantılıdır (de Magistris ve diğerleri, 2010; Rogers ve diğerleri, 2016). GI sistem OSB davranış ve etiyolojisinde önemli bir faktördür (Jolanta Wasilewska ve Klukowski, 2015). Karın ağrısı, şişkinlik, ishal, kabızlık veya gastroözofageal reflü gibi GI semptomları en sık bildirilen semptomlar arasında yer almaktadır (Björklund ve diğerleri, 2020; Wang ve diğerleri, 2011). Otizm spektrum bozukluğu hayvan modellerinde artmış bağırsak geçirgenliği rapor edilmiş ve bu da OSB’de

kronik grubunda katkıda bulunan "sızdıran bağırsak" hipotezine yol açmaktadır (Adams ve diğerleri, 2011; D'Eufemia ve diğerleri, 1996; Hsiao ve diğerleri, 2012). Bariyer disfonksiyonu Crohn hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve çölyak hastalığı gibi bağırsaktaki inflamatuvar bozukluklarda da yaygın olarak olarak görülmektedir. Otizmin bazı genetik formlarında, MSS'yi etkileyen genlerdeki mutasyonlar, bağırsağın enterik sinir sistemini doğrudan etkileyerek bağırsak dismotilitesine neden olmaktadır (de Angelis ve diğerleri, 2013; Fröhlich ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.2. Otizm spektrum bozukluğunun klinik belirtileri

Bağırsak-mikrobiyom-beyin ekseninin davranışı değiştirdiği ve nöro gelişimde rol oynadığı kabul edilmektedir (James ve diğerleri, 2019). Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerin mikrobiyom dışkı örneklerinde mikrobiyal çeşitlilikte farklılıklar görülmektedir (Finegold

ve diğerleri, 2010; Kang ve diğerleri, 2013, 2017, 2018; Mayer ve diğerleri, 2014). Anormal bakteri çeşitliliğine ek olarak, OSB'li bireyler, GI patolojisini ve inflamatuvar süreçleri şiddetlendirebilecek anormal bir mikrobiyal bileşime sahiptir. GI sistemde *Bacteroides* ve *Firmicutes* dengesinde değişiklikler görülmektedir (Vela ve diğerleri, 2015). Ek olarak, filum düzeyinde, otizmli bireylerde *Aktinobakterilerde* de farklılık bulunmaktadır (Coretti ve diğerleri, 2018; de Angelis ve diğerleri, 2015; James ve diğerleri, 2019; Kong ve diğerleri, 2019a, 2019b; Strati ve diğerleri, 2017; Williams ve diğerleri, 2011). Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler ve anormal bağırsak epitel bariyer fonksiyonu (sızdıran bağırsak) doğrudan veya dolaylı olarak serebral fonksiyonu etkileyen inflamatuvar süreçleri ortaya çıkarır, bu sayede OSB'nin nöropatolojisine katkıda bulunur (Cryan ve diğerleri, 2019; Liu ve diğerleri, 2019).

Şekil 2.2'de OSB'nin klinik özellikleri gösterilmektedir. Otizm spektrum bozukluğunun üç temel özelliği, sosyal iletişimdeki eksiklikler, sınırlı- sabit ilgiler ile konuşma kusurları ve dil gecikmeleridir. İlk iki özellik, DSM-5'e göre OSB'yi teşhis etmek için kullanılmaktadır. OSB'li bireyler bilişsel eksiklikler (zihinsel yetersizlik), anksiyete, depresyon, dikkat eksikliği ve hiperaktivite, dürtüsellik, nöbetler, gastrointestinal problemler, duyuusal disfonksiyon, saldırganlık, metabolik bozukluklar, uyku bozuklukları, motor disfonksiyon gibi farklı semptomlar ve komorbiditeler göstermektedir. Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerde tüm semptomlar ve komorbiditeler ve şiddeti farklılık gösterebilir (Sauer ve diğerleri, 2021b).

2.2. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Serum Biyokimyasal Belirteçler

Serum aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT), hepatosit nekrozu ve inflamasyonunu gösteren biyokimyasal belirteçtir (He ve diğerleri, 2022). Otizm spektrum bozukluğunda serum AST düzeyinde dengesizlik görülebilmektedir. Bu farklı nedenlerden kaynaklanmaktadır. İlk neden olarak OSB'de görülen mitokondriyal bozukluktur (Frye, 2012). Mitokondriyal disfonksiyonun biyokimyasal göstergesi kandaki laktat, amonyak, kreatinin kinaz (KK), aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz düzeyidir. Mitokondriyal disfonksiyon nedeniyle serum AST seviyesinde bozulma olabilmektedir (Rossignol ve Bradstreet, 2008). İkincil neden olarak, protein metabolizması sırasında bakteriler tarafından bağırsakta üretilen amonyak, seviyesi olarak gösterilmektedir (Milner, 1985). Karaciğer amonyağı üre döngüsü ile üreye detoksifiye eder. Bu süreçte üç

ATP molekülüne ihtiyaç duyulmaktadır. Mitokondriyal disfonksiyonda, üre döngüsünü bozan ATP seviyesi düşer ve kandaki amonyak seviyesi yükselir. Otizm spektrum bozukluğu olan çocuklarda artan amonyak seviyesi beyinde toksisiteye ve ATP tükenmesine neden olabilir. Mitokondriyal disfonksiyon, kas ve karaciğer gibi belirli organların bazı hücrel bütünlüğünün kaybına neden olur. Bu organların enzimleri hücreden çıkar. Böylece serum KK, serum AST ve ALT yükselir (Scheau ve diğerleri, 2019; Shahjadi ve diğerleri, 2017).

Kolesterol, mumsu bir görünüme sahip olan insan ve hayvan hücrelerinde, özellikle beyin, böbrek ve karaciğerde bulunan yağlı bir maddedir. (Scherr ve Cherr, 2016). LDL kolesterol, atardamarlarınızda biriken ve kalp krizi veya felce neden olan kolesteroldür. (CDC, 2023). HDL kolesterol, vücuttaki dokulardan karaciğere kolesterol taşıyan bir lipoprotein sınıfıdır. Düşük HDL kolesterol serum konsantrasyonları, artmış kardiyovasküler riski ile ilişkilidir (Hopkins, 2003). Kolesterol periferden MSS'ye geçmez ve küçük HDL kolesterol partikülleri endositoz yoluyla küçük bir ölçüde geçer (Fung ve diğerleri, 2017). Bu nedenle kolesterol, HDL kolesterol benzeri partiküller ve apolipoprotein E (ApoE) glial hücreler tarafından yerinde sentezlenir (Vitali ve diğerleri, 2014). Bununla birlikte, MSS'deki tüm ApoA1 periferden geçer (Roheim ve diğerleri, 1979). Nöronlarda kolesterol azalması, sinaptik vezikül ekzositozunu, nöronal aktiviteyi, nörotransmisyonu bozar, dendritik omurga ve sinaps yıkımına yol açar (Zhang ve Liu, 2015). Değişmiş kolesterol, HDL ve LDL kolesterol metabolizması, APOA1, APOB, APOE4'ün gen varyantları ve azalmış ApoA1 seviyeleri diğer nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmektedir (Huang ve diğerleri, 2008; Kameyama ve diğerleri, 2016; Meyers ve diğerleri, 2014; Strittmatter ve diğerleri, 1993).

Sinaptik işlevi değiştiren genlerdeki mutasyonlar zihinsel yetersizlik ve OSB ile ilişkilendirilmektedir (Bourgeron, 2009). Kolesterol, LDL ve HDL kolesterol yağ asitleri ile esterleştirildiği lipoproteinler tarafından taşınır. Otizm spektrum bozukluğu kırılgan X sendromu, fenilketonüri, tüberoz skleroz gibi spesifik kalıtsal bozukluk ve Smith-Lemli-Opitz sendromu (SLOS) gibi sterol anormallikleriyle ilişkilendirilmektedir (Witsch-Baumgartner ve diğerleri, 2000). SLOS'lu hastalar otizm kriterlerini karşılayan bir hastalıktır. SLOS, kromozom 11q12–13'te bulunan 7-dehidrokolesterol redüktaz geninin mutasyonu ile oluşur ve anormal enzim çalışması nedeniyle vücutta yeterli kolesterol üretilmez. Bunun sonucu olarak OSB'de serum kolesterol seviyesinde düzensizlik olabilmektedir (Schengrund ve diğerleri, 2012).

Albümin, plazmada bulunan ve yağ asitleri de dahil olmak üzere çeşitli bileşikleri bağlayan globüler bir proteindir. Yapılan çalışmalar albümin serum düzeylerinin HDL kolesterol düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Schengrund ve diğerleri, 2012; Lee ve diğerleri, 2018). OSB’de serum albümin düzeyinde de bozulmalar meydana gelebilmektedir (Lee ve diğerleri, 2018). Çizelge 2.3’te OSB’de olası değişkenlik gösterebilen serum biyobelirteçleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Otizm spektrum bozukluğu serum biyobelirteçleri

Albümin	Transferrin (TRF)
Alkalen fosfataz	Transferrin doygunluğu
Alanin aminotransferaz (ALT)	Üre
Aspartat aminotransferaz (AST)	Kreatinin
Kolesterol	Serbest T4
Kreatin Kinaz	Tiroid uyarıcı hormon
Kalsiyum	Hematokrit
Klorür	Plateletler
Demir	Beyaz kan hücreleri
Glukoz	Hemoglobin
Potasyum	Testosteron
Laktat dehidrojenaz	Toplam kolesterol
Sodyum	LDL kolesterol
Prolaktin	HDL kolesterol
Toplam protein	Trigliseritler
GGT	ALT
TSH	AST

GGT: gama glutamil transferaz, TSH: tiroit uyarıcı hormon, ALT: alanin aminotransferaz, AST: aspartat aminotransaminaz, (Goldani ve diğerleri, 2014)

2.3. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Antioksidan Değerleri

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) sentezi ile organizmanın endojen antioksidan enzimler kullanarak bunların zararlı etkilerini bloke etme yeteneği arasında bir dengesizlik vardır. Bazı nöropsikiyatrik bozukluklarda, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunda ve bipolar bozuklukta, bu dengesizlik, artan oksidatif stresle birlikte, genetik olarak yatkın kişilerde nöronal hasara yol açar. Yapılan çalışmalar OSB’li çocukların bir antioksidan molekül olan glutatyon seviyelerinin daha düşük olduğunu göstermiştir (Mandic-Maravic ve diğerleri, 2021; Bonomini ve diğerleri, 2022). Glutatyon S-transferazdaki (GST) oksidatif

stres ve genetik değişkenliğin OSB gelişme riskini artırabileceği bildirilmektedir. Glutasyon S-transferaz polimorfizmleri, OSB'li çocuklarda semptomların şiddetinin yanı sıra bilişsel ve uyumsal işlevleri de etkileyebilir ve bu da OSB'de genetik ve çevresel faktörler arasında karmaşık bir etkileşim olduğunun kanıtıdır (Mandic-Maravic ve diğerleri, 2021). Otizm spektrum bozukluğunun patogenezinde oksidatif stresin rolü gösterilmektedir. Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerin oksidatif strese daha yatkın oldukları, reaktif oksijen türlerinin aracılık ettiği hasara ve nöronal toksisiteye karşı savunmasız oldukları gösterilmiştir. Otistik çocuklarda sağlıklı bireylere kıyasla süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinde bir azalma olduğu bildirilmiştir (Haar ve diğerleri, 2016). Benzer şekilde, E vitamini düzeylerinin OSB'li çocuklarda sağlıklı kontrollere göre sürekli olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir. Yapılan alışmalarda, OSB’de azalmış toplam antioksidan kapasitesi, daha yüksek seviyede DNA'da oksidatif modifikasyonların bir biyobelirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ve yüksek idrar heksanoil-lizin seviyesi tespit edilmiştir (Haar ve diğerleri, 2016; Joon ve diğerleri, 2021; Orozco ve diğerleri, 2019; Yates ve Le Couteur, 2016). Çizelge 2.4’te OSB’de olası değişkenlik gösterebilen oksidatif stres ve antioksidan biyobelirteçleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Otizm spektrum bozukluğunda oksidatif stres ve antioksidan biyobelirteçler

Glutasyon	TAS
Metiyonin	GST
Sistein	GPX
8-OHdG	SOD
Transferrin	CAT
Seruloplazmin	GSTs
Plazma 3-klortirozin (3CT)	C vitamini
3-Nitrotirozin (3NT)	GSSG
GSH	GSH/GSSG
MDA	

8-OHdG: 8-Hidroksi Deoksiguanozin, GSH: glutasyon, MDA: malondialdehit, TAS: toplam antioksidan seviyesi, GST: glutasyon - S – transferaz, GSSG: okside glutasyon, (Goldani ve diğerleri, 2014).

2.4. Otizm Spektrum Bozukluğu ve İnflamatuvar Değerleri

İnflamatuvar denge değerlendirmesi otopsi yapılan OSB'li bireylerin beyinlerinde kronik inflamasyon ve mikrogliya hücre aktivasyonu mevcut olduğu görülmüştür (Vargas ve diğerleri, 2005b). Beyin mikrogliası aktivasyonunu arttıran faktörler arasında travmatik beyin hasarı (TBI) (Streit, 2000), reaktif oksijen türleri ve işlevsiz bir kan beyin bariyeri yer

almaktadır (Denieffe ve diğerleri, 2013). Kan beyin bariyeri oksidatif stres, akut stresli durum, yüksek homosistein, diyabet ve hiperglisemi durumlarında zarar görebilmektedir. Sitokinler geçirgen bir kan beyin bariyerini kolaylıkla geçerek bu süreci başlatır (Denieffe ve diğerleri, 2013; Streit, 2000). Bu nedenle, sitokinler, OSB'yi daha karmaşık hale getiren bağışıklık düzensizliğinin bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Goldani ve diğerleri, 2014). Otizm spektrum bozukluğundaki düzensiz sitokin profili otistik ve davranışsal semptomların başlangıcı ya da şiddeti ile ilişkilendirilmektedir (Ashwood ve diğerleri, 2011). Değişmiş proinflatuvar sitokinler, tamamlayıcı proteinler, kemokinler, adezyon molekülleri ve büyüme faktörleri OSB ile ilişkilendirilmektedir. Daha spesifik olarak, bozulmuş IL-1B, IL-6, IL-10, TGF-beta, CCL2, CCL5, IgM ve IgG seviyesi, davranış ölçek skorlarının düşmesine neden olmaktadır (Ashwood ve diğerleri, 2006; Onore ve diğerleri, 2012). Çizelge 2.5'te OSB'de olası değişkenlik gösterebilen inflamatuvar biyobelirteçleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. Otizm spektrum bozukluğu ve inflamatuvar değerleri

İnterlökin 1 ailesi	IL-1 α , IL- β , IL-RA
Hematopoietin (Sınıf I sitokin) ailesi	IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-23, GM-CSF, G-CSF
İnterferon (Sınıf II sitokin) ailesi	IFN- γ , IL-10
Tümör nekroz faktörü ailesi	TNF- α , TNF- β 1
İnterlökin 17 ailesi	IL-17
Kemokin ailesi	IL-8, Eotaxin, IP-10 (CXCL10), MCP-1(CCL2), MIP-1 α (CCL3), MIP-1 β (CCL4), RANTES (CCL5)

IL-1 α : interlökin 1 alfa, IL- β : interlökin beta, IL-RA: interlökin 1 reseptör antagonisti, IL-2: interlökin 2, IL-4: interlökin 4, IL-5: interlökin 5, IL-6: interlökin 6, IL-7: interlökin 7, IL-9: interlökin 9, IL-12p40: interlökin 12 ailesi, IL-12p70 interlökin ailesi, IL-13: interlökin 13, IL-15: interlökin 15, IL-23: interlökin 23, IL-10: interlökin 10, IFN- γ : interferon gama, TNF- α : tümör nekrozis faktörü- α , TNF- β 1: tümör nekrozis faktörü beta 1, IL-17: interlökin 17, IL-8: interlökin 8, IP-10 (CXCL10): interferon gama kaynaklı protein, MCP-1(CCL2): monosit kemoatraktan protein-1, MIP-1 α (CCL3): makrofaj inflamatuvar protein ailesi, MIP-1 β (CCL4): makrofaj inflamatuvar protein ailesi, (Goldani ve diğerleri, 2014).

2.5. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Mikrobiyota Dengesi

Bağırsak-beyin aksı üzerine yapılan araştırmalar, bağırsağın milyonlarca sinir hücresi içerdiğini ve sonunda enterik sinir sistemi (ESS) adı verilen geniş bir ağ oluşturduğunu göstermektedir. Bu enterik sinir sistemi aynı zamanda ikinci beynimiz olarak kabul edilmektedir (Gershon, 1999). ESS ve MSS esas olarak vagus siniri aracılığıyla bağlanmakta ve bağırsak-beyin eksenini oluşturmaktadır (Flannery ve diğerleri, 2019; Goyal ve Hirano,

1996). Doğumda fetüsün mikrobiyotası, annenin mikrobiyomunun aynısıdır (Forssberg, 2019; Li ve diğerleri, 2017). Bu aşamada, *Laktobasil* bolluğu, bebeğin bağırsağında öncü kolonizatör haline gelmektedir. Sonrasında *Enterobakter*, *Enterokok* ve *Stafilokok* gibi aerobik veya fakültatif anaerobik bakterilerin kolonizasyonu oluşmaktadır. Bu bakterilerin kolonizasyonu, genişlemek için oksijen kullanır. *Bifidobacterium*, *Clostridium* ve *Bacteroides* dahil olmak üzere anaerobların ve *Firmicutes*, *Bacteroides* ve *Verrucomicrobia* gibi daha sonra öne çıkan filyumların kolonizasyonu için uygun bir habitat oluşturur; *Proteobakter* ve aerobik Gram-negatif bakteriler gibi daha az baskın mikrobiyota, yetişkin bağırsak mikrobiyotası göstergesidir (Shao ve diğerleri, 2019). Bağırsak-beyin aksı içindeki iletişim, otonom sinir sistemi, enterik sinir sistemi, nörotransmitter, hormon ve bağışıklık tepkisi yoluyla gerçekleşir. Bağırsak aynı zamanda çeşitli patojenik bakteri tarafından istila edilmekte ve bu da *Clostridium bolteae*'nin varlığını takiben gastrointestinal problemlerin gelişmesine yol açmaktadır (Rosenfeld, 2015; Tsai ve diğerleri, 2012a). Kolondaki *Clostridium spp.* türü bakterileri sayısı, OSB'nin daha yüksek semptom şiddetine işaret etmektedir (Rosenfeld, 2015). Bu spesifik bakteri türü nörotoksin üretir, bu da vagus sinirinden MSS'ye geçer ve sinaptik vezikül membran proteini olan sinaptobrevinin proteolitik bölünmesiyle nörotransmitterleri bloke ederek davranışsal bozuklukları hızlandırmaktadır. Li ve diğerleri, *Clostridium tetani* varlığının OSB teşhisi için bir gösterge olduğunu belirtmiştir. (Li ve diğerleri, 2019). Diğer bir yol ise, bakteri türlerinin bağışıklık düzenleyici metabolitlerin üretimi yoluyla bağışıklık sistemi üzerindeki etkisidir. Bu metabolitlerin bir örneği, karbonhidrat fermantasyonunun son ürünleri olan kısa zincirli yağ asitleridir. Propiyonik asit, butirik asit ve asetik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerinin kilo kontrolü, lipit profili ve kolon sağlığı açısından konakçıya çeşitli faydaları olduğu ileri sürülmektedir. Ancak bu asitlerin (özellikle PA) birikmesi sinir sistemini de etkiler ve OSB ile bağlantılıdır. Propiyonat bağırsakta serotonin (5-hidroksitriptamin veya 5'-HT) salgılanmasını azaltır. Bir nörokimyasal görevi görür ve Merkezi Sinir Sistemi işlevi üzerinde etkileri vardır. Bu etkilerin beyindeki düşük 5'-HT ve dopamin seviyeleri ile ilişkili olduğu değerlendirilmektedir (Tsai ve diğerleri, 2012a). Ayrıca, otizmlı çocuklarda gözlenen hiperserotonemiye (aşırı serotonin üretimi) potansiyel katkıları olbilmektedir. Otizmlı kişilerde görülen kısa zincirli yağ asidi konsantrasyon düzeylerinin artması ve kısa zincirli yağ asitlerinin (*Clostridia*, *Desulfovibrio* ve *Bacteroides*) ürettiği bakteri düzeylerinin artması, kan-beyin bariyerini geçerek taşıyıcılarla veya pasif difüzyonla yer değiştirerek beyni etkilemektedir. Bu durum OSB semptomlarının gelişmesine yol açmaktadır. Kısa zincirli yağ asitlerinin davranış üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte

mitokondriyal disfonksiyon (Krebs döngüsü) ve epigenetik değişiklikler e neden olabileceği düşünülmektedir (Rosenfeld, 2015).

5-HT, sosyal işlev ve tekrarlayan hareketler için bir başka önemli faktördür. 5-HT, bağırsakta yüksek miktarlarda üretildiği ve bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edildiği için nörogelişimin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Otizmli çocukların dışkı örneklerinde görülen bazı bakteri türlerinin (*Clostridium spp.*, *Lactobacillus spp.*) 5-HT ve katekolamin gibi nörotransmitterlerin fonksiyon ve metabolizmasını değiştirdiği, serotonerjik sistem disfonksiyonu ile semptomolojiye katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Tsai ve diğerleri, 2012a).

2.6. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Beslenme

Bağırsak, temel epitel bariyerinin oluşumuna yardımcı olmaktadır. Birbirine sıkı bağlantılarla bağlanan bu epitel tabakasının yüzey alanı ince ve geniştir. Epitel tabakası sürekli olarak çeşitli gıda bileşenlerine, antijenlere, kommensal mikrofloraya ve patojenlere maruz kalmaktadır. Çoğu zaman, epitel hücreleri bağırsak hareketlerine tepki vermekte, bu da bağırsağın sıklıkla kontrollü bir inflamatuvar durumda olduğunu göstermektedir (Oldenburg ve diğerleri, 2004; Bull ve diğerleri, 2003). Epitel tabakasını etkileyen faktörlerden biri olan diyetle alınan lif miktarıdır. Akdeniz diyetinde yer alan meyve, sebze, zeytinyağı, balık gibi besinler bağırsak sağlığını ve bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (Thorburn ve diğerleri, 2014; Park ve diğerleri, 2011). Uzun zincirli yağ asitleri ve triptofan metabolitleri ile birlikte bağırsaklarda lifin fermentasyonu ile üretilen kısa zincirli yağ asitleri de iltihaplanmayı önlemektedir (Park ve diğerleri, 2011). Rafine şeker, kompleks karbonhidratlar, yüksek karbonhidrat tüketimi ve fast food tarzı beslenme bağırsak iltihabı riskini arttırmaktadır (Martini ve diğerleri, 1976; Gottschall ve diğerleri, 2020). Japonya'da yapılan epidemiyolojik bir çalışmada diyetle tüketilen toplam yağ, hayvansal yağ, w-6 doymamış yağ asidi, hayvansal protein ve süt proteini alımındaki artış bağırsak iltihabı ile ilişkilendirilmiştir (Shoda ve diğerleri, 1996).

Akdeniz diyeti

Otizm spektrum bozukluğu ile akdeniz diyeti (AD) arasındaki ilişkiye dair önemli çalışmalar bulunmamakla birlikte, AD'nin kardiyovasküler sistem, metabolizma ve ruhsal hastalıklara

karşı faydalı olduğu bildirilmiştir (Martinez-Gonzalez, 2014; Ros ve diğerleri, 2014; Psaltopoulou ve diğerleri, 2013). AD, meyveleri, sebzeleri, baklagilleri, kuruyemişleri, tahılları, zeytinyağını, balıkları (ılımlı tüketim) ve alkolü (şarap vb.) içerir. Ayrıca, düşük doymuş yağ, kırmızı et ve şeker alımı da AD’de yer almaktadır.

Gebe bireyin fetal dönem bebeklerinin davranışları inceleyen bir çalışmada, annenin akdeniz diyetine uyum oranına ilişkin fetal dönem davranış incelenmiştir. Yüksek diyet uyum oranına sahip annelerin bebekleri, diğer gruplara göre depresyona yakalanma olasılığının daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca, orta derece akdeniz diyeti uygulayan annelerin yavrularında olumsuz davranış olasılığı, düşük derece olan annelerin çocuklarına göre daha düşük bulunmuştur. Akdeniz diyetine uyum derecesi en düşük olan annelerin bebekleri, uyum düzeyi daha yüksek olan diğer annelerin bebeklerine göre daha fazla OSB davranışı sergilediği görülmüştür. Annenin yüksek akdeniz diyetine uyumu, kız çocuklarında SGCE/PEG10 lokusunun artmış metilasyon ve azalmış depresyon, anksiyete, atipik ve OSB indeksi kriterleri ile ilişkilendirilmiştir. Ek olarak annenin yüksek akdeniz diyetine uyumu, IGF2 ve SGCE/PEG10 lokusunun azalmış metilasyonu ve MEG3 lokusunun artan metilasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu durum sırasıyla olumsuz davranışların azalmasına ve sosyal ilişki kriterlerinin artmasına neden olmuştur (House ve diğerleri 2018).

Glütensiz/kazeinsiz diyet

Glütensiz ve kazeinsiz beslenme protokolünde, buğday, yulaf, çavdar, galeta unu, makarna, hamur işleri, tahıllı unlu mamuller gibi glüten içeren gıdaları ve süt, yoğurt, peynir, tereyağı, krema gibi kazein içeren gıdaları tüketilemez. Literatürde glüten ve kazein içermeyen diyetle ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Kazeinsiz diyet sağlıklı bakteri popülasyonunu azalttığını, fırsatçı patojenleri artırdığını ve immünoşüpresif özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Ristori ve diğerleri, 2019). Otizm spektrum bozukluğunda glütensiz/kazeinsiz bir diyet uygulaması idrar peptitlerini azaltmakta, semptomları ve davranışı iyileştirmekte ve gastrointestinal semptomları azaltmaktadır (Nistal ve diğerleri, 2012). İnflamatuvar sitokin kazein - glüten kaynaklı salınarak bağırsak epitel bariyerini değiştirmektedir. Bu proteinler ve peptidler beyin-bağırsak bariyerinden emilmekte ve MSS’yi etkilemektedir. Diyetlerden glüten ve kazein çıkarılarak otizmlili çocuklarda ölçülebilir davranış değişiklikleri gözlenmiştir. Bu tarz eliminasyon diyetinin lif alımını azaltabileceği ve dolayısıyla olası gastrointestinal sorunlara yol açabileceği unutulmamalıdır

(Marí-Bauset ve diğerleri, 2014; Lange ve diğerleri, 2015). Glüten ve kazein içeren normal bir diyet ile glütensiz ve kazeinsiz diyet alan, yüksek idrar beta kazomorfin konsantrasyonuna sahip OSB'li 37 çocuk ve ergen ile yapılan bir çalışmada eliminasyon diyet uygulamasından sonra önemli davranış değişiklikleri ve idrar beta-kazomorfin düzeyleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (González-Domenech, 2020).

Ketojenik Diyet

Ketojenik diyet, yüksek yağ, yeterli protein ve çok düşük karbonhidrat örüntüsü olan bir diyettir. Antikonvülzan ilaç tedavisine dirençli kişilerde, özellikle sara hastalarında etkili olduğu bilinmektedir (Ros ve diğerleri, 2014). Ayrıca ketojenik diyetin hafif ve orta dereceli OSB hastalarında nöbet ve davranış bozukluklarının şiddetini azalttığı bildirilmiştir (Castroa ve diğerleri, 2015; Evangeliou ve diğerleri, 2003).

Valproik asit (600 mg/kg) uygulaması ile oluşturulan 16 OSB'li sıçana ketojenik diyet tedavisi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu bildirilmiştir. Otizm spektrum bozukluğu teşhisi konan çocuklara altı ay boyunca ketojenik diyet uygulaması sonucunda çocukların otizm derecelendirme ölçeğinde önemli ilerlemeler gözlemlendiği bildirilmiştir (Castro ve diğerleri, 2017).

2.7. Apiterapi

Apiterapi, çeşitli hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için arı ürünlerinin kullanımı ile ilgilenen alternatif tıp dalıdır (Habryka ve diğerleri, 2016).

Apiterapi veya arı tedavisi, bal arıları tarafından yapılan ürünlerin tıbbi kullanımıdır (Bankova, 2005). Arılar 125 milyon yıldır bulunmakta ve evrimsel başarıları, onların dünyadaki neredeyse tüm habitatları sömürebilen çok yıllık türler haline gelmelerini sağlamıştır. Bu başarı büyük ölçüde arıların ürettiği bal, balmumu, zehir, propolis, polen ve arı sütü gibi belirli ürünlerin kimyası ve uygulamasından kaynaklanmaktadır (Hellner ve diğerleri, 2008). Stefan Stangaciu'ya göre Apiterapi, bal arısı ve ürünleri aracılığıyla insanlığın ve tüm hayvanlar aleminin yararına bütünsel şifa ve tedavi sanatı ve bilimi olarak tanımlanmaktadır (Ahuja ve diğerleri, 2011). Arı ürünleri yüzyıllardır kullanılır, apiterapi

adı altında kullnailan ürünler; bal, propolis, polen, arı ekmeği (perga), arı sütü ve apılarnildir. Kullanımı en yaygın olan apiterapi ürünü baldır (Weis ve diğerleri, 2022).

Bal

Bal, botanik kaynağına bağlı olarak değişken bir bileşime sahip, kıvamlı ve aromatik bir üründür. Bal genel olarak şeker (fruktoz, glukoz, sakaroz, maltoz, izomaltoz, maltuloz, trealoz, maltotrioz, melezitoz vb.), su ve enzimlerden (invertaz, α - ve β -amilaz, glukoz oksidaz, katalaz) oluşmaktadır (Weis ve diğerleri, 2022). Yapısında protein ve amino asit, vitamin (B ve C grubu), mineral (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn ve Zn), polen ve diğer fitokimyasal bulunmaktadır. Balın rengi, kokusu ve tadı gibi çeşitli özellikleri coğrafi bölge, mevsim, çiçek ve arının türüne göre farklılıklar göstermektedir (Bicudo de Almeida-Muradian ve diğerleri, 2020; Silva ve diğerleri, 2016). Dünya üzerinde farklı bölgelerde bulunan toplumlar çeşitli hastalıkların tedavisinde balı ilaç olarak kullanmaktadır. Yapılan farklı çalışmalar, balın antioksidan kapasitesi, antimikrobiyal, antiparaziter, antienflamatuar, antitümör, kardiyovasküler ve yüksek besin değeri nedeniyle hastalıklara karşı tıbbi etki olduğu göstermiştir (Khan ve diğerleri, 2017; Bonomini ve diğerleri, 2022).

Bal polifenolik içeriği (fenolik asitler ve flavonoidler), C ve E vitaminlerinin ve enzimlerin (katalaz, peroksidaz) aktivitesinden dolayı toplam antioksidan kapasitesi tıbbi amaçlar için en çok araştırılan nedenler arasında yer almaktadır. Polifenolik bileşikler ayrıca balın antienflamatuar ve antikanser özellikte olmasını sağlamaktadır (Biluca ve diğerleri, 2020; Ranneh ve diğerleri, 2019; Waheed ve diğerleri, 2019).

Arı poleni

Arı poleni farklı entomofil bitki türlerinden nektar ve arını tükürük bezlerinden enzimlerle harmanlanması sonucu meydana gelmektedir. Arı poleni, son yıllarda besin değeri nedeniyle tüketimi artmıştır (Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016). Arılar tarafından ziyaret edilen coğrafi köken ve botanik kaynakların çeşitliliği nedeniyle arı polenindeki kimyasal bileşiklerin minimum ve maksimum değerleri arasında geniş bir aralık bulunmaktadır. Polenin ana bileşenleri protein, esansiyel amino asit, karbonhidrat, lipid, fenolik madde olarak sıralanabilir (Campos ve diğerleri, 2010). Ek olarak, içerisinde B grubu ve C vitaminlerin yanında, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum, demir, bakır, çinko,

manganez ve selenyum gibi mineraller açısından zengindir. Bu çeşitli bileşim, arı polenini diyet takviyesi olarak dikkate değer bir seçenek haline getirmektedir (Xi ve diğerleri, 2018). Besleyici özelliklerine ek olarak antioksidan, kardiyoprotektif, hepatoprotektif, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antikanser, immünostimülan ve antianemik aktivite içeriği nedeniyle teröpatik gıda olarak kabul edilmektedir (Rzepecka-Stojko ve diğerleri, 2015). Antioksidan kapasitesi üzerine yapılan *in vitro* çalışmalar arı polenin serbest radikal aracılı hastalıkları önleme potansiyelini göstermiştir. Yüksek fenolik bileşik içeriği sayesinde yüksek derecede serbest radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Arı poleni, antienflamatuvar etkisi nedeniyle terapötik özellik gösterir, fonksiyonel gıda veya nutrasötik formülasyonda potansiyel bir anti-inflamatuvar bileşen olarak belirtilmektedir (Kim ve diğerleri, 2015; Li ve diğerleri, 2019; Silveira ve diğerleri, 2021). Sıçanlarda arı poleni uygulaması sonucunda ERKCREB ve Akt-GSK-3 β sinyal yolu aktive olmasını sağlayarak semptomların hafıflemiştir (Kimve diğerleri, 2015; Li ve diğerleri, 2019). Ek olarak, arı poleni, farelerde kolinerjik blokajın neden olduğu bilişsel bozukluğun iyileşmesinde etkili olmuştur (Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016; Mohamed ve diğerleri, 2018). Diyetlerde alınan arı poleni yüksek besin içeriği nedeniyle malnütrisyonlu yaşlı sıçanlarda kas kütlesinde artışa neden olmuştur (López-Cabanillas ve diğerleri, 2017)..

Apilarnil

Arı kovanında, erkek arılar döllenmemiş yumurtalardan çıkar ve ana arının döllenmesinden sorumludur. Eski zamanlardan beri erkek arı larvaları insanların beslenmesine dahil edilmiştir (Bogdanov, 2020). Apilarnil, gelişimin erken döneminde erkek arı larvalarının homojenizasyonu, filtrasyonu ve liyofilizasyonu ile elde edilir, sütlü kıvamda, sarımsı gri renkte ve acı bir tat göstermektedir. Proteinler, karbonhidratlar, lipitler, B kompleks vitaminleri, biotin, folik asit, inositol, kolin ve yüksek miktarda mikro besin ve makro element (K, Mg, Na, P, Mn, Cu, Fe, Se) dahil olmak üzere birçok besin bileşeni içermektedir. Arı sütü ile karşılaştırıldığında, apilarnil daha fazla miktarda serbest amino asit içermektedir (Isidorov ve diğerleri, 2016; Margaoan ve diğerleri, 2017). Apilarnil, AS'den izole edilen östrojenik yağ asitlerine benzeyen E-dec-2-endioik asit dahil olmak üzere testosteron, progesteron, estradiol, prolaktin gibi steroid hormonları bakımından zengindir (Seres ve diğerleri, 2013). *In vivo* çalışmalar, apilarnilin östrojenik aktivitesini göstermiştir (Seres ve diğerleri, 2013).

2.7.1. Propolis

Propolis, arıların farklı türde bitkilerden alınan özlerin kendi tükürük salgıları ve balmumunu karıştırarak yaptıkları reçineli bir üründür. Propolis kovanda bulunan istenmeyen delikleri kapatmak ve davetsiz misafirlere karşı kovayı korumak için kullanılmaktadır. Bu nedenle Yunancada “şehrin savunması” manasına gelen propolis olarak adlandırılmıştır (Burdock, 1998).

Propolisin biyolojik aktivitesi coğrafi konum ve bitki türüne göre farklılıklar göstermektedir (Bankova ve diğerleri, 2016). Kavak, huş, palmye, çam, kızılğaç, söğüt, *Baccharis dracunculifolia* ve *Dalbergia ecastophyllum* gibi çok sayıda botanik tür propolis kaynağı olarak tanımlanmaktadır (Toreti ve diğerleri, 2013). Yapısında aromatik aldehit, alkol, amino asit, ester, diterpen, seskiterpen, lignan, yağ asidi, bazı vitamin ve mineral içerir (Braakhuis, 2019). Tıp tarihinde propolis çok eski tarihlerden günümüze farklı amaçlarda kullanıştır. Antik Mısır’da, kadavraları mumyalamak ve çürümeyi önlemek için propolis kullanılmıştır. Yunan ve Romalılar, antiseptik ve iyileştirici etkisi nedeniyle ağız dezenfektanı ve yara iyileşmesinde kullanılmıştır. İnkalar, ateş düşürücü bir madde olarak; Persler egzama ve romatizma tedavisinde yaygın olarak propolisi kullanmışlardır. Yakın tarih olan ikinci dünya savaşı süresince propolis, tüberküloz tedavisinde ve yara iyileşmesi için kullanılmıştır (Silva-Carvalho ve diğerleri, 2015). 2021 yılında yapılan farklı çalışmalarda propolisin COVID-19 tedavisine dahil edilme potansiyeli olduğu belirtilmiştir. İn vivo çalışmalar propolisin antipsoriatik, östrojenik, antihipertansif, immünomodülatör, analjezik, hepatoprotektif, antidiyabetik ve hipolipitemik, anti-inflamatuvar, antitümör, anti-nefrotoksik, antidepresan, anksiyolitik, anti-alerjik, nöroprotektif, antioksidan, antiürolitiazis, yara ve yanık iyileşme etkilerinin olduğunu göstermiştir (Berretta ve diğerleri, 2020; Ripari ve diğerleri, 2021; Silveira ve diğerleri, 2021).

Propolis flavonoid, eser elementler ve diğer sağlıklı bileşenler açısından zengindir ve antioksidan, anti-alerjik ve anti-inflamatuvar özellikler gibi birçok sağlık etkisine sahip olduğu gösterilmiştir (Abed, Bhat, diğerleri., 2019a). Propolis, otizmle ilişkili olan serotonin, dopamin ve noradrenalin gibi nörotransmitter seviyelerinde iyileşmeye yardımcı olabilmektedir (Al-Salem ve diğerleri, 2016). Arı ürünleri, anti-enflamatuvar etki yaparak PA kaynaklı indüklenen IFN- γ ve kaspaz-3 seviyesinin azalmasını sağlamaktadır (Al-Salem ve diğerleri, 2016; El-Ansary ve diğerleri, 2017). *Clostridia*, *Klebsiella pneumonia*,

Pseudomonas aeruginosa ve *Candida albicans* gibi mikrobiyaller otizmlı hastada, özellikle ve ampisilin türü antibiyotik kullanımıyla miktarında artışa neden olmaktadır (Eraslan ve diğerleri, 2009). Arı poleni ve propolis kullanımı bu patojenlere karşı olumlu etkisi olabileceği belirtilmektedir (Aabed, Shafi Bhat, ve diğerleri, 2019; Baltrušaitis ve diğerleri, 2007; Komosinska-Vassev ve diğerleri, 2015). Ek olarak, propolis yüksek flavonoid içeriği nedeniyle güçlü antioksidan etki yaratabilmektedir (Didaras ve diğerleri, 2020)

2.7.2. Arı ekmeği (perga)

Arı ekmeği, polenin nektar ve tükürük ile karıştırılması ve zamanla mikroorganizmalardan gelen enzimlerin etkisiyle kimyasal bir değişime uğradığı kovana paketlenmesiyle elde edilmektedir (Anderson ve diğerleri, 2014; Risco-ríos ve diğerleri, 2012). Bu işlem, depolanan polenin dönüşümünü kolaylaştırır ve nihai ürün asidiktir (pH=4) ve %40-50 basit şeker içermektedir (Anderson ve diğerleri, 2014; Sobral ve diğerleri, 2017). Arı ekmeği, insan vücudu tarafından polenden daha verimli bir şekilde emilir, çünkü polen zarfı işleme sırasında çözülür ve vitaminlerin emilimini kolaylaştırmaktadır. Biyokimyasal dönüşümler, polen tanesi içindeki besinlerin ve biyoaktif maddelerin salınmasında hayati bir rol oynamaktadır (Atkin ve diğerleri, 2011).

Perga antioksidan görevi gören fenolik bileşik, pigmente ek olarak ~%20 protein, ~%3 lipit, ~%24-35 karbonhidrat, %3 mineral ve vitamin (B, C ve E) içerir (Markiewicz-Żukowska ve diğerleri, 2013). Ek olarak, sukraz, amilaz, fosfataz, flavonoidler, karotenoidler ve hormonlar gibi birçok biyolojik aktif bileşik içermektedir (Sobral ve diğerleri, 2017). Arı ekmeği, U87MG glioblastoma hücreleri üzerinde antioksidan ve sitotoksik etkiler göstermiştir. Ek olarak, perga flavonoid içeriği, normal hücreler için toksisite olmaksızın bir antitümör aktivite gösterir. Yüksek besin içeriği ve flavonoid içeriği nedeniyle arı ekmeği apiterapi olarak kabul edilmektedir (Weis ve diğerleri, 2022). Bogdanov'a (2020) göre, özellikle kolonoskopi geçirmiş veya antibiyotik tedavisi alan hastalarda bağırsak mikrobiyomunu restore eden bir probiyotik kaynağı olarak belirtmiştir (Bogdanov, 2020).

Literatürde birçok çalışma, arı ekmeğinin serbest radikal ve antioksidan dengesine olumlu etkisi olduğunu belirtmektedir (Martinello ve Mutinelli, 2021; Urcan ve diğerleri, 2017). Arı ekmeği ayrıca fenolik bileşikler, koenzim Q10 ve α - tokoferol gibi iyi bir antioksidan bileşik kaynağıdır (Tawfik diğerleri., 2022; URCAN ve diğerleri, 2017). Otizm spektrum

bozukluğunda görülen bozulmuş oksidan dengesizliğine karşı arı ürünleri olumlu etki yapabilmektedir (Eraslan diğerleri., 2009).

2.7.3. Arı sütü

Arı sütü (AS), işçi arıların hipofaringeal ve mandibular bezleri tarafından salgılanmaktadır. Çok kısa süreliğine AS ile beslenen işçi arıların tersine kraliçe arı ömür boyu diyetinde sadece arı sütü yer almaktadır. Arılar aynı diploid genomdan gelmelerine rağmen, beslenme farkı sayesinde kraliçe arı iki kat daha büyüktür, üreme için özel bir anatomiye sahiptir ve sadece birkaç hafta yaşayan işçi arılardan farklı olarak 5 yıla kadar yaşamaktadır (Buttstedt ve diğerleri, 2013; Kamakura, 2011). Bu bulgular AS'nin sağlığı ve uzun ömürlülüğü desteklediğini göstermektedir; ek olarak doğurganlığı ve vücut kompozisyonunu iyileştiren yaşlanma karşıtı bir nutrasötik etkisi olduğu düşünülmektedir (Ali ve Kunugi, 2020a). Beyaz viskoz bir yapıya sahip olan arı sütü ~%60 su, %20-40 protein, %15-30 karbonhidrat, %3-8 lipit, %1,5-3 mineral ve vitamin içermektedir. AS, immünomodülatör bir etki gösteren 10-hidroksi-trans-2 dekenoik asit (10H₂DA; "arı sütü asidi") dahil olmak üzere çok sayıda biyoaktif madde içermektedir. Royalaktin arı sütünün fonksiyonel bir bileşenidir (Nagai ve Inoue, 2004; Ramadan ve Al-Ghamdi, 2012; Sugiyama ve diğerleri, 2012). Kromatin erişilebilirliğini modüle ederek bir pluripotent gen ağının aktivatörü olarak etki yapmaktadır (Yamauchi ve diğerleri, 2014). Preklinik deneylerinde AS, proinflamatuvar sitokinlerin sentezini düzenleyerek farelerin peritoneal makrofajları üzerinde anti-inflamatuvar etki yapmaktadır (Guardia de Souza e Silva ve diğerleri, 2020). Hayvan deneylerinde sıçan nörodejenerasyonu ve oksidatif stres seviyesinin düşürülmesinde AS'nin etkili olduğu bildirilmektedir (Weis ve diğerleri, 2022).

Ek olarak, AS ile ilgili hayvan çalışmalarında oksidatif stres, nörogrubunda ve mitokondriyal disfonksiyonu önleyebileceği bu sayede Parkinson hastalığında nöronal hasarın hafifletilmesine ve motor becerinin iyileşmesinde etkili olduğu belirtilmektedir. AS, hiperinsülinemik durumda olan sıçanlarda insülin direnci ve hipertansiyonu iyileştirmede güçlü bir yetenek göstermiştir (Ali ve Kunugi, 2020a). AS ile yapılan gönüllü insan çalışmasında AS'nin glukoz metabolizmasını düzenlediği, insülin benzeri bir aktivite nedeniyle glisemiye azaltma potansiyeli olduğunu belirtilmiştir (Münstedt ve diğerleri, 2009). Chiu ve diğerlerinin (2017), hafif hiperkolesterolemili olan 40 bireye üç ay süreyle AS takviye (350 mg/kapsül) çalışması sonucunda dehidroepiandrosteron sülfat gibi seks

hormonlarının konsantrasyonunu iyileştirerek hepatik veya renal yan etkiler olmaksızın toplam kolesterol ve LDL kolesterol düzeyinin azaldığını bildirilmiştir (Chiu ve diğerleri, 2017). Arı sütü, hormonal düzenleme ve menopoz semptomları üzerinde faydalı etkilere sahiptir. Mishima ve diğerlerinin (2005), AS'nin östrojenik aktivitesini incelediği çalışmada, östrojene duyarlı genlerin mRNA ekspresyonunu uyardığını göstermiştir. Ek olarak, erkek kısırlığının tedavisinde faydalı etkileri bulunmaktadır (Mishima ve diğerleri, 2005). Al-Sanafi ve diğerlerinin (1963), 83 infertil hasta ile yaptığı çalışmada AS'nin sperm motilitesini ve testosteron seviyelerini arttırdığını bildirmiştir (Al-Sanafi ve diğerleri, 1963). Miyata ve diğerlerinin (2020), böbrek hücreli karsinomlu 33 hasta üzerinde yaptığı çalışmada AS alana 16 hasta grubunda plasebo grubuna göre anlamlı derecede azalmış sitokin seviyeleri (TNF- α ve TGF- β) gözlemlendiğini bildirmiştir (Miyata ve diğerleri, 2020).

Biyoaktif bileşiklerin zengin bileşimi göz önüne alındığında, AS, apiterapide antioksidan, antiinflamatuvar, nörotrofik, hipotansif, antidiyabetik, antiromatizmal, antikanserojenik, yorgunluk önleyici, yaşlanma önleyici ve antimikrobiyal aktivite gibi farklı olumlu etkiler göstermektedir. Fratellone, AS'nin yara iyileşmesi ve doku onarımı, osteoporoz, immünomodülatör bir ajan olarak, hormonları düzenlemede, bilişsel işlevi iyileştirmede, lipit seviyelerini düşürmede etkinliğini bildirmiştir (Fratellone ve diğerleri, 2016). Ek olarak, diyabet, hipertansiyon, kanser, cilt hastalığı, hiperlipitemi, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisine katkı sağladığı belirtmiştir (Akçay ve diğerleri, 2009; Ali ve Kunugi, 2020b; Goodpaster ve diğerleri, 2006; W. Qiu ve diğerleri, 2020). Avrupa'da, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), kanser tedavisi için yararlı etkileri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla gösterilmiş olmasına rağmen, arı sütü tüketimi ile iddia edilen etkiler arasında henüz bir neden-sonuç ilişkisi kurmamıştır (Moghazy ve diğerleri, 2010b).



a: Bal, b: arı poleni, c: apilarnil, d: propolis, e: arı ekmeği(perga), f: arı sütü

Şekil 2.3. Farklı türdeki apiterapi örnekleri

2.8. Omega- 3 Yağ Asidi

Çoklu doymamış yağ asitleri, hücre zarı yapısı ve işlevinde önemli bir rol oynayan fosfolipitlerin önemli bileşenleridir (El-Ansary & Al-Ayadhi, 2014a). İnsan vücudunda eikozapentaenoik asit (20:5n-3; EPA) ve dokozaheksaenoik asit (22:6n-3; DHA) yağ asitleri hücre zarının yapısal ve işlevsel bileşenlerine katılmaktadır.

Omega-3 yağ asidi PUFA'nın öncüsü olan Alfa-linolenik asit, EPA'ya ve ayrıca DHA dönüştürülebilir. DHA bilişsel işlevlerde ve nörit büyümesinde, membran akışkanlığında, nörotransmisyonunda, endotelial işlevde, nöronal hayatta kalmada ve zayıflatıcı nörodejenerasyonda rol oynamaktadır (Masi diğerleri., 2017). Bu nedenle gebelikte ve çocukluk döneminde balık tüketimi ve takviye kullanımı önemlidir. Otizm spektrum bozukluğu olan hastaların %60'a varan bir kısmında sistemik immün disfonksiyon bulunmakta, diyetlerde düşük w-3 alımı ya da yüksek w-6/w-3 alımı OSB'deki inflamatuvar homeostazi arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir (Gesundheit ve diğerleri, 2013). Parletta ve diğerlerinin (2016) yaptığı bir çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DEHB ve OSB olan çocuklarda daha düşük w-3 yağ asidi seviyesi ve daha yüksek AA/EPA oranı bulunmuştur (Parletta ve diğerleri, 2016). Değişen PUFA metabolizması, OSB'li bireylerde proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin artmasına, oksidatif stresin artmasına ve

nörotransmitterlerin oluşumunda ve etkisinde bir dengesizliğe yol açmaktadır (Won diğerleri., 2013). Omega-3 yağ asidi takviyesi nöronal zarlardaki yapısal ve fonksiyonel rolleri, altta yatan biyolojik mekanizmaları destekler ve takviyenin psikiyatrik bozukluğu olan çocuklarda semptomlara yardımcı olabileceğini düşünülmektedir (Masi diğerleri., 2015)

Otizm spektrum bozukluğunda PUFA etkilerinin tam mekanizması tam olarak açık değildir, ancak bir olasılık, PUFA'nın beyni GBA yoluyla etkilemesidir. Bağırsak-beyin etkileşimlerini anlamak, ruh hali ve davranış bozukluklarını tedavi etmek için yeni yaklaşımlar sağlayabilir (Mazahery diğerleri., 2019). Sindirim sırasında w-3 yağ asidi ile probiyotik bakteriler arasında sinerjik bir etki bildirilmektedir. Omega-3 yağ asidi probiyotiklerin bağırsak duvarına bağlanmasını sağlamaktadır (El-Ansary & Bhat, 2020). Omega-3 yağ asidi takviyeli diyetle beslenen farelerin, stresli koşullar altında sağlıklı hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen aktivitesi ile daha fazla fekal *Bifidobacterium* ve *Laktobasiller* sayısı olduğu belirtilmektedir (Mazahery ve diğerleri., 2019).

2.9. Otizm Hayvan Modelleri

Otizm spektrum bozukluğunda kabul görmüş zihinsel süreçlerin önemli bir kısmı sadece insanlara özgüdür ve hayvanlarda kapsamlı klinik otizm modeli oluşturulması mümkün olmasa da sosyal özellik bozulması ve tekrarlayan davranışsal tezahürlerin benzetildiği model yapılmaktadır (Hrabovska ve Salyha, 2016b).

Otizmin hayvan modelleri dört ana başlık altında incelenmektedir (Belzung ve diğerleri, 2005).

1. Nöropeptit reseptörlerinde vazopressin, oksitosin (oksitosin reseptörü olmayan nakavt fare) ve opioidlerde (μ -opioid reseptöründe sorun olan fare) eksiklik olan hayvanlar (Hrabovska ve Salyha, 2016b; Leung ve diğerleri, 1987; Pobbe ve diğerleri, 2012)
2. İnsanlarda otizm riskini artıran patolojik durumların yeniden üretildiği modeller; antikonvülzanların doğum öncesi etki, talidomid kaynaklı embriyopati ve doğum öncesi gelişim sırasında serotonin sentezi mekanizma bozukluğu (Narita ve diğerleri, 2010; Sookoian ve diğerleri, 2007)

3. Otizm beyin anormalliği modeli; beyincik, amigdala kompleks veya medial prefrontal korteks (Tsai ve diğerleri, 2012)
4. Frajil X kromozomu sendromu kaynaklı genetik hayvan modeli (Mines ve diğerleri, 2010)

2.9.1. Valproik asit modeli

Valproik asit (VPA) güçlü bir teratojen ve klinik olarak, epilepsi, ruh hali değişimleri için kullanılan bir ilaçtır (Nicolini ve Fahnestock, 2018). Gebeliğin erken döneminde VPA kullanımı risk oluşturmaktadır. Gebeliğin birinci trimesterinde VPA maruziyetini nöral tüp defektleri ve atriyal septal defekt, yarık damak, hipospadias, polidaktili ve kraniosinostoz gibi diğer konjenital malformasyonlarla ilişkilendirilmektedir (Nau ve diğerleri, 1991; Werler ve diğerleri, 2011). Ek olarak, rahimde VPA maruziyeti, bilişsel işlev bozukluğu riskinin artmasına neden olmaktadır (Nicolini ve Fahnestock, 2018). Meador ve diğerleri, Amerika Birleşik Devletleri ve Birleşik Krallık'ta VPA monoterapisine maruz kalan kadınların çocuklarının, diğer yaygın antiepileptik ilaçlara maruz kalan çocuklara kıyasla üç yaşında daha düşük IQ puanlarına sahip olduğunu bildirmiştir (Meador ve diğerleri, 2009). Eriksson ve diğerleri ve Nadebaum ve diğerlerinin yaptığı çalışmalarda benzer sonuçlar bildirilmiştir (Eriksson ve diğerleri, 2005; Nadebaum ve diğerleri, 2011). Nadebaum ve diğerleri (2011) doğum öncesi VPA maruziyetinin, okul çağındaki çocuklarda sözel entelektüel yetenekleri olumsuz etkilediğini, Meador ve diğerleri rahimde VPA maruziyetinin, üç yaş grubu sözel ve diğer yetenekler üzerinde olumsuz etkileri olduğunu bildirmiştir (Meador ve diğerleri, 2011). Rahim içi VPA maruziyeti çocukta gecikmiş nörogelişime neden olmaktadır (Nicolini ve Fahnestock, 2018). Rouillet ve diğerlerinin (2013) VPA uterus maruziyeti araştıran klinik ve hayvan çalışmasında, VPA'nın OSB üzerindeki epidemiyolojik kanıtları tanımlamıştır.

Çizelge 2.6. Valproik asidin olası etkileri

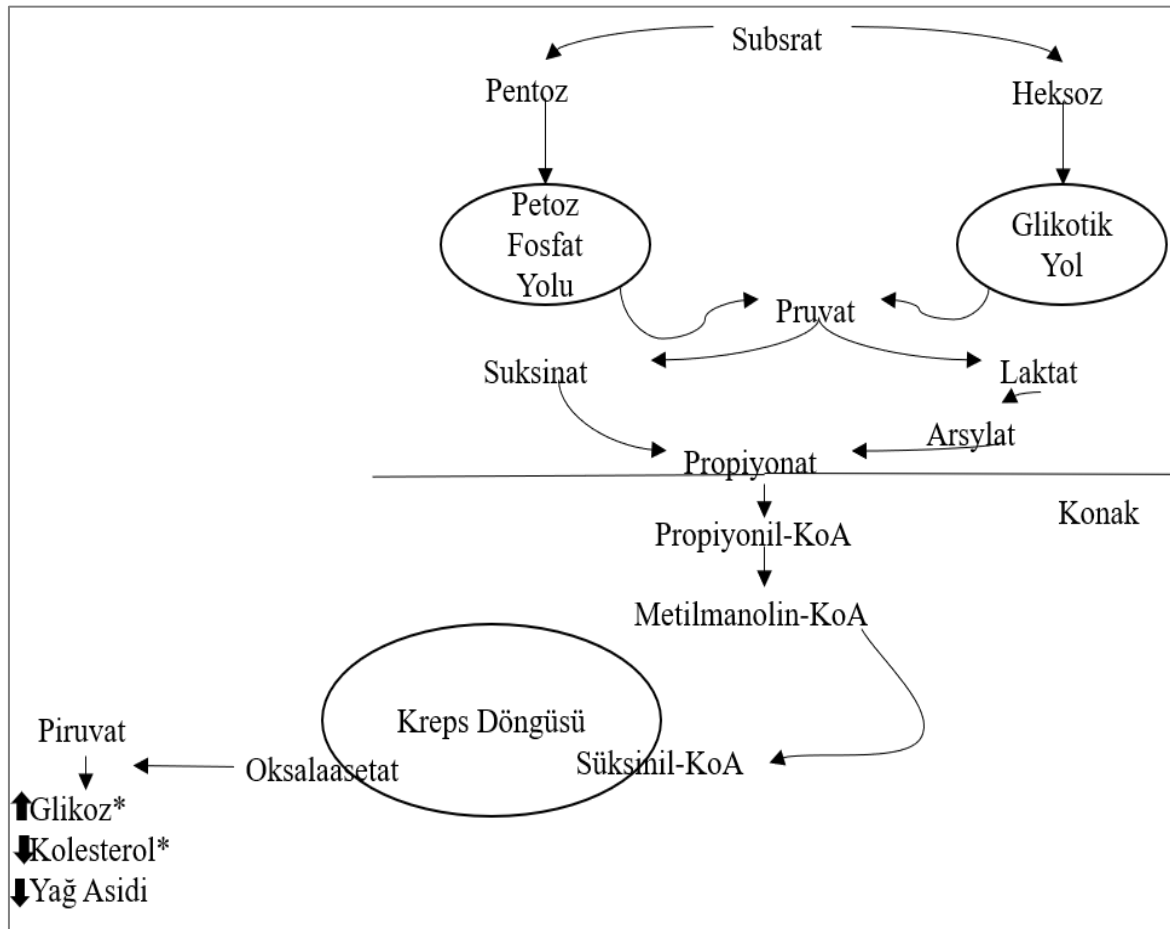
Yol	VPA'nın Varsayılan Mekanizması	Referans
Oksidatif stres	Henüz doğrudan bir kanıt olmamasına rağmen, VPA, fetal beyin reaktif oksijen türlerine daha duyarlı olduğunda embriyonik değişiklikler yaratabilir.	(Kim ve diğerleri, 2016)
Histon deasetilaz inhibisyonu	VPA, embriyonik beyinde apoptotik hücre ölümünün artmasına ve beynin belirli bölgelerinde hücre çoğalmasının azalmasına neden olarak kısa bir hiperasetilasyona neden olur.	(Kataoka ve diğerleri, 2013)
Excitatory/Inhibitory imbalance	VPA, glutamaterjik nöral yoğunluğun artmasına yol açan nöral gelişimde bozulmalara neden olur	(Kim ve diğerleri, 2014)
Hiperserotonemi	VPA, <i>in vitro</i> embriyonik kök hücre kaynaklı nöronal progenitörlerden serotonerjik nöronların olgunlaşmasını bozar ve muhtemelen beyindeki serotonin seviyelerinde dengesizliğe neden olur.	(Miyazaki ve diğerleri, 2005)

Fetal dönemde VPA maruziyetinin düzensiz nöron oluşumu ve aşırı derecede beyin büyümesine neden olmaktadır. Bu farklılıklar OSB ile olası patofizyolojik bağlantı göstermektedir. VPA modeli etiyolojisinin bir yönünü etkili bir şekilde OSB'yi taklit etmektedir (Roullet ve diğerleri, 2013). Otizmin VPA yoluyla patogenezi teorik olarak izlenebilir (Çizelge 2.2).

2.9.2. Propiyonik asit modeli

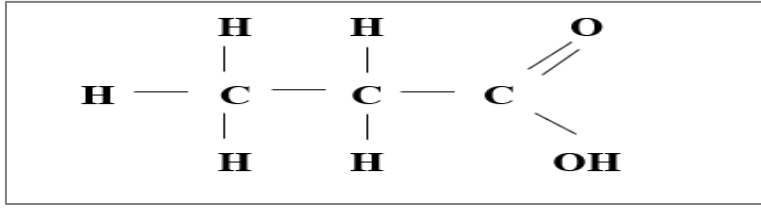
Propiyonik asit (PA), mikrobiyal fermantasyon yoluyla üretilen ticari olarak değerli bir karboksilik asittir (Gonzalez-Garcia ve diğerleri, 2017). Propiyonik asit vücutta diyet kaynaklı polisakaritler, oligosakaritler, uzun zincirli yağ asitleri, protein, peptitler ve glikoproteinlerin anaerobik kolonik mikrobiyota bakterileri tarafından fermantasyonu ile sentezlenir (Şekil 2.4) (Macfabe ve diğerleri, 2007a). Bu substratlar temel olarak mikrobiyota tarafından çeşitli yollarla fermente edilen heksozlar ve pentozlardan oluşur. Heksozların temel kaynağı glikolitik yol aracılığıyla parçalanır veya 6-fosfo-glukonata dönüştürülür, daha sonra pentozların metabolize edildiği aynı yol olan pentoz fosfat yolu aracılığıyla metabolize edilir. Metabolize sonucu oluşan pirüvat, bu fermantasyon

reaksiyonlarının başlıca metabolit kaynağıdır. Kolonda pirüvat PA gibi kısa zincirli yağ asitlerini (KZYA) dönüştürüldüğü için kolonda düşük yoğunlukta bulunur.(Hijova ve Chmelarova, 2007; Wong ve diğerleri, 2006) Pirüvat CO_2 'nin süksinat oluşturmak üzere 36irüvata sabitlendiği, daha sonra propiyonata dekarboksilatlandığı süksinat dekarboksilasyon yolu; ve PA'nın öncü olarak laktat ile akrilattan üretildiği akrilat yolu olmak üzere iki farklı yolak üzerinden kısa zincirli yağ asidine çevrilir (Hijova ve Chmelarova, 2007). KZYA olan bütiratın aksine, kolonda sentezlenen PA'nın çoğunluğu emilerek organ ve portal vene drene olur (Cummings ve diğerleri, 1987).



Şekil 2.4. Propiyonik asidin sentezi

Bunun yanında bazı besin ürünlerinde doğal olarak bulunur. Propiyonik asit, sütte düşük miktarlarda, bakteriyel fermentasyonun daha fazla olduğu fermente sütte (2,4ppm) daha yüksek seviyelerde bulunur (Fernandez-Garcia ve McGregor, 1994; H.-J. Lee ve diğerleri, 2010). Mantar ve bakteri önleyici etkisinden dolayı PA gıda katkı maddesi (E280) olarak da bulunur(Davidson ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.5. Propiyonik asit

2.9.3. Propiyonik asit ve otizm spektrum bozukluğu

Propiyonik asit, OSB’de gözlenen davranışsal, nöropatolojik ve biyokimyasal anormalliklerde rol oynayabilir (Wajner ve diğerleri, 2004a). Zayıf bir organik asit olan PA, iyonize ve iyonize olmayan formlarda bulunur. Farklı formları sayesinde bağırsak-kan ve kan-beyin bariyerleri gibi birçok lipid membranından kolayca geçebilir (Karuri ve diğerleri, 1993). Ek olarak, PA bağırsak lümeni ve serebrovasküler endoteldeki monokarboksilat reseptörleri, erken beyin gelişimi sırasında beyin metabolizmasında önemli bir enerji kaynağı oluşturdukları düşünülen nöronlar ve glia tarafından hücre içerisine alınır (Rafiki ve diğerleri, 2003a; Tamai ve diğerleri, 1995).

Asetat ve bütirat ile birlikte, PA ileum ile doğrudan teması gastrik motilitenin azalmasına ve kasılmaların sıklığını artmasına neden olur (Mitsui ve diğerleri, 2005). Ek olarak, PA, kolon düz kasının kasılması ve arterinin genişlemesi, mast hücre aktivitesi, bağırsak enterokromaffin hücrelerinden serotonin salınımını gibi etkileri bulunmaktadır (Horvath ve diğerleri, 1999; Karaki ve diğerleri, 2006). Bu nedenle PA, OSB’li bazı hastalarda gözlenen gastrointestinal disfonksiyon semptomlarına benzer grubundaa neden olur (Cuche ve Malbert, 1999).

Otizm spektrum bozukluğa sahip çocuklarda çeşitli bağırsak ve diyet faktörlerinin semptomları geçici olarak olumsuz etkileri olmaktadır. Bağırsak mikrobiyomunda konakçı olarak bulunan bakteriler kısa zincirli yağ asitleri sentezler (Macfabe ve diğerleri, 2007). KZYA ile bağırsak ve beyin aksı arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır (El-Ansary ve Al-Ayadhi, 2014; Macfabe ve diğerleri, 2007). Bu bağlantı nedeniyle OSB gibi nörogelişimsel bozukluklarla ilişkilendirilmektedir (El-Ansary ve Al-Ayadhi, 2014). Propiyonik asit temel kaynağı enterik bakterilerin amino asit ve karbonhidrat fermantasyonudur (Macfabe ve diğerleri, 2007). Propiyonik asit bağırsak-kan ve kan-beyin bariyerini kolayca geçer ve bu nedenle hem aktif hem de pasif yollarla merkezi sinir sistemine erişim sağlar ve hücrel

zarları geçerek hücre içerisinde birikir (Rafiki ve diğerleri, 2003a; Shultz ve diğerleri, 2008). Gıda katkı maddesi olarak kullanılan PA, OSB'li bireylerin gıdaları tüketmesi durumunda otizmlili çocuklarda semptomları şiddetlendiği bildirilmektedir (Alabdali ve diğerleri, 2014).

Propiyonik asit diyetle alınan karbonhidratların fermentasyonunu sonucu enterik bakterilerin metabolik son ürünü olan asetat ve bütirat gibi oluşan KZYA'dır (Al-Lahham ve diğerleri, 2010). Endojen olarak bağırsak, cilt ve oral mukozada bulunan bakteriler tarafından üretilen PA, çeşitli gıda maddelerinde doğal olarak bulunur, un ve süt ürünlerinde koruyucu gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (MacFabe ve diğerleri, 2008). Propiyonik asit fizyolojik pH'da iyonize ve iyonize olmayan formlarda bulunur. Bağırsak-kan ve kan-beyin bariyerlerini kolayca geçebilir bu sayede merkezi sinir sistemine (MSS) ulaşarak etki edebilir. Ek olarak, PA, bağırsak lümeninde ve serebrovasküler endotelde monokarboksilat reseptör alımı yoluyla MSS'ne erişim sağlayabilir (Shultz ve MacFabe, 2014a). MSS de PA; nöron ve glia hücreleri tarafından hücre içerisine alınır. Özellikle erken beyin gelişimi döneminde, beyin metabolizmasında ana enerji kaynağı olarak görev yapmaktadır (Rafiki ve diğerleri, 2003b). Propiyonik asit belirli dozlarda faydalı olsada, yüksek dozda alınması sağlık ve davranış üzerinde bir takım olumsuz etkileri olduğu görülmektedir. Kalıtsal propiyonik/metilmalonik asidemi, biyotinidaz/holokarboksilaz eksikliği, etanol/valproat maruziyeti ve mitokondriyal bozukluklar serum PA seviyesinin artmasına neden olmaktadır (Al-Lahham ve diğerleri, 2010; Rossignol ve Frye, 2012). Propiyonik asit alımı OSB ile benzer olan gelişimsel gerileme, motor beceri bozukluğu ve gastrointestinal semptomların görülmesine neden olabilmektedir (Shultz ve MacFabe, 2014; Wajner ve diğerleri, 2004b).

Yüksek dozda PA uygulaması OSB'de gözlemlenenlere benzer davranışsal, elektrofizyolojik, nöropatolojik ve biyokimyasal etkilere neden olabilmektedir.

Sosyal davranış üzerindeki etkileri

Sosyal davranıştaki bozulmalar, OSB'nin en belirgin semptomları arasında yer almaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda yüksek dozda PA'ya maruz bırakılan sıçanlarda sosyal davranış üzerindeki etkilerini incelenmiştir (Shultz ve diğerleri, 2009; MacFabe ve diğerleri, 2011). Shultz ve diğerlerinin (2009) yapmış olduğu çalışmada yüksek dozda PA (4 ml 0,26 M solüsyon, pH = 7,5) maruziyetine bırakılan yetişkin sıçanların davranışları incelenmiştir. Açık alan sosyal davranış testi ve oyun oynama davranışı kör deney puanlaması skorlanması

sonucunda; PA grubu kontrol grubuna göre yüksek ortalama mesafe, yakın mesafe iletişim süresinde azalma, eğlenceli etkileşimlerde azalma ve dış tepkilere verilen yanıtın değişmesi gibi sosyal davranış bozuklukları sergilendiği belirtilmiştir (Shultz ve diğerleri, 2009). MacFabe ve diğerlerinin (2011) yapmış olduğu farklı bir çalışmada KZYA çeşidi olan sodyum asetat uygulaması, PA'nın alkol türevi olan propanol ile yapılan maruziyete benzer bozulmalara neden olmuştur. Ergen sıçanlarda PA maruziyeti kaynaklı sosyal bozukluklar görülmüştür. Nesne seçimi testinde, PA grubu (4 ml 0,26 M solüsyon) sıçanların, kontrol grubuna göre yeni karşılaşılan bir sıçana karşı önemli ölçüde daha az davranış gösterdiği görülmüştür (MacFabe ve diğerleri, 2011).

Bilişsel performans üzerindeki etkileri

Otizm spektrum bozukluğunda öğrenme güçlükleri, sınırlı ilgi alanı ve ısrarcı- törensel davranışlar gibi farklı türde bilişsel bozukluklar görülmektedir (MacFabe ve diğerleri, 2008; Shultz ve diğerleri, 2009). Yüksek doz PA maruziyetine kalan farelerde OSB'de gözlenen semptomlarla uyumlu bozukluklara neden olabileceği gösterilmiştir (MacFabe ve diğerleri, 2011; Shultz ve diğerleri, 2009; Shultz ve MacFabe, 2014). MacFabe ve diğerlerinin (2011) yapmış olduğu çalışmada PA maruziyetine (4 mL 0,26 M solüsyon, pH = 7,5) kalan yetişkin erkek sıçanların, kemirgenlerde bilişsel yeteneği değerlendirmek için kullanılan su labirenti testinde başarısız oldukları belirtilmektedir (MacFabe ve diğerleri, 2011). Yapılan farklı bir çalışmada PA maruziyeti sıçanların su labirentinde hafif bozulma gösterdiği veya hiç bozulma gösterdiğini bildirmiştir. Platform üzerindeki hedef tersine çevirme durumunda, PA grubu sıçanlar belirgin bilişsel bozukluklar sergilediği belirtilmiştir (Shultz ve diğerleri, 2009). Yeni nesne öğrenme testinde, PA ile tedavi edilen sıçanlar, kontrol sıçanlarıyla karşılaştırıldığında, aynı yerde bulunan diğer iki nesneye göre belirli bir nesneye yaklaştığı ve daha fazla koklama davranışı sergilediği görülmüştür (Sasson ve diğerleri, 2008). Yapılan farklı çalışmalar sonucu su labirenti, T-labirenti ve yeni nesne bulguları testinde PA'nın OSB'de gözlemlenen bilişsel eksikliklerle tutarlı davranış gösterdiği belirtilmiştir (Sasson ve diğerleri, 2008; Shultz ve MacFabe, 2014a).

Motor fonksiyon üzerindeki etkileri

Otizm spektrum bozukluğunda sıklıkla hiperaktivite ve yürüme bozukluğu gibi motor fonksiyon bozuklukları görülmektedir. Propiyonik asit uygulaması yapılan hayvanlarda

dolaylı motor ölçümler, su labirenti, T-labirent, sosyal davranış ve yeni nesne testinde fazla farklılık görülmesede, motor fonksiyon becerisine dayalı deneylerde PA'nın etkisi etkin olarak görülmektedir (Rinehart ve diğerleri, 2006; Shultz ve diğerleri, 2009). Shultz ve diğerlerinin (2009) yapmış olduğu hayvan deneyinde 1 m uzunluğunda, 2 cm genişliğinde bir ışını geçmesi gereken PA veya sodyum asetat (4 mL 0,26 M solüsyon) maruziyetine kalmış olan sıçanlar kontrol grubuna göre daha fazla kayma ve düşme gösterdiğini bildirmiştir (Shultz ve diğerleri, 2009). Yapılan farklı bir çalışmada PA uygulaması yapılan sıçanlarda, açık bir alanda hiperaktivitenin yanı sıra retropulsiyon, yılan benzeri duruş, sürekli dönme hareketi ve kontralateral uzuvların distonik tik benzeri hareketi gibi birçok anormal motor tepkileri gösterdiğini belirtmiştir (Macfabe ve diğerleri, 2007).

Elektrofizyoloji üzerindeki etkileri

Yüksek oranda KZYA seviyesi OSB'de nöbet bozukluğu insidansını arttırmaktadır (Feliz ve diğerleri, 2003). Kronik PA uygulaması limbik tip kindled nöbetlerin gelişmesine yol açmaktadır. Propiyonik asit uygulaması yapılan sıçanlarda kortikal ve subkortikal elektrografik (SE) aktivitenin davranışla olası ilişkisini incelemek amacıyla, sıçanlara beş gün süreyle bir kez düşük ve yüksek dozlarda PA uygulaması yapılmıştır. Her uygulamadan sonra, sıçanların açık bir alanı serbestçe keşfetmelerine izin verilmiş, neokorteks, hipokampus ve kaudattaki elektrotlardan SE yanıtları kaydedilmiştir. Propiyonik asit dozunun da progresi SE artışına ve buna eşlik eden konvülsif aktiviteye neden olduğu bulunmuştur. Epileptiform aktivite ilk olarak hipokampüste algılanmıştır, sonra neokorteks ve kaudattaki aktivite görülmüştür. Yüksek dozda PA uygulaması yapılan farelerde epileptiform tepkiler tipik olarak daha güçlü ve daha uzun süreli olduğu, düşük dozda PA uygulaması yapılan farelerde de epileptiform yanıtlar görüldüğü bildirilmiştir (Macfabe ve diğerleri, 2007). Propiyonik asidin neden olduğu nöbetler ve anormal SE aktivitesine ilişkin bu bulgular, OSB'de artan nöbet ve hareket bozukluğu ile tutarlı olduğu belirtilmiştir (Macfabe ve diğerleri, 2007; Shultz ve diğerleri, 2009).

Hücre içi asidifikasyon, oksidatif stres ve antioksidan kapasite üzerindeki etkileri

Propiyonik asit karboksilat fonksiyonel grubu ve asidik özelliği nedeniyle davranış üzerinde etkilere dahil olabilmektedir (Shultz ve MacFabe, 2014b). Propiyonik asit gibi küçük moleküler ağırlıklı organik asitler, MSS'ne pasif veya aktif taşıma yoluyla erişim

sağladıklarında, hücreler içerisinde konsantrasyon artışına bağlı olarak pH'ın azalmasına neden olmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda sıçanlarda PA ve asetatla bağlı asidoz, sosyal davranış değişikliğine neden olduğu belirtilmektedir. Hücre içi pH'ın hücresel fizyoloji üzerinde farklı sonuçlara neden olmaktadır (Thomas ve diğerleri, 2010; Shultz ve MacFabe, 2014b). Örneğin, PA kaynaklı hücre içi asitleştirme, diğer yağ asidi normal metabolizmasında elzem olan karnitin fonksiyonunu engellemektedir. Hücre içinde toplanan organik asitler, metabolizmayı kesintiye uğratan bir asil-koenzim A birikimine neden olmuştur (Kim ve diğerleri, 2019). Propiyonik asit, karnitin fonksiyonunu engelleyebilir ve koenzim A fonksiyonunu inhibe ederek mitokondriyal metabolizma bozarak hücre içi enerji üretimini olumsuz etkilemektedir. Propiyonik asit, karnitin fonksiyonunu inhibe ederek, diğer organik asitlerin birikmesi yoluyla sitoplazmik pH'ı daha da azaltmaktadır. Otizm spektrum bozukluğunda PA ile metabolik fonksiyon arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma olmamasına rağmen, OSB'de karnitin eksikliği, mitokondriyal disfonksiyon ve nitrik oksit metabolitlerinin sistemik yükselmesi gibi yağ asidi metabolizması sorunlarına neden olmaktadır. Antiepileptik ilaç olan “valproat”, OSD için bilinen prenatal risk faktörüdür ve yağ asidi metabolizmasını değiştirmekte, karnitin depolarının tükenmesine neden olmaktadır (Kim ve diğerleri, 2019; Thomas ve diğerleri, 2010). Bozulmuş yağ asidi metabolik süreci, oksidatif stres artışı nedeniyle ensefalopatik süreç gibi MSS üzerinde olumsuz etkiye yol açmaktadır. Organik asidemi de artan oksidatif stresle ilişkili ensefalopatik süreç, PA hayvan modelinde OSB’de görülen bulgularla tutarlı semptomlar üretmektedir. Yedi gün süreyle (4 ml 0,26 M) PA uygulaması yapılan sıçanlardan alınan beyin homojenatlarının biyokimyasal analizleri, oksidatif stres belirteçlerinde bir artışın yanı sıra glutatyonla ilişkili anormalliklere neden olmuştur (MACFABE ve diğerleri, 2007a; Shultz ve diğerleri, 2008).

Glutatyon, çeşitli çevresel organik bileşikler ve metaller üzerinde hem antioksidan savunmaya hem de ksenobiyotik detoksifikasyona katılmaktadır. Glutatyon sistemi, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz, g-glutamilsistein sentetaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz dahil olmak üzere hem birincil hem de ikincil antioksidanlardan oluşturmaktadır (Kim ve diğerleri, 2019; Shultz ve MacFabe, 2014b). Enzim aktivitesindeki değişiklik, hücresel savunmanın azaldığını göstermekte ve artan oksidatif stres belirteçleri olarak kabul edilmektedir. Propiyonik asit kaynaklı metabolik anormallikler ve hücre içi pH dengesizliği (asitleşme) kaynaklı oksidatif stres, OSB’lilerde görülen bulgularla benzerdir (Shultz ve MacFabe, 2014b).

Nörogrupunda üzerindeki etkileri

Propiyonik asit uygulaması yapılan farelerde, hipokampus, neokorteks ve beyaz madde gibi beyinin farklı bölgelerinde artmış aktif mikrogliya ve reaktif astroglia ile karakterize edilen bir nöroinflamatuvar yanıt sergilenmesine neden olmaktadır (Thomas ve diğerleri, 2010). Nöroinflamatuvar yanıt yüksek dozda PA uygulaması sonucu oluşmakta ve apoptotik nöronal kaybın yokluğunda meydana gelmektedir. Otizm spektrum bozukluğu olan hastalardan alınan otopsi sonuçları, hipokampus, neokorteks ve beyaz cevherde artmış aktif mikrogliya ve reaktif astrositleri göstermektedir (Kim ve diğerleri, 2019). Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerden alınan periferik kan monositlerinde de benzer yüksek bağışıklık aktivitesi bulguları görülmektedir. Otistik beyinde bulunan aktifleştirilmiş mikrogliya, MSS'ye göç etmiş periferik makrofajları temsil etmektedir. Bu hücre tipi, proinflamatuvar sitokinlerin, hidrojen peroksit ve nitrik oksit gibi reaktif oksijen türlerinin ve oksidatif stresin seviyelerini arttırmaktadır. İmmün hücreleri üzerinde KZYA reseptörü bulunmakta ve OSB'de tümör nekroz faktörü ve makrofaj kemoatraktan proteini gibi artan sitokin seviyeleri bulunduğundan, böyle bir etki PA hayvan modelinde de uygulanabilmektedir. Propiyonik asit kaynaklı nöroinflamatuvar bulgu, OSB'nin klinik bulgularına benzer özelliktedir (Shultz ve MacFabe, 2014a).

Lipit metabolizması ve mitokondriyal fonksiyon üzerindeki etkileri

Çoklu doymamış yağ asitleri, nöronal zarların başlıca lipit bileşenidir. Normal beyin işlevi ve gelişimi için elzemdir (Kim ve diğerleri, 2019). Birçok nöronal membran protein yapısı, OSB'de yer alan çevresel faktörlerden etkilenebilen fosfolipit ortamlarına bağlıdır. Fosfolipitlerin yağ asidi bileşimindeki değişiklikleri, proteinlerin işlevi ve kontrol ettikleri biyokimyasal süreçler üzerinde önemli etkilere sahiptir (Kong ve diğerleri, 2022). Klinik çalışmalar OSB'lilerin eritrositlerinde anormal açilkarnitin ve fosfolipit profili olduğu belirtilmektedir. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, PA uygulaması (4 ml 0,26 M) hiperaktiviteye neden olmuştur. Propiyonik asit uygulaması yapılan sıçanların beyin fosfolipitlerinde değişmiş lipit profiline neden olmuştur (Thomas ve diğerleri, 2010). Propiyonik asit, propiyonil koenzim A'ya bağlanarak ve karnitini inhibe ederek mitokondriyal yağ asidi metabolizmasını etkilediği düşünülmektedir. Karnitin, yağ asitlerinin β -oksidasyonu ve enerji üretimi için iç mitokondriyal zar boyunca taşınması için elzemdir (Suzuki ve diğerleri, 2021). Otizm spektrum bozukluğunda açilkarnitin profili ve

mitokondriyal işlev bozukluğunda anormallikler oluşmaktadır. Propiyonik asit uygulaması sonucu toplam açilkarnitin ve serbest karnitin oranında önemli düşüşlere neden olmaktadır (Frye ve diğerleri, 2021).

Hücreler arası bağlantı geçitlerine bağımlı hücreler arası iletişimin inhibisyonu üzerindeki etkileri

Boşluk bağlantısı; dopamin, kalsiyum ve sitokinlerin PA tarafından uyarılan konneksin proteinlerinden oluşan hücreler arası kanallardır (Kowalski ve diğerleri, 2019). Propiyonik asit, boşluk bağlantılarının kapanması yoluyla hücreden-hücreye iletişimi ve davranışı değiştirebilir. Boşluk bağlantısı, ayrı fonksiyonel hücre grupları içindeki nöral elektriksel aktivitenin senkronizasyonu için hayati önem taşımaktadır (Macfabe ve diğerleri, 2007a). Boşluk kavşağı iletişimi, bazal ganglionlar, prefrontal korteks, nükleus akkumbens ve hipokampus gibi nöbet ve hareket bozukluklarında yer alan alanlarda nörotransmisyonu dahil olmaktadır. Boşluk bağlantı blokerlerinin intrastriatal enjeksiyonları, sıçanlarda stereotipik hareket, hiperlokomosyon ve motor bozukluğa neden olmaktadır Boşluk kavşağı bloke edilmiş farelerde, anormal beyin gelişimi, nörotoksik hakaretlere aşırı duyarlılık ve anormal davranış göstermiştir (MacFabe, 2012; Mephram ve diğerleri, 2021; Shultz ve diğerleri, 2009).

Gen ekspresyonu üzerindeki etkileri

Propiyonik asit, histon asetilasyonu modülasyonu yoluyla, MSS gen ekspresyonunda farklılaşmaya neden olabilir (Righetto ve diğerleri, 2023). Propiyonik asit, siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı proteinin fosforilasyonunu uyarabilmektedir. Nöro düzenleyici protein, nöroplastisite, bağımlılık, hareket, ruh hali bozuklukları ve hafıza edinimi ile ilgili genlerin epigenetik oluşumunda anahtar görev yapmaktadır (Kumar ve diğerleri, 2020). Propiyonik asit uygulaması siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı protein ile ilişkili yolların aktivasyonunu arttırmaktadır. Bunun sonucunda OSB'de gözlenen perseveratif ve tekrarlayan davranış, nöbetlere neden olabilmektedir (Ku ve diğerleri, 2020).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM) 27.06.2022-27.07.2022 tarihleri arasında yapılmış deneysel bir çalışmadır. Çalışmada kullanılan hayvanların deney sürecinde tüm uygulamaları, bakımı ve beslenmeleri Gazi Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM) gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çalışma Hipotezleri

H_1 : Apiterapi takviyesi OSB’de bozulmuş inflamasyonu düzeltir.

H_2 : Omega- 3 yağ asidi takviyesi OSB’de bozulmuş inflamasyonu düzeltir.

H_3 : Apiterapi takviyesi OSB’de görülen karaciğer, böbrek ve ince bağırsak dokularında oluşan hasarı azaltır.

H_4 : Omega- 3 yağ asidi takviyesi OSB’de görülen karaciğer, böbrek ve ince bağırsak dokularında oluşan hasarı azaltır.

H_5 : Apiterapi takviyesi OSB’de bozulmuş olan *Clostridium spp.* ve *Laktobasiller* bakteri sayısını olumlu yönde etkiler.

H_6 : Omega- 3 yağ asidi takviyesi OSB’de bozulmuş olan *Clostridium spp.* ve *Laktobasiller* bakteri sayısını olumlu yönde etkiler.

H_7 : Apiterapi takviyesi OSB’de bozulmuş olan biyokimyasal bulgular üzerine olumlu etkisi bulunmaktadır.

H_8 : Omega- 3 yağ asidi takviyesi OSB’de bozulmuş olan biyokimyasal bulgular üzerine olumlu etkisi bulunmaktadır.

3.2. Çalışmanın Sınırlılıkları

Sıçan sayılarının az olması çalışmanın birçok verisinin normal dağılıma sahip olmamasını ve dolayısıyla yapılacak istatistiksel yöntemleri etkilemiştir.

Sıçanlarda gavaj uygulaması sonrasında istenmeyen ölümlerin yaşanması gruplardan alınan toplam serum miktarını etkilemiştir.

3.3. Çalışmanın Güçlü Yönleri

Sıçanların vücut ağırlıkları günlük olarak takip edilmiştir.

Bu sayede grupların apiterapi ve w-3 yağ asidi dozaj ayarlaması düzenli olarak takibi yapılmıştır.

3.4. Etik Kurul

Çalışma etik kurul izni, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (22.06.2021 tarih ve E-66332047-604.01.02-109700 nolu karar) ile alınmıştır (EK-1).

3.5. Hayvanların Temini ve Bakımı

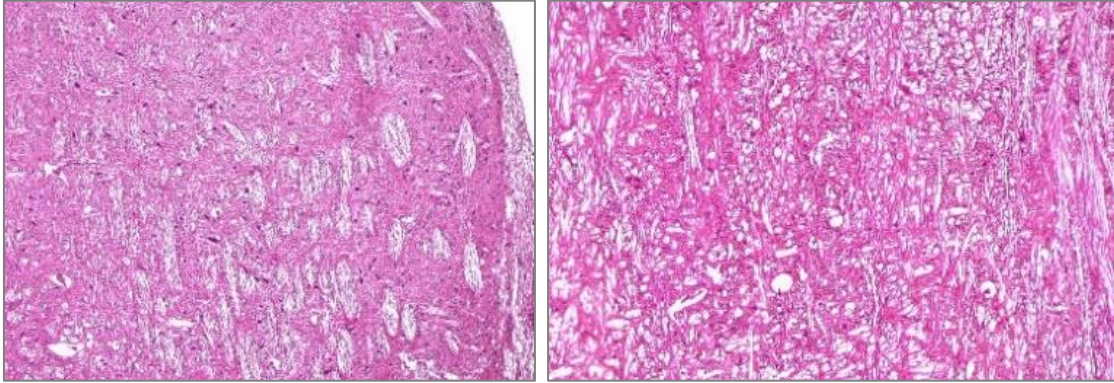
Çalışmada Gazi Üniversitesi bünyesinde bulunan GÜDAM'dan temin edilen 38 adet genç (25-30 günlük, 100-120g) Wistar türü erkek sıçanlar kullanılmıştır. Kontrol grubu 6 adet olarak planlanmıştır. Yapılan literatür taramalarında çalışmalardaki sonuçlara istinaden gruptaki hayvan sayısının 6 olarak belirlenmiştir (Al-Owain ve diğerleri, 2012; Bukhari ve diğerleri, 2020; El-Ansary ve diğerleri, 2017; Shultz ve MacFabe, 2014a). Tüm hayvanlar standart kafeslerde tutulacak ve çalışma boyunca pelet yem ve suya sınırsız erişimle standart laboratuvar koşullarında (sıcaklık 22 ± 2 ° C ve 12 saat ışık / 12 saat karanlık döngü ile nem) tutulmuştur. Araştırmaya başlamadan 7 gün önce gözlem altına alınan sıçanların, deney ortamına adaptasyonu sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan hayvanların daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış olmasına dikkat edilmiştir. Bunlara ek olarak araştırmanın tamamı Helsinki Hayvan Hakları deklarasyonuna uygun olarak ve 3R (Replacement, Reduction and Refinement) kuralı takip edilerek yürütülmüştür (Resim 3.1).



Resim 3.1. Sıçanların barınma koşulları

3.6. Otizm Hayvan Modeli Ön Çalışması

Propiyonik asit (PA) grubu 8 adet olarak planlanmıştır. 2 adet sıçan otizm hayvan modelinin oluşturulması ön çalışma olarak kullanılmıştır. Derin anestezi altında 2 adet sıçan PA uygulaması sonrası otizm modeline uygunluk açısından beyin (glial hücre sayısı) ve diğer dokular değerlendirilerek ve otizm modelinin oluştuğu gösterilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. 3 günlük PA uygulaması ön çalışma doku örneği

Tüm hayvanlar standart kafeslerde ve çalışma boyunca pelet yem ve suya sınırsız erişimle standart laboratuvar koşullarında (sıcaklık 22 ± 2 °C ve 12 saat ışık / 12 saat karanlık döngü ile nem) tutulmuştur.

3.7. Yem İçeriği

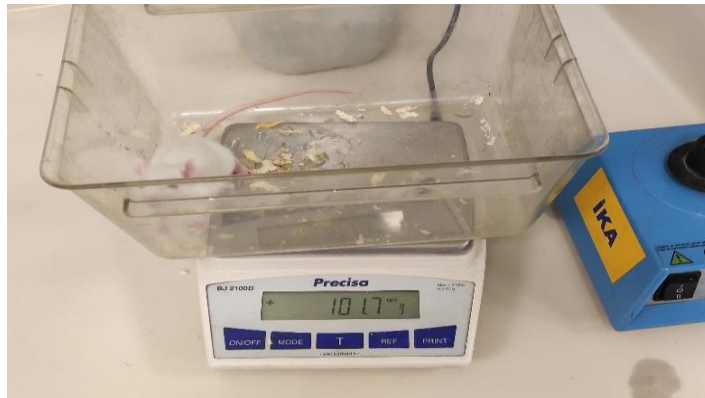
Çalışmada standart hayvan yemi kullanılmıştır. Yem %62,89 karbonhidrat (yemin %3,64'ü ham posa yani selülozdur ve sıçanlarda sindirilememektedir), %22,0 protein, %8,07 yağ, 79 %6,04 ham kül (mineral) ve %1 vitaminden oluşmaktadır. Pelet yemin diyet örüntüsü izelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Standart yem diyet örüntüsü

Besin Maddesi	Miktar	Besin Maddesi	Miktar
Ham Protein (%)	22	Nişasta (%)	29,09
Metabolik Enerji (gerçek) (kkal/kg)	2.700,00	A vitamini (IU)	12.000,00
Sodyum (%)	0,17	D3 vitamini (IU)	2.400,00
Kalsiyum (%)	1,12	E vitamini	20
Toplam Fosfor (%)	0,5	K3 vitamini	3
Ham yağ (%)	8,07	B1 vitamini	1
Ham posa (%)	3,64	B2 vitamini	6
Ham kül (%)	6,04	B6 vitamini	3
Lisin (%)	1,42	B12 vitamini	0,02
Metionin (%)	0,47	Niasin	30
Metionin+Sistein (%)	0,82	Pantotenik asit	8
Linoleik asit (%)	3,41	Folik asit	1
Toplam fosfor (%)	0,59	D-biotin	0,05
Potasyum (%)	0,96	Kolin	300
Klor (%)	0,16	Manganez (Mn)	100,25
Arjinin (%)	1,51	Demir (Fe)	25,25
Treonin (%)	0,84	inko (Zn)	59,5
Lösin (%)	1,62	Bakır (Cu)	5
Valin (%)	1,04	İyot (I)	0,62
şeker (%)	4,47	Selenyum (Se)	0,2

3.8. Hayvanların Ağırlık Ölçümleri

Wistar türü sıçanların ağırlık ölçümü düzenli olarak her gün bir defa alınmıştır.



Resim 3.2. Hayvan ağırlık ölçümü

3.9. Propiyonik Asit Uygulaması

Wistar türü erkek sıçanlardan 6 farklı grup oluşturulmuştur. Her grupta 6 adet sıçan olması planmıştır. Kontrol grubu haricindeki diğer gruplara 3 gün boyunca oral yolla PA uygulaması yapılmıştır (250mg/kg/gün). Kontrol grubuna aynı oranda (0,3 ml, %90 etanol) uygulanmıştır (El-Ansary ve ark, 2012).

3.10. Omega-3 Yağ Asidi Uygulaması

Omega-3 yağ asidi takviyesi olarak içeriğinde 1480 mg w-3 yağ asidi olan (EPA:740 mg, DHA: 470 mg, 3/2) ürün kullanılmıştır.

3.11. Apiterapi Numuneleri

Apiterapi numuneleri propolis, arı sütü ve arı ekmeği olarak belirlenmiştir. Numuneler 2022 yılı içerisinde toplanmıştır. Ürünler Bolu İli Arı Yetiştiricileri Birliği (propolis, arı ekmeği), Bursa Arı Yetiştiricileri Birliği (arı sütü, propolis, arı ekmeği), Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü (arı sütü, propolis, arı ekmeği), Zonguldak Arı Yetiştiricileri Birliği (propolis), Yozgat ili Yerköy ilçesi (propolis), Aydın ili Kuşadası ilçesi (propolis) ve Ağrı ili Yığnıtepe köyü yerel üretici (propolis, arı ekmeği) olmak üzere 7 farklı bölgeden temin edilmiştir. Propolis, arı ekmeği ve arısütü -18°C’de buzlukta muhafaza edilmiştir. Radikal süpürme etkinliği en iyi olan apiterapi ürünleri uygulama için tercih edilmiştir (Çizelge 3.2).

3.12. Numunelerin Toz Haline Getirilmesi ve Tartılması

Apiterapi numuneleri donuk haldeyken rendelenerek ince toz haline getirilmiştir. Toz haline gelen numuneler hassas terazi ile tartılmıştır (Resim 3.2).



Resim 3.3. Numunelerin toz haline getirilmesi ve tartılması

3.13. Apiterapi Ekstraksiyonlarının Hazırlanışı

Düzenli tartım alınarak haftalara göre dozajlanan deney hayvanları için propolis ve arı ekmeği tozu, 20ml %90 etanol/su çözücüsü içerisine eklenmiştir. Karışımlar, 30dk x 3 sefer (100W, 20°C) için ultrasonik banyo işleme tabi tutulmuştur (Resim 3.3). Sonrasında 1500rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Benzer şekilde haftalara göre dozajlanan arı sütü 20ml %90 etanol/su çözücüsü içerisine eklenmiştir. Karışımlar, 30dk x 3 sefer (100W, 20°C) için ultrasonik banyo işleme tabi tutulmuştur. Sonrasında 1500rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.



Resim 3.4. Ultrasonik banyo ve santrifüj cihazında ürünlerin hazırlanması

3.14. DPPH Radikal Temizleme Etkinliği

DPPH radikal yakalama aktivitesi, hafif modifikasyonlarla yönteme göre ölçülmüştür (Hatano ve diğerleri, 1989). 200 μ L çeşitli konsantrasyonlarda propolis, arı ekmeği, arı sütü ekstraktı ve w-3 (0,1–1,0 mg/mL) ve 1,8 mL karşılık gelen ekstraksiyon çözücüler, 2 mL

0,2 mM etanol DPPH çözeltisine eklendi. Sonrasında çözelti iyice karıştırıldı ve karanlık bir ortamda 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Solüsyonun absorbansı, UV-2500/Ultraviyole görünür spektrofotometre kullanılarak 517 nm'de ölçüldü. Kör numune, yalnızca aynı hacimde karşılık gelen ekstraksiyon solventlerini içerdi. Antioksidan standardı olarak Trolox kullanıldı. DPPH radikal yakalama aktivitesi, IC_{50} (DPPH serbest radikalının %50'sini yakalayabilen toplam fenoliklerin konsantrasyonu) olarak belirtildi.



Resim 3.5. UV-2500/Ultraviyole görünür spektrofotometresi

Çizelge 3.2. Apiterapi ürünlerinin serbest radikal süpürme yüzdeleri

Kontrol	Konsantre	Absorbans (AU)			Ortalama	%RSA
		1,32	1,326	1,31		
					1,318667	
Bursa arı ekmeği	0,5	0,204	0,199	0,206	0,203	84,61
	0,25	0,247	0,272	0,336	0,285	78,39
	0,125	0,593	0,71	0,637	0,646667	50,96
Zonguldak arı ekmeği	0,5	0,23	0,218	0,218	0,222	83,16
	0,25	0,345	0,236	0,248	0,276333	79,04
	0,125	0,584	0,567	0,599	0,583333	55,76
Ordu arı ekmeği	0,5	0,474	0,489	0,506	0,489667	62,87
	0,25	0,838	0,748	0,734	0,773333	41,35
	0,125	1,096	1,009	1,047	1,050667	20,32
Bolu arı ekmeği	0,5	0,806	0,708	0,748	0,754	42,82
	0,25	1,033	0,95	0,927	0,97	26,44
	0,125	1,161	1,085	1,101	1,115667	15,39
Bursa propolis	0,5	0,163	0,15	0,159	0,157333	88,07
	0,25	0,147	0,167	0,156	0,156667	88,12
	0,125	0,173	0,171	0,158	0,167333	87,31
Yozgat/Yerköy propolis	0,5	0,338	0,338	0,346	0,340667	74,17
	0,25	0,345	0,318	0,338	0,333667	74,70
	0,125	0,358	0,344	0,34	0,347333	73,66
Ordu propolis	0,5	0,164	0,16	0,16	0,161333	87,77
	0,25	0,153	0,16	0,15	0,154333	88,30
	0,125	0,16	0,156	0,162	0,159333	87,92
Zonguldak propolis	0,5	0,159	0,161	0,157	0,159	87,94
	0,25	0,159	0,168	0,159	0,162	87,71
	0,125	0,16	0,158	0,157	0,158333	87,99
Ağrı propolis	0,5	0,167	0,162	0,165	0,164667	87,51
	0,25	0,173	0,153	0,153	0,159667	87,89
	0,125	0,183	0,163	0,178	0,174667	86,75
Aydın/Kuşadası propolis	0,5	0,1615	0,1605	0,1585	0,160167	87,8539
	0,25	0,156	0,164	0,1545	0,158167	88,00556
	0,125	0,16	0,157	0,1595	0,158833	87,95501

Çizelge 3.2’de farklı bölgelerden temin edilen apiterapi ürünlerinin farklı konsantrasyonlardaki serbest radikal süpürme yüzdeleri gösterilmiştir.

3.15. Tedavi Yöntemi

Sıçanlara tedavi amaçlı olarak, propolis, arı ekmeği, arı sütü ve w-3 yağ asidi ürünleri gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Çalışma gruplarına uygulanması planlanan takviyelerin miktarları literatür ile uyumlu olarak, 4 hafta boyunca propolis ve arı ekmeği için 250mg/kg;

w-3 yağ asidi ve arı sütü için ise 200mg/kg olarak belirlenmiştir (El-Ansary ve ark, 2017; Teixeira ve ark, 2017; Alfawaz ve ark, 2018). Kontrol grubundaki hayvanlara ise aynı miktarda 0,3 ml çözücü madde olan %90 etanol uygulaması yapılmıştır (El-Ansary ve ark, 2017).



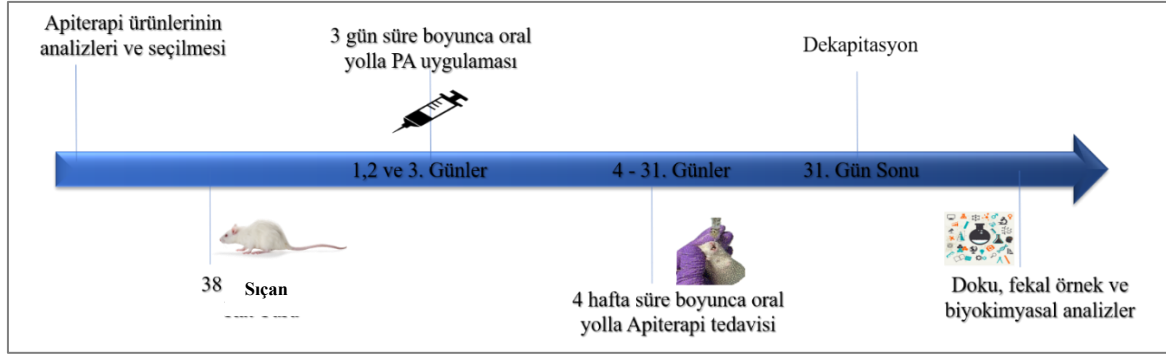
Resim 3.6. Oral apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması

3.16. Propiyonik Asit Uygulaması:

Wistar türü erkek sıçanlardan 6 farklı grup oluşturulmuştur. Her grupta 6 adet sıçan bulunmaktadır. Kontrol grubu haricindeki diğer gruplara 3 gün süre boyunca PA uygulaması yapılmıştır (250 mg/kg/gün) (El-Ansary ve diğerleri, 2012).

Çizelge 3.3. Grupların sınıflandırılması

Deney Grupları					
Grup 1 (n=6)	Grup 2 (n=6)	Grup 3 (n=6)	Grup 4 (n=6)	Grup 5 (n=6)	Grup 6 (n=6)
Kontrol grubu	3gün x 250mg/kg PA uygulaması	3gün x 250mg/kg PA uygulaması, 28 gün x 250mg/kg propolis uygulaması	3gün x 250mg/kg PA uygulaması, 28 gün x 200mg/kg arı sütü uygulaması	3gün x 250mg/kg PA uygulaması, 28 gün x 250mg/kg arı ekmeği uygulaması	3gün x 250mg/kg PA uygulaması, 28 gün x 200mg/kg omega- 3 yağ asidi uygulaması



Şekil 3.2. Propiyonik asit modeli deney akış şeması

3.17. Dekapitasyon ve Numunelerin Alınması

4 haftalık çalışmanın sonunda, 12 saat aç bırakıldıktan sonra sıçanlar dekapitasyon işlemi yapılmıştır. Sıçanların kan alımı intrakardiyak olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7). Sıçanlardan alınan kan örneği sarı kapaklı jelli biyokimya tüpüne alınarak 4 °C'de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Böylelikle eritrosit ve plazma hemolizati elde edilmiştir. Üstte kalan serum kısmı pipet ile eppendorf türlere alınmıştır. Tüplerin üzeri numaralandırılmıştır. Alınan kan örnekleri biyokimya testi için -80 °C'de muhafaza edilmiştir.



Resim 3.7. Sıçanların dekapitasyon işlemi sonrası organ ve kan numunelerinin alınması

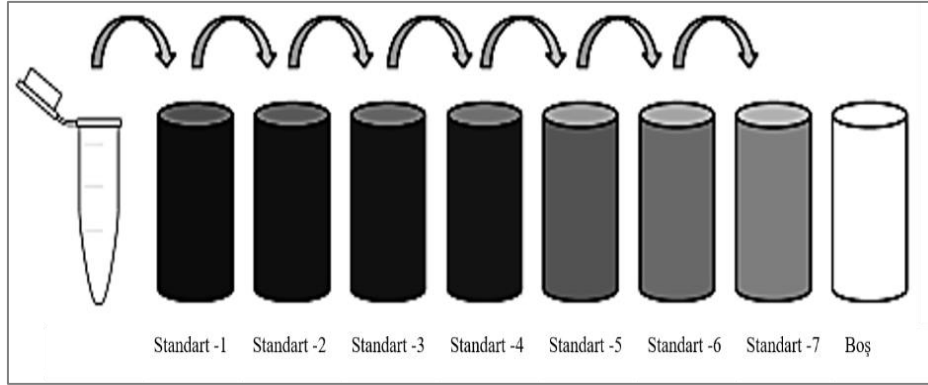
3.18. Doku Analizleri

Deney gruplarındaki sıçanlar, çalışma sonunda dissekte edildiklerinde doku örnekleri alınmadan önce makroskobik olarak incelenmiş ve karaciğer, böbrek, beyin ve ince bağırsak dokuları histopatolojik incelemeye alınmıştır. Bu amaçla karaciğer, böbrek ve beyin dokuları tartıldıktan sonra, ince bağırsak ise içeriği temizlendikten sonra %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 24 saat boyunca tespit yapılmıştır. Tespitin ardından, alınan dokular 24 saat süreyle akan suda yıkandıktan sonra manuel doku takibine alınarak rutin histopatolojik işlemler yapılmıştır. Daha sonra parafinlenen dokuların mikrotomla 5µ kalınlığında kesilerek 37°C'lik etüvde 24 saat bekletilmiştir. Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyanan kesitler, ışık mikroskobunda (Olympus CX43) incelenmiş, histopatolojik bulgular ayrı ayrı kaydedilerek bulgular dijital kameralı mikroskopta (Olympus L30) fotoğraflandırılmıştır.

3.19. Biyokimyasal Analizler

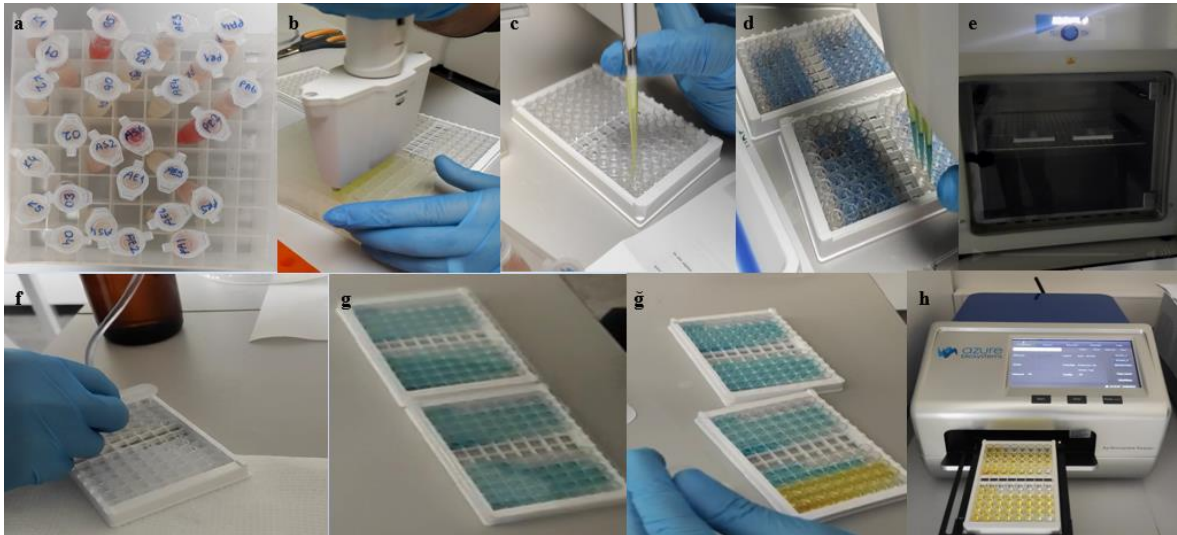
Oksitosin, Lökotrien B4, Prostaglandin E2, Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS), Katalaz (CAT), Malondialdehyde (MDA), Glutasyon Peroxidaz (GPx), C vitamini, Glutasyon, Glutasyon S-Transferaz, Süperoksit dismutaz (SOD), 8-Hidroksi Deoksiguanozin (8-OHdG), interlökin-1 beta (IL-1b), interlökin-10 (IL-10), interlökin 6 (IL-6) tümör nekrozis faktörü- α (TNF- α), demir (Fe), değerleri NEPENTHE ELISA Kitleri ile ölçülmüştür. Örnekler -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Serumlar ilk olarak oda sıcaklığına getirildi. Kit içerisindeki tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler talimatlara göre hazırlanmıştır.

- a) Standart: Kit içerisindeki stok standart solüsyonundan 120 µl alınarak 2:1 standart dilüenti ile seri dilüsyon oluşturulmuştur.



Şekil 3.3. Dilüsyon işlemi

- b) Yıkama Solüsyonu (25X): 20 mL konsantre yıkama solüsyonu 480 mL distile su ile 1X'e dönüştürülmüştür.



Resim 3.8. Biyokimyasal analiz uygulaması

Standart kuyucuklarına 50 μ l seri dilüsyonu oluşturulmuş standart eklenmiştir. (Örnek kuyucuklarına 40 μ l numune eklemiştir (Resim 3.8c). Üzerine 10 μ l biyotinlenmiş antikor/antijen eklenmiştir). Hem standart hem de örnek kuyucuklarına 50 μ l streptavidin-HRP solüsyonu eklenmiştir (Resim 3.8d). (Böylelikle hem standart hem de örnek kuyucuklarındaki toplam volüm 100 μ l olmuş oldu) Plaka iyice karıştırılmış ve sealer ile kapatılmıştır. 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir (Resim 3.8e). İnkübasyon sonrası sealer çıkarılmış, plaka 300 μ l yıkama tamponu ile beş kez yıkanmıştır (Resim 3.8f). Plaka her seferinde ters çevrildi ve yıkama tamponu dökülmüştür. Kuyucuklarda yıkama tamponu kalmaması için emici malzemeye 4-5 kez vurulmuştur. Her kuyucuğa 50 μ l substrat A

solüsyonu eklenmiş ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat B solüsyonu eklenmiştir (Resim 3.8g). Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca yeni bir sealer ile kapatılarak inkübe edilmiştir. Her kuyucuğa 50 µl Durdurma Solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönmesi gözlemlenmiştir (Resim 3.8ğ). Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucuda okutulmuş ve her kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) belirlenmiştir (Resim 3.8h).

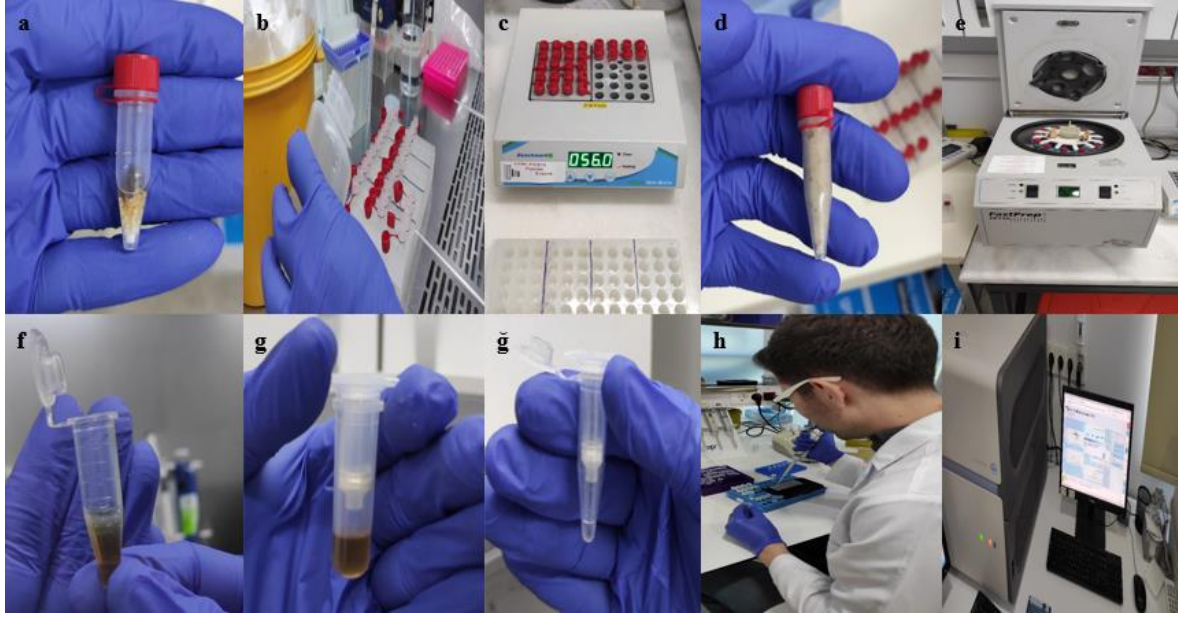
3.20. Dışkı Toplama ve DNA Analizleri

3.20.1. DNA ekstraksiyon

Dışkı numuneleri DiaRex® Gaita Genomic DNA Extraction Kit (Kat No: SD-0323, Ankara) kullanılarak yapılmıştır. Kısaca 25-50 mg dışkı numunesi üzerine 250µl Gaita Lysis (SLD) solüsyonu eklenmiştir. Ardından üzerine 15mg cam ve 10 adet zirkon boncuk eklenerek homojenizatör cihazında 4000 rpm 2 x 20 saniye uygulama yapılmıştır (Resim 3.9a). Homojenizasyondan sonra üzerine 25µl Proteinaz K (PKD) solüsyonu eklenmiş ve 56°C' de 60 dakika inkübasyon yapılmıştır (Resim 3.9b). İnkübasyon sonunda tüm içerik 5000 g' de 5 dakika santrifüj yapılarak süpernatant yeni tüpe aktarılmıştır (Resim 3.9c,d,e). Süpernatant üzerine 200µl Lysis (LBD) solüsyonu eklendi ve 70°C' de 10 dakika inkübasyon yapılmıştır. İnkübasyonun ardından lizata 250 µl mutlak etanol eklenmiş ve tüm içerik kolona aktarılmıştır. Kolon 8000 g x 1 dakika santrifüj yapıldıktan sonra yeni tüpe aktarılmıştır. Ardından kit protokolüne göre yıkamalar yapıldıktan sonra 100µl Elüsyon (EBD) solüsyonu eklenmiş ve 2 dakika İnkübasyondan sonra 8000 g x 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edilmiştir (Resim 3.9f,g).

Döngü eşiği (CT), gerçek zamanlı PCR deneylerinde floresan sinyal miktarının gözlemlenebilmesi için gereken minimum değeri (eşik değerini) geçtiği döngü sayısına (eşik döngüsü) verilen addır.

Negatif kontrol, içinde test edilen madde hariç bütün reaksiyon içeriğini barındıran kontrole verilen addır. Her Real-Time PCR çalışmasına bir adet negatif kontrol; yani içinde her malzemeyi barındırıp sadece test edilen genetik materyal bulunmayan bir reaksiyon tüpü, dahil edilmelidir. Bu, olası bir kontaminasyonun varlığının kontrol edilmesini sağlar, pozitif sonuçlarının anlamlı olduğunu kanıtlar.



Resim 3.9. Fekal analiz uygulaması

Pozitif kontrol pozitif test sonucu vereceği bilinen ve pozitif sonuç vermesi beklenen reaksiyon kontrolüdür. Pozitif kontrol, uygulamadaki veya kullanılan malzemelerdeki olası aksaklıkların ortaya çıkarılmasını sağlar. Pozitif kontrol pozitif sonuç vermezse, o deneyin sağlıklı olmadığı anlaşılır. Doğru sonuçların verildiğinden emin olmak için deney tekrarlanır.

Standart numune kantitatif analizlerde kullanılmak amacıyla miktarı ölçülmüş (konsantrasyonu bilinen) nükleik asit örneğidir. Standartlar, sadece kantitasyonu yapılmak istenen hedef gen/patojenin DNA/RNA miktarını yansıtır. Standart eğri oluşturmak için en az 3 standartla çalışmak gereklidir.

CFU (Coloni-Forming Units) Koloni Oluşturan Birimler (kob) anlamını ifade etmektedir. Toplam bakteri sayımının birimi CFU/mL'dir.

3.20.2. PCR (polimeraz zincir reaksiyonu)

Laktobasiller reuteri Diagen Biyoteknoloji tarafından geliştirilen Realtime PCR kit ile mikroorganizmaya ait 16S gen bölgesi kullanılarak tespit edilmiştir. Kitin kurulumu total hacim 20 μ L olacak şekilde 10 μ L mastermiks 5 μ L oligomix ve 5 μ L Genomik DNA olacak şekilde tüplere eklenmiştir (Resim 3.9h). Ardından kitin PCR protokolü Roche 480 (Amerika) cihazında kuruldu (Resim 3.9i). Cihaz protokolü 1 döngü 95°C'de 5 dakika

uygulandıktan sonra 40 döngü 95°C’de 10 saniye 60°C’de 30 saniye (okuma: FAM kanalı) olacak şekilde yapılmıştır.

Çizelge 3.4. *Laktobasiller reuteri* Realtime PCR Kit

Kit İçeriği	Tüp Sayısı	Tüp Rengi
<i>Lactobacillus reuteri</i> spesifik oligonükleotit miks	1	Kahverengi
qPCR mastermiks(2X)	1	Mavi
Pozitif Kontrol-Standart Eğri için	1	Sarı
Negatif Kontrol	1	Beyaz

Kit İçeriği	Kullanılacak Hacim
<i>Lactobacillus reuteri</i> spesifik oligonükleotit miks	5 µL
qPCR mastermiks(2X)	10 µL
Numune/Pozitif Kontrol/Negatif Kontrol	5 µL
Final Hacim	20 µL

PCR Döngüsü	Sıcaklık	Süre	Notlar
1	95°C	5 dakika	Polimeraz Aktivasyonu
40	95°C	10 saniye	Denatürasyon
	60°C	30 saniye	Bağlanma/Uzama*

Çalışmaya kit içerisinde çıkan pozitif standart numuneler (*Laktobasiller reuteri* DSM 20016) ve negatif kontroller de dahil edilmiştir. Cihaz çalışması tamamlandıktan sonra standart numune (1.0×10^2 , 1.0×10^4 ve 1.0×10^6) değerleri cihazın ilgili bölümüne girildikten sonra cihaz programı içerisinde otomatik olarak regresyon eğrisi çizilmiştir. Bu çizim ile oluşturulan eğri sonucunda R^2 değeri 0,99 elde edilmiş ve çalışma kabul (uygun aralık 0,89-1,0) edildikten sonra numunelere verilen otomatik değerler kontrol edilmiştir.

Clostridium spp. Diagen Biyoteknoloji tarafından geliştirilen Realtime PCR kit ile mikroorganizmaya ait 16S gen bölgesi kullanılarak tespit edilmiştir. Kitin kurulumu kısaca total hacim 20 µL olacak şekilde 10 µL mastermiks 5 µL oligomix ve 5 µL Genomik DNA olacak şekilde tüplere eklenmiştir (Resim 3.9h). Ardından kitin PCR protokolü Roche 480 (Amerika) cihazında kuruldu (Resim 3.9i). Cihaz protokolü 1 döngü 95°C’de 5 dakika uygulandıktan sonra 40 döngü 95°C’de 10 saniye 60°C’de 30 saniye (okuma: FAM kanalı) olacak şekilde yapılmıştır. Çalışmaya kit içerisinde çıkan pozitif standart numuneler (*Clostridium spp.*) ve negatif kontroller de dahil edilmiştir.

Çizelge 3.5. *Clostridium spp.* Realtime PCR Kit

Kit İçeriği	Tüp Sayısı	Tüp Rengi
<i>Clostridium spp</i> spesifik oligonükleotit miks	1	Kahverengi
qPCR mastermiks(2X)	1	Mavi
Pozitif Kontrol-Standart Eğri için	1	Sarı
Negatif Kontrol	1	Beyaz

Kit İçeriği	Kullanılacak Hacim
<i>Clostridium spp</i> spesifik oligonükleotit miks	5 µL
qPCR mastermiks(2X)	10 µL
Numune/Pozitif Kontrol/Negatif Kontrol	5 µL
Final Hacim	20 µL

PCR Döngüsü	Sıcaklık	Süre	Notlar
1	95°C	5 dakika	Polimeraz Aktivasyonu
40	95°C	10 saniye	Denatürasyon
	60°C	30 saniye	Bağlanma/Uzama*

Cihaz çalışması tamamlandıktan sonra standart numune (1.0×10^2 , 1.0×10^4 ve 1.0×10^6) değerleri cihazın ilgili bölümüne girildikten sonra cihaz programı içerisinde otomatik olarak regresyon eğrisi çizilmiştir. Bu çizim ile oluşturulan eğri sonucunda R^2 değeri 0,98 elde edildi ve çalışma kabul (0,89-1,0) edildikten sonra numunelere verilen otomatik değerler kontrol edilmiştir.

Realtime PCR işlemi sonucunda cihaz, elde edilen ct değerlerine göre standart olarak kullanılan numuneler arasında korelasyon yapılarak numunelerin içerisinde kaç kopya olduğu belirlemiştir.

3.21. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (IBM SPSS Statistics 27) adlı paket program kullanılarak yapılmıştır. Bulguların yorumlanmasında frekans tabloları ve tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır.

Normal dağılıma uygun olan ölçüm değerleri için parametrik yöntemler kullanılmıştır. Parametrik yöntemlere uygun şekilde, üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm

değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri) yöntemi kullanılmıştır. Anlamlı fark çıkan değişkenlerin ikili karşılaştırmaları için varyansların homojenliği dikkate alınarak Tukey testi uygulanmıştır.

Normal dağılıma uygun olmayan ölçüm değerleri için parametrik olmayan yöntemler kullanılmıştır. Parametrik olmayan yöntemlere uygun şekilde, üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) yöntemi kullanılmıştır. Anlamlı fark ($p < 0,05$) çıkan değişkenlerin ikili karşılaştırmaları için Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.

3.22. Araştırma Desteği

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje Kodu: TDK-2022-7871).

4. BULGULAR

Bu çalışmada deney protokolüne göre 3 gün propiyonik asit uygulaması sonrası 4 hafta süreyle uygulanan tedavi sürecine ait bulgular gösterilmiştir.

4.1. Gruplara Göre Vücut Ağırlıklarının Değişim Bulguları

Çizelge 4.1’da grupların 3 gün PA ve 4 hafta beslenme tedavisi sonrası ağırlık değişimleri gösterilmektedir. Gruplara göre ağırlık değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan Bonferroni düzeltmeli ikili karşılaştırmalar sonucunda; arı sütü grubunda olanlar ile arı ekmeği, propiyonik asit, propolis ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Arı sütü grubundakilerin ağırlık değişimi, arı ekmeği, propiyonik asit, propolis ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksektir. Propiyonik asit grubu kontrol grubuna göre daha düşük ağırlıktadır. Ağırlık değişimi en fazla olan grup sırasıyla arı sütü ($150,09\pm34,39$), w-3 yağ asidi ($139,22\pm57,82$), arı ekmeği ($130,56\pm32,12$), kontrol ($122,13\pm114,15$), PA ($104,07\pm76,22$) ve en az ağırlık değişimi olan grup propolis ($96,44\pm78,00$) olmuştur.

Çizelge 4.1. Gruplara göre ağırlık değişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Grup Değişken	Ağırlık değişimi (g)		İstatistiksel analiz* Olasılık
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	
Kontrol grubu ⁽¹⁾	122,13 $\pm$ 114,15	124,5 [0,0-1155,0]	$\chi^2=37,000$ p<0,001 [3-1,2,4,5]
Propiyonik asit grubu ⁽²⁾	104,07 $\pm$ 76,22	122,5 [0,0-220,2]	
Arı sütü grubu ⁽³⁾	150,09 $\pm$ 34,39	144,7 [93,2-229,9]	
Arı ekmeği grubu ⁽⁴⁾	130,56 $\pm$ 32,12	132,0 [91,3-212,5]	
Propolis grubu ⁽⁵⁾	96,44 $\pm$ 78,00	123,8 [0,0-219,0]	
Omega-3 grubu ⁽⁶⁾	139,22 $\pm$ 57,82	134,4 [0,0-236,1]	

*Normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

4.2. Gruplara Göre Kan Değer Bulguları

Çizelge 4.2’de gruplara göre bazı biyokimyasal değerlerin sonuçları gösterilmektedir. Gruplara göre serum AST, GGT, kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, albumin, kalsiyum ve oksitosin değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). Çizelge 7’ye göre en düşük serum AST değeri, kontrol grubunda ($181,78\pm15,10$) olduğu, ikinci sırada arı ekmeği ($184,40\pm24,99$) grubunda ve en yüksek değer w-3 yağ asidi ($260,31\pm80,66$) grubunda olduğu görülmüştür. GGT değerine göre en yüksek serum değeri, arı sütü grubunda ($3,43\pm1,27$) olduğu, kontrol ($3,17\pm0,75$) ve arı ekmeği ($3,17\pm0,98$) gruplarında aynı sonuç çıktığı görülmüştür. En yüksek serum kolesterol değeri, arı sütü grubu ($55,14\pm6,34$) olduğu; en düşük değer propolis grubu ($42,67\pm6,43$) olarak tespit edilmiştir. HDL kolesterol değerine göre en yüksek serum değeri, arı sütü ($34,54\pm5,17$), ikincil olarak arı ekmeği ($33,08\pm9,12$) grubunda olduğu, en düşük değer PA ($22,13\pm0,95$) grubunda görülmüştür. Çizelge 7’ye göre en düşük serum LDL kolesterol değeri, propolis ($9,33\pm1,53$) grubunda olduğu, ikinci sırada kontrol ($10,00\pm3,89$) grubu ve en fazla değer arı sütü ($13,00\pm3,06$) grubunda olduğu tespit edilmiştir. Albumin değerine göre en düşük serum değeri, propolis ($3,45\pm0,09$) grubunda olduğu, ikinci sırada kontrol ($3,55\pm0,57$) grubu ve en fazla değer arı sütü ($3,89\pm0,56$) grubunda olduğu görülmüştür. Ca değerine göre en yüksek değer, w-3 yağ asidi ($11,13\pm1,50$) grubunda olduğu, en düşük değer arı ekmeği ($10,30\pm1,06$) grubunda olduğu görülmüştür. Oksitosin değerine göre en yüksek serum değeri, PA grubunda ($67,49\pm7,94$) olduğu ve en düşük değer w-3 yağ asidi grubu ($56,33\pm6,01$) olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2. Gruplara göre serum biyokimyasal bulguların karşılaştırılması

Grup	Kontrol grubu ⁽¹⁾		Propiyonik asit grubu ⁽²⁾		Arı sütü grubu ⁽³⁾		Arı ekmeği grubu ⁽⁴⁾		Propolis grubu ⁽⁵⁾		Omega-3 grubu ⁽⁶⁾		İstatistiksel analiz* Olasılık
Değişken	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	
AST (ng/mL)	181,78±15,10	180,4 [165,8-203,5]	229,77±43,16	221,7 [191,2-276,4]	234,70±77,23	240,9 [145,3-348,8]	184,40±24,99	195,1 [144,0-209,0]	231,77±24,42	241,4 [204,0-249,9]	260,31±80,66	240,4 [171,3-390,8]	F=1,826 p=0,144
ALT (ng/mL)	71,55±10,59	69,0 [60,1-91,2]	117,17±49,87	95,5 [81,8-174,2]	88,37±21,52	87,3 [63,8-114,2]	94,00±34,00	84,5 [61,2-160,2]	82,40±9,00	82,6 [73,3-91,3]	143,00±44,82	148,8 [76,4-208,3]	$\chi^2=11,526$ p=0,042 [1-6]
GGT (U/L)	3,17±0,75	3,0 [2,0-4,0]	2,00±0,00	2,0 [2,0-2,0]	3,43±1,27	3,0 [2,0-5,0]	3,17±0,98	3,5 [2,0-4,0]	2,00±1,00	2,0 [1,0-3,0]	2,67±1,21	2,5 [1,0-4,0]	$\chi^2=6,844$ p=0,233
Kolesterol (mg/L)	46,67±6,47	45,5 [41,0-59,0]	50,67±0,58	51,0 [50,0-51,0]	55,14±6,34	52,0 [48,0-64,0]	53,83±11,37	49,0 [43,0-71,0]	42,67±6,43	40,0 [38,0-50,0]	49,00±5,86	49,0 [40,0-57,0]	$\chi^2=9,853$ p=0,080
HDL (mg/L)	24,67±6,75	23,8 [18,6-37,0]	22,13±0,95	22,1 [21,2-23,1]	34,54±5,17	33,7 [26,0-42,0]	33,08±9,12	31,5 [22,6-49,3]	24,40±7,16	21,8 [18,9-32,5]	30,75±4,08	31,5 [22,9-34,7]	F=2,413 p=0,065
LDL (mg/L)	10,00±3,89	9,5 [6,0-17,0]	11,33±2,08	12,0 [9,0-13,0]	13,00±3,06	14,0 [8,0-17,0]	10,83±4,07	10,0 [6,0-18,0]	9,33±1,53	9,0 [8,0-11,0]	12,50±2,43	12,5 [10,0-15,0]	F=1,003 p=0,436
Albumin (ng/mL)	3,55±0,57	3,4 [2,9-4,4]	3,82±0,10	3,9 [3,7-3,9]	3,89±0,56	4,0 [3,2-4,8]	3,62±0,49	3,7 [2,8-4,1]	3,45±0,09	3,5 [3,4-3,5]	3,59±0,42	3,7 [3,1-4,0]	$\chi^2=2,917$ p=0,714
Kalsiyum (mg/L)	10,73±0,99	10,4 [9,9-12,0]	10,90±0,53	10,7 [10,5-11,5]	10,83±1,29	11,4 [8,8-12,3]	10,30±1,06	10,5 [8,5-11,5]	10,80±0,75	10,9 [10,0-11,5]	11,13±1,50	10,9 [9,2-13,4]	F=0,328 p=0,891
Demir (ng/mL)	1,98±0,25	2,1 [1,6-2,2]	2,34±0,11	2,4 [2,2-2,4]	1,97±0,16	2,0 [1,8-2,1]	2,07±0,26	2,0 [1,8-2,5]	1,67±0,10	1,6 [1,6-1,8]	1,87±0,33	1,8 [1,5-2,3]	F=2,787 p=0,047 [2-5]
Oksitosin (mg/L)	60,53±7,95	62,7 [49,7-67,1]	67,49±7,94	65,8 [60,5-76,1]	59,21±5,62	58,9 [54,2-65,0]	56,38±5,85	55,4 [49,9-66,9]	60,69±3,81	62,9 [56,3-62,9]	56,33±6,01	59,6 [47,5-61,4]	$\chi^2=5,849$ p=0,321

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri); normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. ALT: alanin aminotransferaz, AST: aspartat aminotransferaz, GGT: gama glutamil transferaz, HDL: hdl kolesterol, LDL: ldl kolesterol.

Gruplara göre ALT değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($\chi^2=11,526$; $p=0,042$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan Bonferroni düzeltmeli ikili karşılaştırmalar sonucunda; omega-3 yağ asidi grubunda olanlar ile kontrol grubunda olanlar arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. Omega-3 yağ asidi grubunda olanların ALT değerleri, kontrol grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Alanin aminotransferaz değerlerine göre en düşük serum değeri, kontrol grubunda ($71,55\pm10,59$) olduğu, ikinci sırada propolis ($82,40\pm9,00$) grubu ve en fazla değer w-3 yağ asidi grubunda ($143,00\pm44,82$) olduğu görölmüştür.

Gruplara göre Fe değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=2,787$; $p=0,047$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için varyansların homojen olması dikkate alınarak yapılan Tukey ikili karşılaştırmalar sonucunda; propiyonik asit grubunda olanlar ile propolis grubunda olanlar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Propiyonik asit grubunda olanların FE değerleri, propolis grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Demir değerine göre en yüksek değer, PA grubunda ($2,34\pm0,11$) olduğu, en düşük değer propolis ($1,67\pm0,10$) grubunda olduğu görölmüştür (Çizelge 4.2.1).

Çizelge 4.3. Gruplara göre antioksidan ve oksidan değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Kontrol grubu ⁽¹⁾		Propiyonik asit grubu ⁽²⁾		Arı sütü grubu ⁽³⁾		Arı ekmeği grubu ⁽⁴⁾		Propolis grubu ⁽⁵⁾		Omega-3 grubu ⁽⁶⁾		İstatistiksel analiz* Olasılık
Değişken	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	
GSH (ug/mL)	191,12±39,14	183,5 [152,1-245,4]	212,39±34,30	208,1 [180,4-248,6]	183,24±29,69	189,3 [143,5-210,9]	176,62±23,04	173,3 [155,9-217,0]	176,07±44,49	163,4 [139,3-225,5]	188,37±34,81	178,2 [156,8-250,8]	F=0,552 p=0,735
MDA (ng/mL)	0,64±0,13	0,6 [0,5-0,8]	0,73±0,06	0,7 [0,7-0,8]	0,65±0,08	0,6 [0,5-0,7]	0,72±0,07	0,7 [0,6-0,9]	0,75±0,01	0,75 [0,75-0,76]	0,69±0,13	0,7 [0,5-0,9]	F=0,768 p=0,584
TAS (U/mL)	2,08±0,21	2,1 [1,8-2,3]	2,08±0,08	2,0 [2,0-2,2]	2,26±0,45	2,3 [1,8-3,1]	2,29±0,73	2,1 [1,7-3,7]	2,17±0,15	2,2 [2,0-2,3]	2,21±0,53	2,1 [1,8-3,3]	$\chi^2=1,354$ p=0,929
GST (ng/mL)	15,10±1,06	15,1 [14,1-16,1]	15,81±2,47	15,2 [13,7-18,6]	19,05±2,93	18,7 [16,0-22,8]	15,02±3,47	14,6 [11,5-21,4]	19,51±2,54	20,8 [16,6-21,2]	17,08±2,88	16,3 [13,9-21,6]	F=1,950 p=0,133
GPX (ng/mL)	18,73±1,78	18,6 [16,7-21,1]	17,21±1,18	16,8 [15,3-21,5]	15,23±2,71	15,6 [11,7-18,1]	17,11±2,24	17,7 [13,7-19,9]	18,49±3,13	18,4 [15,4-21,7]	15,81±2,37	16,2 [12,5-18,2]	F=2,557 p=0,060
SOD (U/mL)	2,83±0,86	3,1 [1,6-3,5]	2,43±0,49	2,7 [2,5-3,0]	2,16±0,79	2,1 [1,5-2,9]	2,56±0,53	2,5 [1,8-3,4]	3,69±0,16	3,6 [3,6-3,9]	3,45±0,26	3,5 [3,1-3,8]	F=3,667 p=0,017 [3-5]
Katalaz (ng/mL)	21,76±3,56	21,5 [17,7-26,4]	20,68±1,20	21,3 [20,7-23,0]	22,08±5,35	21,6 [16,3-28,7]	20,07±3,24	20,5 [16,1-25,1]	24,86±1,67	25,7 [22,9-25,9]	18,94±1,07	20,2 [18,6-21,2]	F=1,231 p=0,333
GSTs (pg/mL)	20,05±1,93	19,4 [18,5-22,9]	23,77±3,57	25,3 [19,7-26,3]	22,12±2,15	22,6 [19,1-24,3]	19,97±2,80	19,4 [17,0-25,3]	19,83±2,98	18,3 [18,0-23,3]	19,07±2,34	19,7 [15,2-21,2]	F=1,739 p=0,172
C Vitamini (mumol/L)	29,74±4,05	30,9 [24,2-33,0]	21,19±2,19	21,1 [24,8-18,7]	30,17±7,38	33,0 [19,3-35,5]	29,14±6,08	31,1 [18,6-5,0]	23,74±4,57	23,4 [19,3-28,5]	25,24±4,18	24,0 [21,3-33,1]	F=2,447 p=0,069
8-OHdG (ng/mL)	1,43±0,26	1,4 [1,2-1,7]	2,21±0,03	2,2 [2,2-2,3]	1,69±0,12	1,7 [1,5-1,8]	1,89±0,28	1,8 [1,5-2,2]	1,83±0,10	1,9 [1,8-2,0]	1,49±0,38	1,6 [0,8-1,9]	F=4,749 p=0,005 [2-1,6]
GSSG (mg/L)	44,34±9,51	44,0 [35,3-54,0]	50,05±8,58	54,3 [40,2-55,7]	41,1±4,64	42,5 [35,3-46,4]	40,75±7,96	43,8 [26,3-48,2]	46,16±10,16	40,4 [40,2-57,9]	41,81±8,98	44,3 [25,4-51,7]	$\chi^2=0,395$ p=0,995
GSH/GSSG	4,42±0,99	4,7 [3,0-5,3]	4,24±0,74	4,6 [3,6-5,0]	4,38±0,38	4,3 [4,1-4,9]	4,45±0,88	4,2 [3,5-5,9]	3,81±0,30	3,9 [3,5-4,1]	4,65±1,07	4,6 [3,5-6,1]	F=1,122 p=0,381

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri); normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. GSH: glutatyon, MDA: malonildialdehid, TAS: toplam antioksidan kapasitesi, GST: glutatyon-s transferaz , GPX: glutatyon peroksidaz, SOD: süperoksit dismutaz, GSSG: okside glutatyon.

4.3. Gruplara Göre Antioksidan ve Oksidan Değer Bulguları

Çizelge 4.3'te gruplara göre bazı biyokimyasal bulguların sonuçları gösterilmektedir. Gruplara göre GSH, TAS, MDA, GST, GPX, katalaz, GSTs, C vitamini, GSSG ve GSH/GSSG değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). GSH değerine göre en yüksek serum değeri, PA grubunda ($212,39\pm34,30$) olduğu, ikinci sırada kontrol grubu ($191,12\pm39,14$) ve en düşük değer propolis ($176,07\pm44,49$) grubunda olduğu görülmüştür. MDA değerine göre en düşük serum değeri, kontrol ($0,64\pm0,13$) grubunda olduğu; en yüksek değer propolis ($0,75\pm0,01$) grubu olduğu görülmüştür. TAS değerine göre en yüksek serum değeri, arı ekmeği grubunda ($2,29\pm0,73$) olduğu, ikinci sırada arı sütü ($2,26\pm0,45$) grubunda ve en düşük değerlerin PA ($2,08\pm0,08$) ve kontrol ($2,08\pm0,21$) gruplarında olduğu görülmüştür. GST değerine göre en yüksek serum değeri, propolis ($19,51\pm2,54$) grubunda olduğu ikinci sırada arı sütü ($19,05\pm2,93$) grubunda, en düşük değer arı ekmeği ($15,02\pm3,47$) grubudur. GPX değerine göre en yüksek serum değeri, kontrol ($18,73\pm1,78$) grubunda olduğu, ikinci sırada propolis ($18,49\pm3,13$) grubu ve en düşük arı sütü ($15,23\pm2,71$) grubu olduğu görülmüştür. CAT değerine göre en yüksek serum değeri, propolis ($24,86\pm1,67$), ikinci sırada arı sütü ($22,08\pm5,35$) ve en düşük değer w-3 yağ asidi ($18,94\pm1,07$). GSTs değerine göre en yüksek serum değeri, PA ($23,77\pm3,57$), ikinci sırada arı sütü ($22,12\pm2,15$) ve en düşük değeri ($19,07\pm2,34$) grubudur. C vitamin değerine göre en yüksek serum değeri, arı sütü ($30,17\pm7,38$) grubunda olduğu, ikinci sırada kontrol ($29,74\pm4,05$) grubu ve en düşük değer PA ($21,19\pm2,19$) grubunda olduğu görülmüştür. GSSG değerine göre en yüksek serum değer, PA ($50,05\pm8,58$) grubu ve en düşük arı ekmeği ($40,75\pm7,96$) grubu olduğu görülmüştür. GSH/GSSG oranı en yüksek olan grup w-3 yağ asidi ($4,65\pm1,07$) ve en düşük oran propolis ($3,81\pm0,30$) grubudur.

Gruplara göre 8-OHdG değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=4,749$; $p=0,005$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için varyansların homojen olması dikkate alınarak yapılan Tukey ikili karşılaştırmalar sonucunda; Propiyonik asit grubunda olanlar ile w-3 yağ asidi ve kontrol grubunda olanlar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Propiyonik asit grubunda olanların 8-OHdG değerleri, w-3 yağ asidi ve kontrol grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 8-OHdG değerine göre en yüksek serum değeri, PA ($2,21\pm0,03$) grubunda olduğu, ikinci sırada arı ekmeği ($1,89\pm0,28$) grubu ve en düşük değer kontrol ($1,43\pm0,26$) grubunda olduğu belirlenmiştir.

Gruplara göre SOD değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=3,667$; $p=0,017$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için varyansların homojen olması dikkate alınarak yapılan Tukey ikili karşılaştırmalar sonucunda; arı sütü grubunda olanlar ile propolis grubunda olanlar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Propolis grubunda olanların SOD değerleri, arı sütü grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. SOD değerine göre en yüksek serum değeri, propolis ($3,69\pm0,16$) grubunda olduğu, ikinci sırada w-3 yağ asidi ($3,45\pm0,26$) grubu ve en düşük değer arı sütü ($2,16\pm0,79$) grubunda olduğu görülmüştür.

4.4. Gruplara Göre İnflamatuvar Değerleri Bulguları

Çizelge 4.4'te gruplara göre sitokin değerlerinin sonuçları gösterilmektedir. Gruplara göre IL-10, IL-6, IL-1 β ve TNF- α değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). IL-10 değerine göre en yüksek değer, PA grubunda ($74,66\pm6,25$) olduğu, ikinci sırada kontrol grubu ($73,22\pm7,76$) ve en az değer arı ekmeği grubunda ($64,02\pm6,62$) olduğu belirlenmiştir. IL-6 değerine göre en yüksek serum değeri sırasıyla, PA ($3,14\pm0,23$) ve arı sütü ($3,14\pm0,62$), propolis ($3,14\pm0,23$), kontrol ($2,91\pm0,16$), w-3 yağ asidi ($2,57\pm0,47$) grubunda olduğu; en düşük değer arı ekmeği ($2,56\pm0,41$) grubu olduğu tespit edilmiştir. IL-1 β değerine göre en yüksek serum değer, PA grubunda ($8,15\pm1,02$) ve en düşük değer arı ekmeği grubu ($5,84\pm0,87$) olduğu görülmüştür. TNF- α değerine göre en yüksek serum değerleri sırasıyla, PA ($130,78\pm13,43$), arı ekmeği ($114,93\pm14,17$) ve kontrol ($114,44\pm4,05$) grubunda olduğu; en düşük değer arı sütü grubu ($100,56\pm12,57$) olduğu görülmüştür.

Gruplara göre kaspaz-1 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=8,915$; $p<0,001$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için varyansların homojen olması dikkate alınarak yapılan Tukey ikili karşılaştırmalar sonucunda; arı sütü grubunda olanlar ile propiyonik asit, propolis ve kontrol grubunda olanlar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Propiyonik asit, propolis ve kontrol grubunda olanların kaspaz-1 değerleri, arı sütü grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde, arı ekmeği grubunda olanlar ile kontrol grubunda olanlar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Kontrol grubunda olanların kaspaz-1 değerleri, arı ekmeği grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kaspaz-1 değerine göre en yüksek serum değeri, PA ($51,21\pm5,07$) grubunda

olduğu, ikinci sırada kontrol ($49,85\pm3,05$) grubu ve en düşük arı sütü ($34,94\pm3,21$) grubu olduğu görölmüştür.

Çizelge 4.4. Gruplara göre inflamatuvar belirteçlerinin karşılaştırılması

Grup	Kontrol grubu ⁽¹⁾		Propiyonik asit grubu ⁽²⁾		Arı sütü grubu ⁽³⁾		Arı ekmeği grubu ⁽⁴⁾		Propolis grubu ⁽⁵⁾		Omega-3 grubu ⁽⁶⁾		İstatistiksel analiz* Olasılık
Değişken	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	
IL-10 (pg/mL)	73,22±7,76	74,1 [63,2-81,4]	74,66±6,25	77,1 [67,5-79,3]	64,92±8,31	64,7 [56,8-73,6]	64,02±6,62	66,8 [52,7-70,3]	72,64±12,34	78,3 [58,5-81,2]	66,93±10,62	68,5 [54,8-76,9]	F=1,134 p=0,372
IL-6 (pg/mL)	2,91±0,16	2,9 [2,8-3,1]	3,14±0,23	3,2 [2,9-3,4]	3,14±0,62	3,0 [2,5-4,0]	2,56±0,41	2,5 [2,0-3,2]	3,02±0,52	3,0 [2,5-3,6]	2,57±0,47	2,6 [2,0-3,1]	F=1,667 p=0,191
IL-1β (pg/mL)	7,34±0,55	7,5 [6,6-7,8]	8,15±1,02	8,2 [6,1-9,2]	6,95±1,04	6,8 [5,9-8,3]	5,84±0,87	5,6 [5,1-7,3]	6,50±1,23	6,3 [5,4-7,8]	6,86±1,77	7,4 [4,6-9,1]	F=1,050 p=0,418
TNF-α (pg/mL)	114,44±4,05	114,8 [109,2-119,0]	130,78±13,43	131,5 [117,0-143,8]	100,56±12,57	99,5 [86,3-116,8]	114,93±14,17	110,6 [96,2-132,0]	112,54±14,64	109,7 [99,5-128,4]	103,58±21,05	102,3 [73,9-129,5]	F=1,835 p=0,152
Kaspaz-1 (pg/mL)	48,83±3,15	52,3 [47,1-53,7]	51,21±5,07	49,0 [47,6-57,0]	34,94±3,21	36,0 [30,3-37,5]	41,02±4,49	42,0 [34,9-46,1]	49,85±3,05	48,9 [47,4-53,3]	45,99±6,45	46,7 [38,6-54,2]	F=8,915 p<0,001 [3-1,2,5] [1-4]

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri); normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. IL-10: interlökin 10, IL-6: interlökin 6, IL-1β: interlökin 1 beta, TNF-α: tümör nekroz alfa.

4.5. Fekal *Clostridium spp.* ve Laktobasiller Bakteri Bulguları

Çizelge 4.5'te gruplara göre fekal bakteri (*Clostridium spp.* ve *Laktobasiller*) sayıları gösterilmektedir. Gruplara göre *Clostridium spp.* değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=12,163$; $p=0,033$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için varyansların homojen olması dikkate alınarak yapılan Tukey ikili karşılaştırmalar sonucunda; propiyonik asit grubunda olanlar ile arı sütü, arı ekmeği ve propolis grubunda olanlar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Arı sütü, arı ekmeği ve propolis grubunda olanların *Clostridium spp.* değerleri, propiyonik asit grubunda olanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Fekal *Clostridium spp.* bakteri düzeyi en yüksek olan grup arı ekmeği ($50775,67 \pm 75829,46$), ikinci sırada propolis ($18333,33 \pm 7637,63$) grubudur. Propiyonik asit grubu en az *Clostridium spp.* sayısına sahip gruptur.

Çizelge 4.5. Gruplara göre fekal bakteri değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Kontrol grubu ⁽¹⁾		Propiyonik asit grubu ⁽²⁾		Arı sütü grubu ⁽³⁾		Arı ekmeği grubu ⁽⁴⁾		Propolis grubu ⁽⁵⁾		Omega-3 grubu ⁽⁶⁾		İstatistiksel analiz* Olasılık
Değişken	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [Alt-üst]	
<i>Laktobasiller</i> (cfu/mL)	8797,50± 8942,23	5165,0 [2760,0-22100,0]	6633,62± 11489,02	0,4 [0,4-19900,0]	19991,25± 15443,95	18250,0 [2330,0-42600,0]	14220,00± 12240,38	9590,0 [4970,0-28100,0]	19329,00± 16577,45	28900,0 [187,0-28900,0]	19908,57± 17085,82	18300,0 [2410,0-47200,0]	$\chi^2=3,716$ p=0,591
<i>Clostridium</i> spp. (cfu/mL)	2009,75± 2611,03	1109,5 [0,1-5820,0]	3,83± 0,14	3,8 [3,8-4,0]	25068,25± 41851,99	11200,0 [716,0-126000,0]	50775,67± 75829,46	13800,0 [527,0-138000,0]	18333,33± 7637,63	20000,0 [10000,0-25000,0]	4911,87± 9809,16	733,0 [0,3-26900,0]	$\chi^2=12,163$ p=0,033 [2-3,4,5]
Toplam bakteri (cfu/mL)	10807,25± 9055,57	8075,0 [3499,0-23580,0]	6637,45± 11488,95	4,4 [4,2-19903,8]	45059,50± 52005,83	25500,0 [3116,0-167600,0]	64995,67± 88014,80	23390,0 [5497,0-166100,0]	37662,33± 23925,31	48900,0 [10187,0-53900,0]	24820,44± 24699,28	18400,3 [2514,0-74100,0]	$\chi^2=8,113$ p=0,150

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri); normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

Gruplara göre toplam bakteri sayısı ve ve *Laktobasiller* açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). *Laktobasiller* bakteri sayısı en fazla olan grup sırasıyla arı sütü ($19991,25\pm15443,95$), w-3 yağ asidi ($19908,57\pm17085,82$), propolis ($19329,00\pm16577,45$), arı ekmeği ($14220,00\pm12240,38$), kontrol ($8797,50\pm8942,23$) ve en az sayı PA'dır ($6633,62\pm11489,02$).

Toplam bakteri sayısı en fazla olan grup sırasıyla arı ekmeği ($64995,67\pm88014,80$) arı sütü ($45059,50\pm52005,83$) ve propolis'tir ($37662,33\pm23925,31$). Bakteri sayısı en az olan grup PA'dır ($6637,45\pm11488,95$) (Çizelge 4.5).

Sıçanların apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarına göre serum 8-OHdG düzeyi ile serum antioksidan ve inflamatuvar seviye arasındaki ilişki çizelge 4.6'da belirtilmiştir. Propolis grubunun serum 8-OHdG düzeyi ile TNF- α seviyesi arasında pozitif yönlü ($r=0,998$, $p=0,041$) korelasyon bulunmuştur. Serum TNF- α seviyesi arttıkça, serum 8-OHdG düzeyide artacaktır.

Gruplar arasında ve apiterapi ve w-3 yağ asidi grupları toplam olarak değerlendirildiğinde serum 8-OHdG düzeyi ile GSH, MDA, GST, GPX, SOD, GSH/GSSH, IL-10, IL-1 β ve Kaspaz-1 değerleri ile korelasyon gözlenmemiştir.

Sıçanların apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarına göre fekal *Laktobasiller* sayısı ile serum antioksidan ve inflamatuvar seviye arasındaki ilişki çizelge 4.7'de belirtilmiştir. Arı ekmeği grubunun fekal *Laktobasiller* sayısı ile kaspaz-1 seviyesi arasında pozitif yönlü ($r=0,999$, $p=0,033$) çok yüksek düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Serum kaspaz-1 seviyesi arttıkça, serum fekal *Laktobasiller* sayısı artacaktır.

Arı sütü grubunun fekal *Laktobasiller* sayısı ile oksitosin seviyesi arasında negatif yönlü ($r=-0,996$, $p=0,004$) korelasyon bulunmuştur. Serum oksitosin seviyesi arttıkça, serum fekal *Laktobasiller* sayısı azalacaktır.

Gruplar arasında ve apiterapi ve w-3 yağ asidi grupları toplam olarak değerlendirildiğinde fekal *Laktobasiller* sayısı ile demir, kalsiyum, IL-10, IL-1 β , TNF- α ve 8-OHdG değerleri ile korelasyon gözlenmemiştir.

Çizelge 4.6. Sıçanların apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarına göre serum 8-OHdG düzeyi ile serum antioksidan ve inflamatuvar seviye arasındaki ilişki

Grup Korelasyon*	8-OHdG (ng/mL)											
	Kontrol		Propiyonik asit		Arı sütü		Arı ekmeği		Propolis		Omega-3 Yağ Asidi	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
GSH (ug/mL)	-0,731	0,269	0,949	0,204	-0,621	0,379	0,336	0,515	-0,515	0,655	-0,731	0,269
MDA (ng/mL)	-0,546	0,454	-0,902	0,284	0,253	0,743	0,064	0,904	-0,340	0,779	-0,546	0,454
GST (ng/mL)	-0,500	0,500	0,984	0,113	-0,523	0,477	0,556	0,252	0,970	0,155	-0,500	0,500
GPX (ng/mL)	0,193	0,807	0,887	0,306	-0,686	0,314	0,329	0,523	-0,670	0,533	0,193	0,807
SOD (U/mL)	-0,583	0,417	0,133	0,915	0,727	0,273	0,260	0,619	-0,078	0,950	-0,583	0,417
GSH/GSSH	-0,217	0,783	-0,444	0,707	-0,936	0,064	-0,064	0,904	0,464	0,693	-0,217	0,783
IL-10 (pg/mL)	-0,276	0,724	0,886	0,308	0,277	0,723	0,364	0,479	0,344	0,776	-0,276	0,724
IL-1β (pg/mL)	-0,495	0,505	0,301	0,806	0,565	0,435	0,196	0,709	0,996	0,060	-0,495	0,505
TNF-α (pg/mL)	-0,100	0,900	0,704	0,503	-0,776	0,224	0,730	0,100	0,998	0,041*	-0,100	0,900
Kaspaz-1 (pg/mL)	-0,448	0,552	0,829	0,378	0,916	0,084	0,051	0,294	0,855	0,348	-0,448	0,552

*Pearson korelasyon katsayısı *p<0,05

Çizelge 4.7. Sıçanların apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarına göre fekal Laktobasiller sayısı ile serum antioksidan ve inflamatuvar seviye arasındaki ilişki

Grup Korelasyon*	Laktobasiller (cfu/mL)											
	Kontrol		Propiyonik asit		Arı sütü		Arı ekmeği		Propolis		Omega-3 Yağ Asidi	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Oksitosin (mg/mL)	0,556	0,444	-0,762	0,448	-0,996	0,004	-0,516	0,654	-0,508	0,661	0,381	0,456
Demir (ng/mL)	0,460	0,540	0,157	0,900	-0,313	0,687	-0,787	0,423	0,553	0,627	0,513	0,377
Kalsiyum (mg/mL)	-0,246	0,754	-0,861	0,523	-0,775	0,225	0,820	0,388	-0,550	0,629	0,138	0,825
IL-10 (pg/mL)	-0,919	0,081	-0,985	0,109	0,930	0,063	0,619	0,575	0,993	0,076	-0,257	0,723
IL-1β (pg/mL)	-0,946	0,054	0,006	0,996	0,877	0,123	0,660	0,541	0,137	0,912	0,777	0,122
TNF-α (pg/mL)	-0,084	0,916	-0,888	0,304	-0,736	0,264	0,643	0,555	0,176	0,893	0,020	0,971
Kaspaz-1 (pg/mL)	-0,593	0,407	-0,617	0,577	0,754	0,236	0,999	0,033*	0,702	0,504	0,80	0,899
8-OHdG (ng/mL)	0,551	0,449	-0,952	0,198	0,563	0,427	0,724	0,484	0,230	0,853	0,730	0,100

*Pearson korelasyon katsayısı *p<0,05

4.6. Histopatolojik Bulgular

Karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve beyin dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidansları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Hematoksien&Eozin ile boyanmış kesitlerin ışık mikroskobuyla yapılan incelemelerinde PA uygulanan gruptaki sıçanlara ait karaciğer dokularında sitoplazmik dejenerasyon, minimal kanlanma ve sinüzoidal genişleme yaygın olarak görülmüştür. Benzer bulgular propolis, arı sütü, arı ekmeği ve w-3 yağ asidi uygulanan gruplardaki sıçanlarda da görülmüş; ancak, en çok arı ekmeği uygulanan gruplarda görülmüştür. Propolis uygulanan gruptaki sıçanlarda propiyonik asidin olumsuz etkisinin azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar biyokimyasal analiz sonuçlarıyla da uyumlu görülmüştür.

Kontrol ve uygulama gruplarındaki sıçanların böbrek dokuları histopatolojik incelemeleri yapıldığında propiyonik asit uygulanan gruplardaki sıçanlarda tübül dejenerasyonu, Bowmann kapsülü genişlemesi, atrofik glomerulus, minimal kanlanma görülmüştür. Propolis, arı sütü, arı ekmeği ve w-3 yağ asidi uygulanan gruplarındaki sıçanlara ait böbrek dokuları incelendiğinde ise propiyonik asit grubundakinden az olmakla birlikte tüm bulgular gözlenmiştir. Yapılan incelemelerin sonuçları değerlendirildiğinde propiyonik asidin olumsuz etkileri üzerine uygulanan arı ürünlerinin çok etkili olumlu sonuçlarının olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Histopatolojik bulguların insidansları

Dokular	Histopatolojik bulgular	Kontrol grubu	Propiyonik asit grubu	Arı sütü grubu	Arı ekmeği grubu	Propolis grubu	Omega-3 grubu
Karaciğer	Sitoplazmik dejenerasyon	%0	%100	%33	%33	%66	%40
	Minimal kanlanma	%0	%100	%33	%33	%66	%40
	Sinüzoidal genişleme	%0	%100	%66	%33	%66	%80
Böbrek	Tübül dejenerasyonu	%0	%100	%100	%84	%84	%100
	Bowmann kapsülü genişlemesi	%0	%100	%100	%84	%84	%60
	Atrofik glomerulus	%0	%100	%100	%84	%84	%60
	Minimal kanlanma	%0	%100	%100	%84	%84	%60
İnce bağırsak	Goblet hücresi artışı	%0	%100	%33	%84	%84	%80
	Villus dejenerasyonu	%0	%100	%33	%84	%84	%80
Beyin	Nöron dejenerasyonu	%0	%100	%33	%50	%33	%40
	Genişlemiş kan damarı	%0	%100	%33	%33	%33	%40
	Piramidal hücre tabakasında küçülmüş, hiperkromatik, distrofik nöron	%0	%100	%33	%33	%33	%20

Bu çalışmada incelediğimiz diğer bir doku olan ince bağırsakta propiyonik asit uygulamasının goblet hücresi artışı ve villus dejenerasyonuna neden olduğu belirlenmiştir. Propolis, arı sütü, arı ekmeği ve w-3 yağ asidi uygulanan gruplardaki sıçanların ince bağırsak dokuları histopatolojik olarak incelemesi yapıldığında arı sütü ve arı ekmeği uygulamalarının propiyonik asit uygulamasının olumsuz etkilerini yok edemediği tespit edilmiştir. Ancak propolis ve w-3 yağ asidi uygulamaları yapılan gruplarda bu uygulamaların propiyonik asidin olumsuz etkilerine karşı koruyabildiği gözlenmiştir.

Propiyonik asit uygulamasının önemli toksik etkilerinin görüldüğü dokuların başında gelen beyin dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde nöron dejenerasyonu, genişlemiş kan damarı, piramidal hücre tabakasında küçülmüş, hiperkromatik, distrofik nöron bulgularıyla karşılaşmıştır. Arı ürünlerinin propiyonik asidin bu ciddi olumsuz etkilerine karşı etkilerini değerlendirmek üzere yapılan mikroskopik incelemelerde hemen hemen tüm arı ürünlerinin pozitif yönde etki gösterdiği gözlenmiştir.

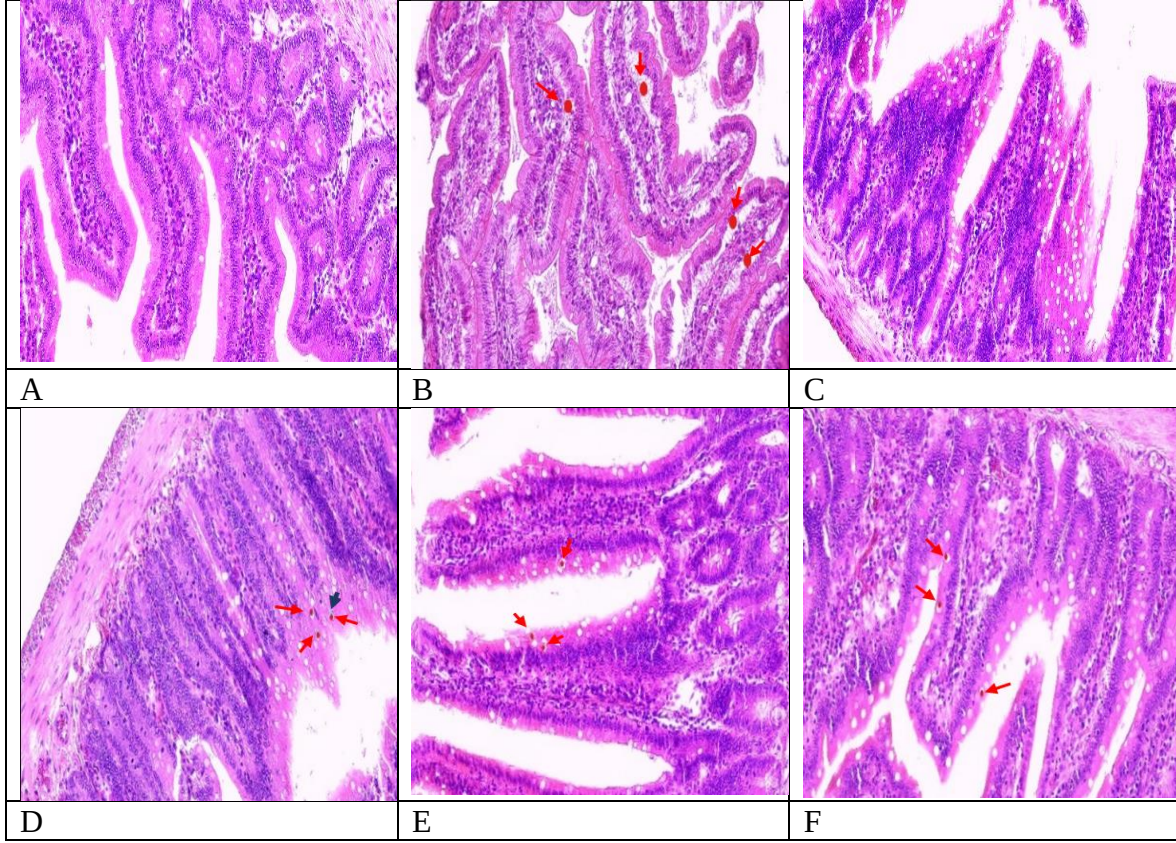
Histopatolojik inceleme sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde arı ürünlerinin iyileştirici olma yönünde etkilerinin olduğu özellikle de propolisin karaciğer, ince bağırsak ve beyin dokularında pozitif yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada toksik etkisini gözlemlediğimiz propiyonik asidin dokularda yaptığı hasarları iyileştirme yönünde etkilerini araştırmak için arı ürünlerinden propolis, arı sütü, arı ekmeği ve w-3 yağ asidi 28 gün süreyle sıçanlara uygulanmıştır. Bu uygulama süresinde incelediğimiz dokularda bazı iyileşmeler görülmekle birlikte ilerideki çalışmalarda bu sürenin uzatılmasının pozitif etkilerinin daha etkili olabileceği değerlendirilmektedir.

4.6.1. Grupların bağırsak dokusu histopatolojik bulguları

Şekil 4.1'te kontrol, PA, arı sütü, arı ekmeği, propolis ve w-3 yağ asidi gruplarına ait sıçanların ince bağırsak doku örnekleri gösterilmektedir.

Propiyonik asit kaynaklı ince bağırsak histolojik görüntüsü kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. İnce bağırsak villus dejenerasyonu kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Arı ekmeği grubu sıçanlarına ait ince bağırsak histolojik görüntüsü kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Propolis grubu sıçanlarına ait ince bağırsak goblet hücresi kırmızı nokta

ve oklar ile gösterilmiştir. Omega-3 yağ asidi grubu sıçanlarına ait ince bağırsak goblet hücresi kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir.



A: Kontrol, B: Propiyonik asit, C: Arı sütü, D: Arı ekmeği, E: Propolis, F: Omega- 3

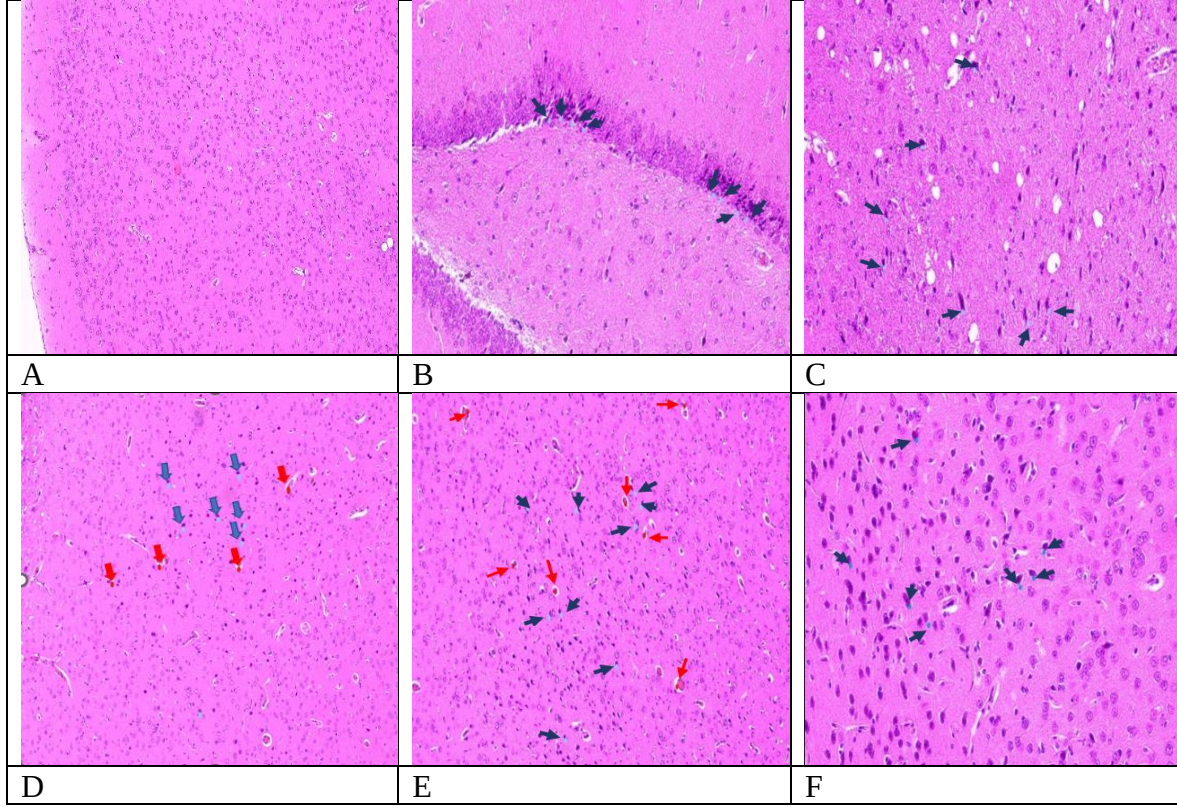
Şekil 4.1. Grupların bağırsak doku örnekleri

4.6.2. Grupların beyin dokusu histopatolojik bulguları

Şekil 4.2’de kontrol, PA, arı sütü, arı ekmeği, propolis ve w-3 yağ asidi gruplarına ait sıçanların beyin doku örnekleri gösterilmektedir.

Propiyonik asit grubu sıçanlarına ait beyin yaygın nöron dejenerasyonu, piramidal hücre tabakasında küçülmüş, hiperkromatik ve distrofik nöron mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Arı sütü grubu sıçanlarına ait beyin nöron dejenerasyonu mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Arı ekmeği grubu sıçanlarına ait beyin nöron dejenerasyonu mavi renkli; genişlemiş kan damarı kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Propolis grubu sıçanlarına ait beyin nöron dejenerasyonu mavi renkli; genişlemiş kan damarı kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Omega-3 yağ asidi grubu sıçanlarına ait beyin nöron dejenerasyonu mavi;

genişlemiş kan damarı piramidal hücre tabakasında küçülmüş, hiperkromatik ve distrofik nöron kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir.



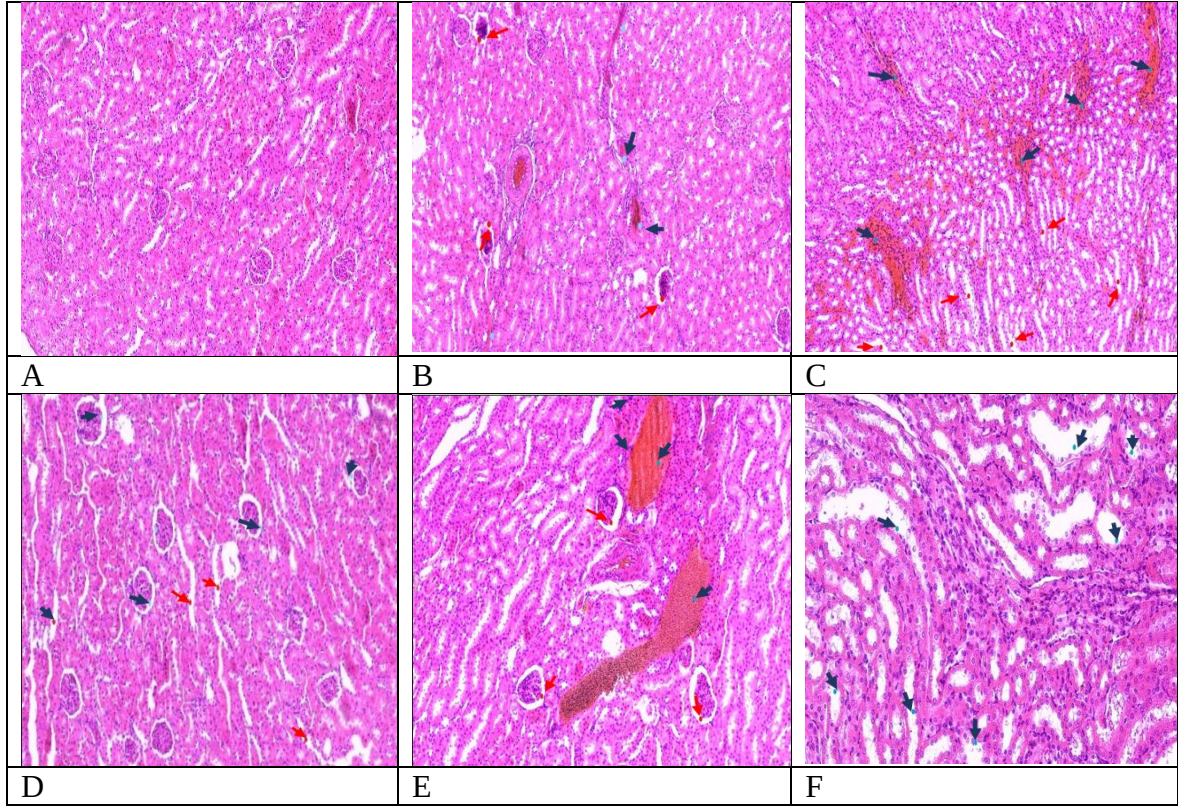
A: Kontrol, B: Propiyonik asit, C: Arı sütü, D: Arı ekmeği, E: Propolis, F: Omega- 3

Şekil 4.2. Grupların beyin doku örnekleri

4.6.3. Grupların böbrek dokusu histopatolojik bulguları

Şekil 4.3'te kontrol, PA, arı sütü, arı ekmeği, propolis ve w-3 yağ asidi gruplarına ait sıçanların böbrek doku örnekleri gösterilmektedir.

Propiyonik asit grubu sıçanlarına ait böbrek tübül dejenerasyonu mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir. İnce bağırsak goblet hücresi kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Arı sütü grubu sıçanlarına ait böbrek kanlanması mavi; tübül dejenerasyonu kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Arı ekmeği grubu sıçanlarına ait böbrek tübül dejenerasyonu kırmızı; atrofik glomerulus mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Propolis grubu sıçanlarına ait böbrek kanlanması mavi; atrofik glomerulus ve genişlemiş bowman kapsülü kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Omega-3 yağ asidi grubu sıçanlarına ait böbrek tübül dejenerasyonu mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir.



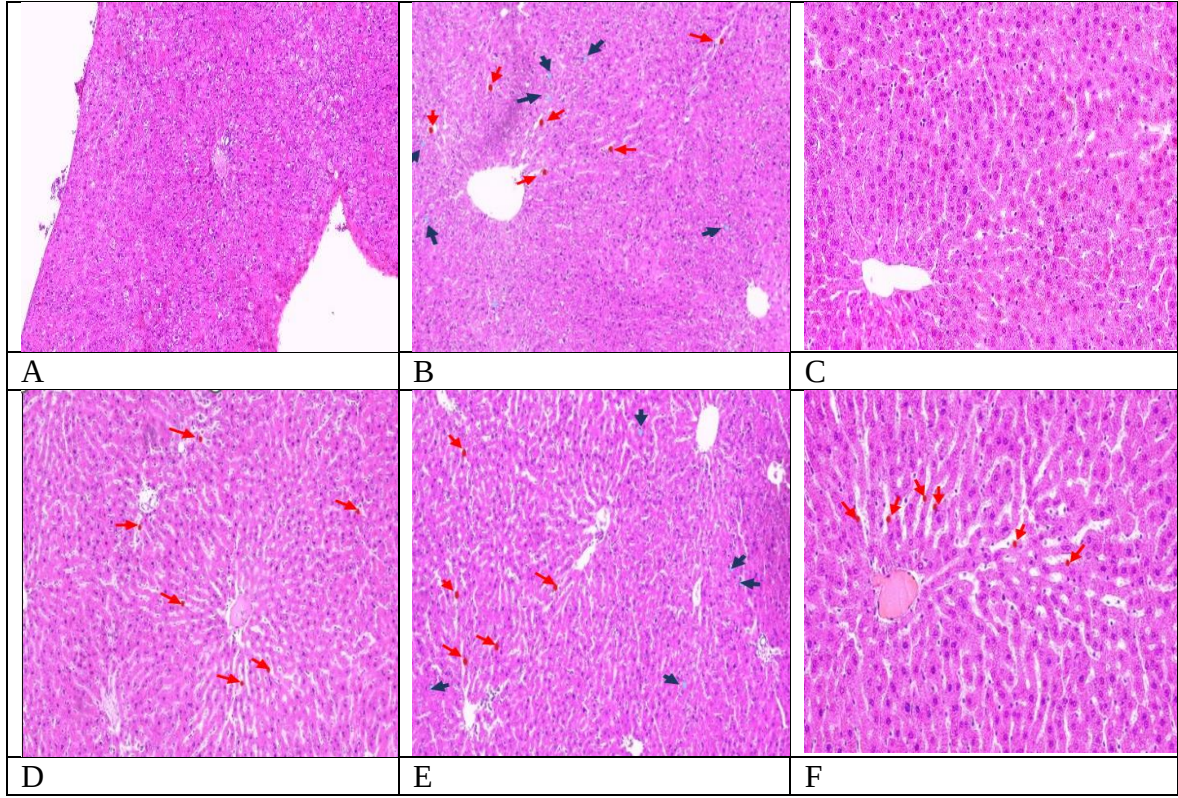
A: Kontrol, B: Propiyonik asit, C: Arı sütü, D: Arı ekmeği, E: Propolis, F: Omega- 3

Şekil 4.3. Grupların böbrek doku örnekleri

4.6.4. Grupların karaciğer dokusu histopatolojik bulguları

Şekil 4.4'te kontrol, PA, arı sütü, arı ekmeği, propolis ve w-3 yağ asidi gruplarına ait sıçanların böbrek doku örnekleri gösterilmektedir.

Propiyonik asit grubu sıçanlarına ait karaciğer sitoplazmik dejenerasyon kırmızı, sinüzoidal genişleme mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Arı ekmeği uygulaması yapılan sıçanlarına ait karaciğer sinüzoidal genişlemesi kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Propolis grubu sıçanlarına ait karaciğer sinüzoidal genişleme kırmızı; sitoplazmik dejenerasyon mavi nokta ve oklar ile gösterilmiştir. Omega-3 yağ asidi grubu sıçanlarına ait karaciğer sinüzoidal genişleme kırmızı nokta ve oklar ile gösterilmiştir.



A: Kontrol, B: Propiyonik asit, C: Arı sütü, D: Arı ekmeği, E: Propolis, F: Omega- 3

Şekil 4.4. Grupların karaciğer doku örnekleri

5. TARTIŞMA

5.1. Apiterapi ve W-3 Yağ Asidi Besin Takviyesinin Vücut Ağırlıklarının Değişimi Üzerine Etkileri

Propiyonik asit ile oluşturulan otizm modellemelerinde genellikle ağırlık kaybı görülebilmektedir. Yapılan bir çalışmada, 11 günlük süre ile PA uygulaması sonucunda sıçanların vücut ağırlığı kaybı yaşadığı görülmüştür ($p<0,0001$) (Khera ve diğerleri, 2022). Yapılan farklı bir çalışma 100 ve 200mg/kg PA uygulaması yapılan 36 sıçanda kontrol grubuna göre anlamlı ağırlık kaybı olduğu görülmüştür ($p<0,0001$) (Tiwari ve diğerleri, 2021). Propiyonik asit ile oluşturulan farklı bir otizm çalışmasında yine PA grubunda kontrol grubuna göre ağırlık kaybı olduğu belirtilmiştir ($p<0,05$) (Choi ve diğerleri, 2018a). Yapılan farklı bir retrospektif çalışmada yaşları 2 ile 65 arasında değişen 200 bireyin OSB ($2,1 \pm 5$) ve normal ($21,1 \pm 6,9$) bireyler vücut kütle indeksleri arasında anlamlı bir fark olmağı belirtilmiştir (Benachenhau ve diğerleri, 2019a). Yapılan tez çalışmasında literatüre benzer olarak PA ($104,07 \pm 76,22$) grubunda bulunan sıçanların kontrol ($122,13 \pm 114,15$) grubuna göre anlamlı derecede düşük ağırlık kazanımı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Ek olarak, arı sütü ($150,09 \pm 34,39$), arı ekmeği ($130,56 \pm 32,12$) ve w-3 yağ asidi ($139,22 \pm 57,82$) gruplarında ağırlık artışı kontrol ve PA grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Fakat propolis ($96,44 \pm 78,00$) grubunda ağırlık artışı istenilen düzeyde olmamıştır. Bunun nedeni propolis grubundaki hayvanların iştahlarının azalması ve dışkılama miktarının artması olabilir.

5.2. Sıçanların Kan Bulgularının Değerlendirilmesi

Deneyssel nöropsikiyatrik modellerin validasyonu biyokimyasal bulgular ile değerlendirilebilmektedir (Alonazi ve diğerleri, 2022; Choi ve diğerleri, 2018b; El-Ansary ve Al-Ayadhi, 2014; El-Ansary ve diğerleri, 2011; K. C. Kim ve diğerleri, 2014; Mirza ve Sharma, 2019). Yapılan tez çalışmasında PA kaynaklı hasarı tespit etmek için kan bulgularındaki serum AST, ALT, GGT, kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, albumin, kalsiyum, demir ve oksitosin değerleri incelenmiştir.

Aspartat aminotransferaz kalp, iskelet kasları, böbrek, beyin, karaciğer, pankreas veya eritrositler gibi birçok dokuda bulunan hücresel bir enzimdir. Otizm spektrum bozukluğunda görülen mitokondri disfonksiyon nedeniyle kas ve karaciğer gibi bazı yüksek enerjili

dokuların bütünlüğü zarar görür ve AST ve ALT gibi doku hasarı göstergelerinde yükselmelere neden olabilmektedir (Rossignol & Frye, 2012). Serumdaki AST aktivitesinin belirlenmesi esas olarak karaciğer hasarını değerlendirmek için kullanılmaktadır (X.-J. Huang ve diğerleri, 2006; Nallagangula ve diğerleri, 2018a). Al-Salem ve diğerlerinin (2020) yapmış olduğu çalışmada PA ile indüklenen sıçanların serum AST seviyelerinde artış olduğu belirtilmiştir ($PA \cong 37,5$ U/L, kontrol $\cong 12,5$ U/L). Uygulama öncesi arı poleni takviyesi yapılan gruplarda AST seviyesinde azalmalar olduğunu belirtmiştir (arı poleni $\cong 10$ U/L). (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yine yapılan farklı bir çalışmada PA uygulaması yapılan sıçanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğunu belirtmiştir (Elhefnawi ve diğerleri, 2023). Yapılan tez çalışmasında daha önceki yapılan çalışmalara benzer olarak PA grubu AST seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (kontrol: $181,78 \pm 15,10$, PA: $229,77 \pm 43,16$) (Çizelge 7). Ek olarak, arı ekmeği grubunda AST seviyesinde düşüşler olduğu tespit edilmiştir ($184,40 \pm 24,99$). Bu sonuçlar Al-Salem ve diğerlerinin (2020) yapmış olduğu çalışmaya benzerlik göstermektedir. Ancak diğer apiterapi ürünlerinde anlamlı farklılıklar bulunamamıştır. Bu sonuçlar PA'nın farklı organlarda doku hasarına neden olduğunun bir kanıtı olabilir.

Serum glutamik-pirüvik transaminaz (SGPT) olarak da bilinen Alanin Aminotransferaz (ALT), bir amino grubunun alaninden a-ketoglutarata geri dönüşümlü transferini katalize eder. Bu transaminasyon reaksiyonunun ürünleri piruvat ve glutamattır. ALT esas olarak karaciğer ve serumda bulunur, ancak diğer dokularda da bulunur. Belirgin derecede yüksek serum ALT seviyeleri genellikle hepatoselüler hasar, hepatit, diyabet, safra kanalı sorunu ve miyopati gibi tıbbi problem varlığı göstergesidir (Unicel ve Synchron, 2008). Otizm spektrum bozukluğunda görülen mitokondri disfonksiyon nedeniyle kas ve karaciğer gibi bazı yüksek enerjili dokuların bütünlüğü zarar görür ve AST ve ALT gibi doku hasarı göstergelerinde yükselmelere neden olabilmektedir (Rossignol & Frye, 2012) Al-Salem ve diğerlerinin (2020) yapmış olduğu çalışmada PA ile indüklenen sıçanların serum ALT seviyelerinde artış olduğu belirtilmiştir ($PA \cong 100$ U/L, kontrol $\cong 75$ U/L). Uygulama öncesi arı poleni takviyesi yapılan gruplarda ALT seviyesinde önemli ölçüde azalmalar olduğunu belirtmiştir ($\cong 80$ U/L). (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yine yapılan farklı bir çalışmada PA uygulaması yapılan sıçanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede ALT seviyesi olduğu belirtmiştir (Elhefnawi ve diğerleri, 2023). Yapılan çalışmada, daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak PA grubu ALT seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (kontrol: $71,55 \pm 10,59$, PA: $117,17 \pm 49,87$) (Çizelge 7). Arı ekmeği, arı sütü ve

propolis gibi apiterapi uygulması yapılan gruplarda ALT seviyesinde anlamlı düşüşler olduğu görülmüştür (arı sütü: $88,37 \pm 21,52$, propolis: $82,40 \pm 9,00$, arı ekmeği: $94,00 \pm 34,00$) ($p < 0,05$). Bu sonuçlar PA kaynaklı doku hasarının apiterapi ile düzeltilebilceğinin bir göstergesi olabilir.

Gama glutamil transferaz (GGT), antioksidan mekanizmaların önemli bir bileşeni olan hücre dışı glutatyonun hücre içi alımına aracılık eder (Gurbuzer diğerleri., 2014). Karaciğer, böbrekler, safra kanalları, pankreas ve kalp dahil olmak üzere birçok dokunun hücre zarlarında bulunur. GGT, hepatobiliyer hasar, karaciğer neoplazmaları, viral hepatit ve yağlı karaciğer hastalığının hassas bir belirtecidir (Whitfield, 2001). Moses ve diğerlerinin (2014) OSB'li 80 yetişkin birey üzerinde yaptığı çalışmada GGT seviyelerinin normal grubuna (OSB: $37,1$; K: $70,9$ U/L) göre daha düşük olduğunu belirtmiştir (Moses ve diğerleri, 2014). Yapılan farklı bir çalışmada 3 gün süreyle 250mg/kg PA uygulması yapılan sıçanların serum GGT düzeyinde artış olduğu ve arı poleni ($250\text{mg/kg} \times 30\text{gün}$) takviyesinin de serum GGT seviyesinde farklılık oluşturmadığını belirtmiştir. Literatür incelendiğinde farklı sonuçlar oldu görülmektedir. Yapılan tez çalışmada, kontrol grubuna göre PA grubunda anlamlı farklılık gözlenmiştir. Ek olarak, arı sütü ($3,43 \pm 1,27$), arı ekmeği ($3,17 \pm 0,98$) ve w-3 yağ asidi ($2,67 \pm 1,21$) takviyesi yapılan grupların serum GGT değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir.

Kolesterol, mumsu bir görünüme sahip olan ve insan ve hayvan hücrelerinde, özellikle beyin, böbrek ve karaciğerde bulunan yağlı bir maddedir (Scherr ve Cherr, 2016). Beyin, vücuttaki tüm kolesterolün %23'ünü içerir (Pfrieger, 2003). Beyinde, aksonları yalıtmak için oligodendrositler tarafından oluşturulan miyelin kılıfında kolesterolün büyük bir kısmı bulunur. Nöronlar ve astrositler de muhtemelen karmaşık morfolojilerini ve sinaptik iletimlerini sürdürmek için büyük miktarlarda kolesterol içerir. Kolesterol biyosentez sorunu yaygın olarak görülmektedir (Dietschy ve Turley, 2004; Martín ve diğerleri, 2014). Al-Salem ve diğerlerinin (2020) yapmış olduğu çalışmada PA ile indüklenen sıçanların serum toplam kolesterol (TK) seviyelerinde artış olduğu belirtilmiştir (PA: $1,7\text{mmol/L}$, kontrol: $1,3\text{mmol/L}$). Uygulama öncesi arı poleni takviyesi yapılan gruplarda TK seviyesinde önemli ölçüde azalmalar olduğunu bildirilmiştir ($1,4\text{mmol/L}$) (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmada daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak PA grubu TK seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (PA: $50,67 \pm 0,58$, kontrol: $46,67 \pm 6,47$) (Çizelge 7). Omega-3 yağ asidi ve propolis gruplarında (w-3:

49,00±5,86, propolis: 42,67±6,43) TK seviyelerinde düşüş olduğu görülmüş olsa da diğer apiterapi gruplarında düzelme tespit edilmemiştir. Bunun nedeni arı sütü ve arı ekmeği gruplarında ağırlık artışının diğer gruplardan daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

HDL kolesterol, vücuttaki dokulardan karaciğere kolesterol taşıyan bir lipoprotein sınıfıdır. Yapısında %50 protein, %24 fosfolipit, %2 kolesterol, %4 yağ ve %20 kolesterol ester bulunur. Düşük HDL kolesterol serum konsantrasyonları, artmış kardiyovasküler riski ile ilişkilidir (Hopkins, 2003). Otizm spektrum bozukluğunda bozulmuş HDL kolesterol düzeyi görülebilmektedir. (Joon diğerleri., 2021)Dziobek ve diğerlerinin (2007) yapmış olduğu çalışmada OSB'li bireyler üzerinde yaptığı çalışmada serum HDL kolesterol seviyesinde azalma olduğu belirtilmiştir (OSB: 45,5 ± 10,9 mg/dl, 53,6 ± 13,4 mg/dl) (Dziobek ve diğerleri, 2007). Yapılan farklı bir çalışmada 29 erkek OSB'li çocuklar üzerinde yapılan çalışmalarda HDL kolesterol seviyelerinde azalma olduğunu bildirmiştir (kontrol: 60,5 ± 10,9mg/dl, OSB: 48,8 ± 11,9mg/dl) (E.-K. Kim ve diğerleri, 2010). Tascano ve diğerleri (2018) ve Benachenhau ve diğerlerinin (2019) yapmış olduğu çalışmalarda serum HDL kolesterol seviyelerinin normal bireylere göre daha düşük olduğunu belirtmiştir (kontrol≅ 60mg/dl, OSB≅ 50 mg/dl) (Benachenhau ve diğerleri, 2019b; Toscano ve diğerleri, 2018). Yapılan çalışmada, PA grubunda kontrol grubuna göre HDL kolesterol düzeyi daha düşük olduğu görülmüştür (PA: 22,13±0,95, kontrol: 24,67±6,75). Apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması yapılan tüm gruplarda HDL kolesterol seviyesinin PA ve kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür (arı sürü: 34,54±5,17, arı ekmeği: 33,08±9,12, w-3: 30,75±4,08, propolis: 24,40±7,16). Bu sonuçlar literatür ile benzerlik göstermektedir.

LDL kolesterol, atardamarlarınızda birikebilen ve kalp krizi veya felce neden olabilen kolesteroldür. Kardivasküler hastalıklara neden olması nedeniyle “kötü kolesterol” olarakta isimlendirilmektedir (CDC, 2023). Literatüre bakıldığı zaman yapılan bir çalışmada, 3 gün süre 250mg/kg PA uygulaması yapılan sıçanlarda kontrol grubuna göre serum LDL kolesterol seviyesinde yükselme olduğunu belirtmiştir (K≅ 0,7mg/dl, PA≅ 1,15mg/dl). Ek olarak, arı poleni uygulaması yapılan takviyesi sonucunda LDL kolesterol seviyesinde düzelmeler olduğuda belirtilmiştir (≅0,65mg/dl) (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan tez çalışmasında PA grubunda bulunan sıçaların serum LDL kolesterol seviyesi kontrol grubuna göre daha yaklaşık %10,5 oranında yüksek olduğu görülmüştür (PA: 11,33±2,08, kontrol: 10,00±3,89). Bu sonuçlar literatür ile benzerlik göstermektedir. Ek olarak, propolis (9,33±1,53) ve arı ekmeği (10,83±4,07) gruplarında LDL kolesterol seviyesinde düzelmeler

olduğu görülmüştür. Omega-3 ve arı sütü gruplarında LDL kolesterol seviyesinin yüksek olması nedeni bu gruplarda ağırlık kazanımının diğer gruplardan fazla olması nedeniyle hareket kabiliyetinin daha azalmasından kaynaklanmaktadır. Bu sonuç, arı ekmeği ve propolisin farklı fraksiyonlarının PA tarafından yaralanan hepatositlerin normal işlevini geri kazanımının göstergesi olabilir.

Kan plazması proteini olan albümin, karaciğer ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde önemli bir belirteçtir. Albumin seviyesindeki bozulma böbrek hastalığı, karaciğer hastalığı, iltihaplanma veya enfeksiyon sonucu ortaya çıkar (F. Wong, 2023). Yapılan bir çalışmada, PA ($\cong 35\text{mmol/L}$) uygulaması yapılan sıçanların kontrol ($\cong 32\text{mmol/L}$) grubuna göre albümin seviyesinde artış meydana gelidiği belirtilmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan tezde literatüre benzer olarak PA ($3,82\pm 0,10$) grubu serum albümin seviyesi kontrol ($3,55\pm 0,57$) grubuna göre, $\cong 8,5$ daha yüksek olduğu görülmüştür. Ek olarak, arı ekmeği ($3,62\pm 0,49$), propolis ($3,45\pm 0,09$) ve w-3 yağ asidi ($3,59\pm 0,42$) gruplarında serum albümin seviyelerinde düzelme etkisi olduğu da görülmüştür. Bu sonuçlara göre biyobelirteç seviyesindeki düzelme hepato- ve böbrek nekrozu ile ilişkili olabilecek karaciğer ve böbrekte hücrel hasarın düzelmesine yardımcı olduğunu düşünmekteyiz.

Kalsiyum sinyali, çoklu organelleri, dokuları ve fizyolojik sistemleri kapsayan birçok temel hücrel fonksiyonda rol oynar (Berridge, 2016). Her yerde bulunan rolü göz önüne alındığında, kalsiyum sinyal yolundaki herhangi bir nokta boyunca bir deregölasyonun, bir dizi 'kalsiyumopati' tarafından zaten gösterilmiş olan nörolojik fonksiyonu bozabileceği tahmin edilmektedir. Bu mekanik perspektif, mitokondriyal fonksiyonda anormallikler, nörotransmitter sinyalizasyonu, uyarma/inhibisyon dengesizliği ve sinaptik plastisiteyi de içeren birkaç OSB patogenezi teorisini ve nöronal olmayan komorbiditelerinin açıklamaktadır (Berridge, 2016; Nguyen ve diğerleri, 2018). Yapılan bir çalışmada, PA uygulaması öncesi veya sonrası arı poleni ile beslenen grupların kalsiyum seviyesi kontrol ve PA gruplarına göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmada, literature kısmen benzer sonuçlar bulunmuştur. Kontrol ($10,73\pm 0,99$) ve PA ($10,90\pm 0,53$) gruplarında yer alan serum örneklerinde kalsiyum değerlerinin benzer olduğu görülmüştür (AS: $10,83\pm 1,29$, AE: $10,30\pm 1,06$, pro: $10,80\pm 0,75$). Al -Salem ve diğerlerinin (2020) yaptığı çalışmadan farklı olarak apiterapi uygulaması yapılan grupların kalsiyum değerleri benzer çıkmıştır. En yüksek serum kalsiyum değeri w-3 yağ asidi ($11,13\pm 1,50$) grubunda tespit edilmiştir.

Demir biyolojik sistemlerde temel bir mikro besindir. Öncelikle enzimlerin ve oksijen taşıyıcı proteinlerin aktif merkezlerinde bulunan demir, adenozin trifosfat (ATP), deoksiribonükleik asit (DNA) ve nörotransmitter sentezi gibi çeşitli hücrel işlemlerde anahtar rol oynar (Alkhateeb ve Connor, 2010). Ek olarak, Fe bilişsel, davranışsal ve motor gelişim üzerinde önemli bir role sahiptir. Otizmde serum ferritin seviyesinde dengesizlik olabilmektedir (Hergüner ve diğerleri, 2012a). Literatür incelediğinde, yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar olduğu görülmektedir. Otistik çocuklarda yapılan klinik bir çalışmada %24,1'inde demir eksikliği, %15,5'inde anemi olduğunu belirtmiştir (Balcı ve diğerleri, 2019). Yapılan farklı bir çalışmada tanı almış OSB'li çocukların %24'ünde serum ferritin düzeyinin normal bireylere göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir (Hergüner ve diğerleri, 2012b). Yapılan farklı çalışmalarda ise normal ve OSB'li bireylerin serum ferritin düzeyleri arasında farklılık olmadığını belirtmiştir (Skalny, Simashkova, Klyushnik, ve diğerleri, 2017; Skalny, Simashkova, Skalnaya, ve diğerleri, 2017). Yapılan farklı bir çalışmada ise OSB'li bireylerin serum ferritin düzeyinde normal bireylere göre daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Pecorelli ve diğerleri, 2013). Yapılan tez çalışmasında Pecorelli ve diğerlerinin (2006) sonucuna benzer olarak PA ($2,34 \pm 0,11$) grubunda serum ferritin düzeyi kontrol ($1,98 \pm 0,25$) gruba göre yaklaşık olarak %18 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, apiterapi (AS: $1,97 \pm 0,16$, AE: $2,07 \pm 0,26$, pro: $1,67 \pm 0,10$) ve w-3 yağ asidi ($1,87 \pm 0,33$) uygulaması yapılan tüm grupların serum ferritin düzeyi kontrol grubuna benzer olduğu görülmüştür. Apiterapi ve w-3 yağ asidi beslenme tedavisi propiyonik asitle oluşan anormal demir metabolizmasına olumlu etkileri olmuş olabileceği değerlendirilmektedir. Serum ferritin düzeyi artışı reaktif oksijen türlerinin seviyelerini arttırabilir ve DNA, proteinlerin oksidatif hasarına neden olabilir. PA kaynaklı akut serum demir düzeyi atışı DNA hasar biyobelirteci olan 8-OHdG, oksidatif stres göstergesi olan MDA seviyesinin artmasını ve doku hasarını desteklemiş olabilir.

Oksitosin, otistik insanların kaygı semptomlarını ve göz teması kurma ve duyguları tanıma becerileri de dahil olmak üzere sosyal becerilerini geliştirmeye yardımcı olmaktadır. Bu nedenle nöropeptit oksitosin, otizm spektrum bozukluğu çalışmalarında sosyal bozulmayı azaltmak için potansiyel bir terapi olarak kullanılabilir (Sikich ve diğerleri, 2021). Yapılan bir çalışmada, PA uygulaması yapılan sıçanların serum oksitosin seviyelerinde bozulmalar olduğu ve ek olarak, erkek sıçanların serum oksitosin seviyesinin dişi sıçanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Abuaish ve diğerleri, 2022). Yapılan çalışmada, PA ($67,49 \pm 7,94$) grubu, kontrol ($60,53 \pm 7,95$) grubuna göre daha (~%10) düşük olduğu fakat

diğer gruplarda (AS: $59,21 \pm 5,62$, AE: $56,38 \pm 5,85$, pro: $60,69 \pm 3,81$, w-3: $56,33 \pm 6,01$) artış olmadığı, kontrol grubuna benzer değerler olduğu görülmüştür. Propiyonik asit grubunda oksitosin hormonun yüksek olması, sıçanlarda PA kaynaklı akut bir yükselme olduğu değerlendirilmektedir. Bu akut yükselme apiterapi ve w-3 yağ asidi alan diğer gruplarda daha dengeli olduğu için serum oksitosin seviyesi kontrol grubuna benzer olduğu değerlendirilmektedir.

5.3. Gruplara Göre Antioksidan ve Oksidan Değerlerinin Karşılaştırılması

Yapılan tez çalışmasında antioksidan ve oksidan kapasitesini yorumlamak için serum GSH, TAS, MDA, GST, GPX, katalaz, GSTs, C vitamini, GSSG ve GSH/GSSG değerleri incelenmiştir.

Glutasyon, peroksitleri ortadan kaldırmak için enzimatik reaksiyonlarda ve e-tokoferolü azalmış fonksiyonel formlarında korumak için enzimatik reaksiyonlarda kullanılan antioksidandır. Bu reaksiyonlarda GSH, disülfür formuna GSSG'ye dönüştürülür. Reaktif oksijen türlerine ve nitrojen türlerine karşı koruma, antioksidan savunma ve ayrıca hücresel tiol durumunun korunması dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik işlevlere sahiptir. Yüksek oksijen tüketimi nedeniyle insan beyni, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna karşı son derece hassastır. Glutasyon, redoks homeostazını koruyarak beyin antioksidan savunmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Beyin GSH seviyesi yaşlanma ve Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Otizm gibi çeşitli nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmektedir (Dwivedi diğerleri., 2020). Yapılan bir çalışmada, 1 ve 2 hafta süreyle PA uygulanması yapılan sıçanların GSH seviyesinde kontrol grubuna göre düşüş olduğu bildirilmiştir (Elhefnawi ve diğerleri, 2023). Yapılan farklı bir çalışmada, 3 haftalık sıçanlara 3 gün süre ile oral olarak 250mg/kg PA uygulaması yapılmıştır. Propiyonik asit ($0,04 \pm 0,00809$) grubu GSH değerlerinde kontrol ($0,04 \pm 0,0012$) grubuna göre azalma olduğunu belirtmiştir (al tamimi ve diğerleri, 2022). Benzer olarak yapılan bir çalışmada, PA grubunun GSH seviyesi kontrol grubuna göre %22,65 daha düşük olduğu bildirilmiştir (Bukhari ve diğerleri, 2020). Yapılan farklı bir çalışmada PA ($11,42 \pm 0,153$) uygulaması yapılan deneysel sıçanların GSH seviyesinin kontrole ($32,43 \pm 0,189$) göre önemli ölçüde azaldığını belirtmiştir (Khera ve diğerleri, 2022). Yine yapılan farklı bir çalışmada PA grubunda GSH seviyesinde kontrol grubuna göre azalma olduğu belirtilmiştir (MACFABE ve diğerleri, 2007a). MacFabe ve diğerlerinin (2015) yapmış olduğu bir çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak OSB'li

bireylerin beyin dokusunda anormal GSH seviyesinde artış olduğunu belirtmiştir (MacFabe, 2015a). Bu sonuçlara bakıldığı zaman literetürde farklı sonuçlar olduğu görülmektedir. Yapılan tez çalışmasında da PA ($212,39 \pm 34,30$) grubunda GSH seviyesinin kontrol ($191,12 \pm 39,14$) grubuna göre azalma olmadığı görülmüştür. Bu sonuç MacFabe'nin çalışmasına benzer olduğu görülmektedir. Serum GSH seviyesindeki artışın nedeni akut inflamasyon ve toksik maruziyetinden kaynaklanmaktadır. Propiyonik asit kaynaklı toksifikasyon beslenme takviyesi alan arı sütü, arı ekmeği, propolis ve w-3 yağ asidi gruplarda daha düşük seviyede olduğunun göstergesi olduğu değerlendirilmektedir.

Toplam antioksidan durumu, plazma ve vücut sıvılarında bulunan tüm antioksidanların toplam etkisini yansıtan bir göstergedir (Aslan ve diğerleri, 2014). Otizm spektrum bozukluğu olan kişilerde serum TAS düzeyi düşüklüğü görülmektedir (Bonomini diğerleri., 2022b). Al-Omari ve diğerlerinin (2016) yaşları 7-18 arasında değişen 25 birey üzerinde yapılan çalışma serum TAS seviyelerinin normal (0,76) bireylerin OSB'lilere (0,42) göre anlamlı derece yüksek olduğunu belirtmiştir (Ozturk ve diğerleri, 2016). Yapılan farklı bir çalışmada OSB'li ($1,13 \pm 0,11$) bireylerin serum TAS seviyesinin normal ($1,26 \pm 0,10$) bireylerden daha düşük olduğunu belirtmiştir (Uğur ve diğerleri, 2017). Yapılan tez çalışmasında arı ekmeği ($2,29 \pm 0,73$), arı sütü ($2,26 \pm 0,45$), propolis ($2,17 \pm 0,15$) gibi apiterapi ve w-3 yağ asidi ($2,21 \pm 0,53$) gruplarında TAS seviyelerinde kontrol ($2,08 \pm 0,21$) ve PA ($2,08 \pm 0,08$) gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Toplam antioksidan durumunun apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması ile diğer SOD ve diğer antioksidan değerlerine sinerjist etki yaptığı değerlendirilmektedir. Bu sayede apiterapi ve w-3 yağ asidi besin takviyesinin antioksidan mekanizmasını düzelterek doku hasrını indirmiş olabilir. Azalmış serum SOD seviyesi ile gösterildiği gibi, düşük detoksifiye etme kapasitesi ile bağlantılı olarak serum TAS düzeylerinin OSB'nin karakteristik davranışsal semptomlarına katkıda bulunabilir.

Malondialdehit, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun biyobelirtecidir. Serbest radikallerdeki artış, MDA'nın aşırı üretimine neden olur. Malondialdehit seviyesi, hastalıklarda oksidatif stres ve antioksidan durumunun bir belirteci kullanılmaktadır (Premkumar ve diğerleri, 2023). Otistik bireylerin MDA düzeylerinde düzensizlik olduğu belirtilmektedir (Altun diğerleri., 2018). MDA oksidatif stresin yaygın bir göstergesi yanında, kırmızı kan hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar ve hipokampal nöronlar dahil olmak üzere farklı hücre türleri üzerinde toksik etkilere sahiptir (Chen ve

diğerleri 2011). Bu nedenle MDA, vücutta reaktif oksijen türlerinden çok daha uzun ömürlü, oldukça nörotoksik bir bileşik olduğu için otizm spektrum bozukluğunun patofizyolojisine müdahale edebilir. Beyin fonksiyonlarını bozar ve 2 mekanizma ile hücre ölümüne neden olur: apoptoz ve nekroz (Yui ve Diğerleri, 2020). Ayrıca kortikal nöronlarda hasara neden olur; Karbonil stresi, proteinleri çapraz bağlayarak ve mitokondriyal zarı depolarize ederek, Kalsiyum akışını, kalsiyum aşırı yüklenmesini, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesinin yanı sıra programlanmış hücre ölümü sinyal yolunu aktive ederek nöronal hasara yol açar. Bu nedenle, hücrelerde artan birikimi, otizm spektrum bozukluğunun yanı sıra çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ortaya neden olabilir. (Chen ve diğerleri 2011). Yapılan bir çalışmada, MDA seviyelerinde ($\sim 0,32 \rightarrow 0,38$) önemli bir artış gözlemlendiği belirtilmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan farklı bir çalışmada benzer olarak OSB'li grupta normal gruba göre MDA düzeyinde artış olduğu belirtilmiştir. Kısmet ve diğerlerinin (2017) yapmış olduğu çalışmada MDA düzeyinde artış olduğu, ek olarak 100 ve 200 mg/kg/gün propolis tedavisi sonucunda serum ve doku MDA değerlerinde anlamlı bir düşüş olduğunu belirtmiştir (Kismet ve diğerleri, 2017). Yapılan tez çalışmasında MDA düzeyi PA ($0,73 \pm 0,06$) grubunda kontrol ($0,64 \pm 0,13$) grubuna göre belirgin artış olduğu tespit edilmiştir. Arı ekmeği ($0,72 \pm 0,07$), arı sütü ($0,65 \pm 0,08$) ve w- 3 ($0,69 \pm 0,13$), gruplarında PA grubuna göre daha düşük MDA seviyesi tespit edilmiştir. Bu durum yüksek MDA düzeyi oluşan bozulmuş beyin ve doku hasarının arı ekmeği, arı sütü ve w-3 yağ asidi gruplarında düzeldiğinin bir göstergesi olabilir. Ek olarak artmış MDA düzeyi kalsiyum metabolizmasını da olumsuz etkileyerek akut artışa neden olduğu değerlendirilmektedir.

Glutatyon-S-transferaz, memelilerde birçok farklı ksenobiyotiğin detoksikasyonunda önemli olan bir grup enzimdir. Glutatyonun tiyol grubunu elektrofilik ksenobiyotiklere bağlayarak hücreleri toksik maddelere karşı korur ve böylece hücreleri bileşiklerin mutajenik, kanserojen ve toksik etkilerine karşı savunur (Balcı ve diğerleri, 2019). Literatur incelendiğinde benzer sonuçlar olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, 3 gün süreyle oral yoldan PA ($\sim 310 \rightarrow 225$) uygulaması yapılan sıçanların serum GST seviyesinde azalma olduğu belirtilmiştir. Ek olarak, 250mg/kg arı poleni (~ 300) uygulaması yapılan grupları GST seviyesinde önemli artışlara neden olduğunu bildirmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan benzer bir çalışmada PA uygulaması yapılan erkek ($18 \rightarrow 10$ U/mmol) sıçanların GST seviyesinde azalma olurken, dişi sıçanlarda azalma gözlenmediğini bildirmiştir (Abuaish ve diğerleri, 2022). Yapılan tez çalışmasında gruplar farklı beslenme tedavisi yapılan grupların serum GST düzeyine bakılmıştır. Propiyonik asit ($15,81 \pm 2,47$) grubu

serum GST düzeyi kontrol ($15,10 \pm 1,06$) grubuyla benzer olduğu görülmüştür. Arı sütü ($19,05 \pm 2,93$), w-3 yağ asidi ($17,08 \pm 2,88$) ve propolis ($19,51 \pm 2,54$) gruplarında yer alan sıçanların serum GST düzeylerinde belirgin ($\sim 26,6\%$) artış olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar PA kaynaklı artmış nörotoksik oksidatif stres, beslenme apiterapi ve w-3 tedavisiyle oluşan daha yüksek serum GST düzeyi, beyni belirli bir düzeye kadar nörotoksiteden koruyabilir

Glutasyon peroksidaz, organizmayı oksidatif hasardan koruyan olan enzim ailesinin genel adıdır (Nayan ve diğerleri, 2020). 74 yetişkin erkek Long–Evans türü sıçan üzerinde yapılan deneyde, PA uygulaması sonucunda doku ve serum GPx ($\sim 79 \rightarrow 68$ U/mg) değerlerinde azalma olduğu bildirilmiştir (Macfabe ve diğerleri, 2007b). Yapılan tez çalışmasında 3 gün süreyle PA uygulaması ($17,21 \pm 1,18$) yapılan gruplarda kontrol ($18,73 \pm 1,78$) grubuna göre serum GPx değerlerinde azalmalar olduğu görülmüştür. Bu durum PA uygulamasına bağlı olarak vücutta oksidatif stresin arttığına bir göstergesi olabilir. Ek olarak, 4 hafta 250mg/kg propolis ($18,49 \pm 3,13$) uygulaması yapılan grupta GPx değerinin diğer gruplara göre daha yüksek ($\sim 7,5\%$) olduğu görülmüştür. Bunun nedeni propolisin yüksek antioksidan içeriğinden kaynaklandığı değerlendirilmektedir. Propolis uygulaması yapılan sıçanların GPx aktivitesindeki önemli artış, propolisin otizm hücre dizilerindeki endojen antioksidan enzimlerin aktivitesini modüle etme ve eski haline getirme kapasitesini göstergesi olabilir.

Süperoksit dismutaz, yaşamın tüm evresinde bulunan bir grup metalloenzimdir. SOD'ler, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aracılık ettiği yaralanmalara karşı ön savunma hattını oluşturur. Bu proteinler, süperoksit anyon serbest radikalının (O_2^-) moleküler oksijen ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dismutasyonunu katalize eder ve aşırı konsantrasyonda hücrelere zarar veren O_2^- seviyesini düşürür (Younus, 2018). Yapılan bir çalışmada,, 11 günlük PA uygulaması sonucunda sıçanların serum SOD düzeyinde düşüş olduğu belirtilmiştir (Tiwari ve diğerleri, 2021). Yapılan farklı bir çalışmada da benzer olarak PA ($469,30 \pm 0,756 \rightarrow 320,90 \pm 0,540$) uygulamasının SOD seviyesini azalttığı belirtilmiştir (Khera ve diğerleri, 2022). Elhefnawi ve diğerlerinin (2023) yapmış olduğu çalışmada 5 gün süreyle 500mg/kg PA uygulaması sonucunda farklı zaman aralıklarında ölçülen SOD değerlerinde azalma olduğu bildirilmiştir (Elhefnawi ve diğerleri, 2023). Klinik bir çalışmada OSB'li bireylerde daha düşük SOD seviyesi olduğu bildirilmektedir (Nayan ve diğerleri, 2020). Yapılan tez çalışmasında da literatüre benzer olarak PA ($2,43 \pm 0,49$) grubunda kontrol ($2,83 \pm 0,86$) grubuna göre serum SOD seviyesinde belirgin azalma olduğu görülmüştür. Ek olarak, w-3 yağ asidi ($3,45 \pm 0,26$) ve propolis ($3,69 \pm 0,16$) gruplarında belirgin düzeltilmeler olduğu tespit

edilmiştir. Bu sonuçlar w-3 yağ asidi ve propolisin PA kaynaklı bozulmuş olan enzimatik antioksidan aktivitesini düzelttiği değerlendirilmektedir. Omega-3 yağ asidi uygulaması yapıla sıçanların SOD aktivitesindeki önemli artış, w-3 yağ asidinin otizm hücre dizilerindeki endojen antioksidan enzimlerin aktivitesini modüle etme ve eski haline getirme kapasitesini göstergesi olabilir.

Katalaz enzimi, su ve oksijen üretmek için hücresel hidrojen peroksidi yok ederek oksidatif stresi önemli ölçüde azaltan çok önemli antioksidan enzimlerden biridir. Katalaz eksikliği veya arızasının, diabetes mellitus, hipertansiyon, anemi, vitiligonun yanısıra; Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, bipolar bozukluk gibi birçok dejeneratif hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır (Nandi ve diğerleri, 2019). Al- Salem ve diğerlerinin (2020) yapmış olduğu bir çalışmada PA (PA: ~10, K: ~12) uygulaması yapılan sıçaların beyin hojenatında katalaz seviyesinde önemli azalma olduğunu belirtmiştir. Ek olarak, arı poleni (~11,8) ile tedavi edilen grupların katalaz düzeyinde artışlar olduğunu belirtmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan farklı bir çalışmada PA uygulaması sonucunda sıçanların katalaz düzeylerinde azalma olduğu belirtilmiştir (MacFabe, 2015b). Western albino sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, üç gün süreyle 250mg/kg PA (K: $4,42 \pm 0,33$, PA: $12,7 \pm 1,45$) uygulaması sonucunda katalaz aktivitesinde azalma olduğu bildirilmiştir (El-Ansary ve diğerleri, 2012a). Yapılan birçok klinik insan çalışmasında OSB'li bireylerin kalataz düzeyinin düşük olduğu bildirilmiştir (Ghanizadeh, 2011; MacFabe, Rodríguez-Capote, ve diğerleri, 2008; Tu ve diğerleri, 2012). Yapılan tez çalışmasında PA ($20,68 \pm 1,20$) grubunda kontrol ($21,76 \pm 3,56$) grubuna göre katalaz düzeyinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Arı ekmeği ($22,08 \pm 5,35$) ve w-3 yağ asidi ($18,94 \pm 1,07$) gruplarında düzelme tespit edilememiştir. Fakat arı sütü ($22,08 \pm 5,35$) ve propolis ($24,86 \pm 1,67$) gruplarında katalaz düzeyleri PA grubuna göre sırasıyla ~%7 ve ~%20 oranında artış olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar propolis ve arı sütünün PA kaynaklı katalaz enzimindeki azalmaya karşı güçlü bir aktivite göstermiştir. Propolis ve arı sütü takviyesi CAT aktivitesindeki artışın adaptif bir role sahip olması OSB patogenezi olan mitokondride artmış ROS'a karşı daha iyi savunma gösterdiği değerlendirilmektedir.

Tüm vitaminler arasında C vitamini en çok çalışılan ve güçlü antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir. Ana hidrofilik ROS-detoksifiye edici bileşik olan VC, sulu fazda çok çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarda elektronları vermektedir (Liguori ve diğerleri, 2018). C vitamini, OSB semptomların şiddetini azaltmada ve davranış

bozukluğunu iyileştirmede başta antioksidan içeren gıdalar olmak üzere diyet ajanlarının olası rolü hakkında artan bilimsel kanıtlar bulunmaktadır (Cömert ve Gökmen, 2020). Literatüre bakıldığında zaman farklı sonuçlar olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, PA ($0,18 \pm 0,03$) uygulaması yapılan sıçanların askorbik asit seviyelerinin kontrol ($20,51 \pm 1,31$) grubuna göre azalma olduğu ve 250mg/kg arı poleni ile beslenen gruplarda c vitamini seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2020). Yapılan farklı bir çalışmada serum askorbik asit seviyesinin 3 gün süreyle 250 mg/kg PA (K: $25,83 \pm 1,40$, PA: $25,07 \pm 2,08$) uygulaması yapılan sıçanlarda farklılık gözlenmediğini bildirmiştir (Bukhari ve diğerleri, 2020). Yapılan tez çalışmasında 3 gün süreyle PA (K: $29,74 \pm 4,05$, PA: $21,19 \pm 2,19$) uygulaması sonucunda serum VC düzeyinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, arı sütü ($30,17 \pm 7,38$), arı ekmeği ($29,14 \pm 6,08$), propolis ($23,74 \pm 4,57$) ve w-3 yağ asidi ($1,49 \pm 0,38$) gruplarında VC düzeylerinde artış olduğu görülmüştür. Bu değerler Al-Salem ve diğerlerinin (2020) yapmış olduğu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Apiterapi ve w-3 yağ asidi beslenme tedavisi yapılan bütün gruplarda askorbik asit seviyesinde artış sonucu OSB kaynaklı azalmış olan uyku, rahatlama ve pozitif ruh halinden sorumlu nörotransmitter seviyelerini yükselttiği değerlendirilmektedir. Ek olarak takviye sonucu artmış askorbik asit CRP (C-reaktif protein) seviyesinin düşmesine yardımcı olarak CRP ile ilişkilendirilen IL-6 inflamatuvar sitokin seviyesinde azalma sağladığı değerlendirilmektedir.

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve birikimi arasındaki dengedeki bir bozukluğu yansıtır. Reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonu fazla olduğunda, proteinler, lipitler ve DNA'da oksidatif hasar meydana gelir ve böylece yapısal ve fonksiyonel hücresel değişikliklere neden olur. DNA hasarı genellikle esas olarak baz eksizyon onarım yolu ile onarılır ve oksitlenmiş ürünler idrarla atılır. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin, DNA'nın oksidatif hasarı en iyi biyobelirteçlerden biri olarak kabul edilmektedir (Graille ve diğerleri, 2020). Yapılan bir çalışmada, sıçanlara 37.5, 50 ve 75mg/kg propiyonat uygulaması sonucunda 8-OHdG seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (Cheng ve diğerleri, 2019). Yaşları ortalaması 7.5 olan 45 OSB'li çocuk üzerinde yapılan klinik bir çalışmada, çocukların 8-OHdG seviyesi kontrol (OSB: ~ 15 ng/ml, K: $\sim 0,6$ ng/ml) gruba anlamlı derece daha yüksek olduğu belirtilmiştir (González-Fraguela, 2013). Yapılan benzer bir çalışmada 51 OSB'li çocukların idrarlarındaki 8-OHdG seviyesi ölçüldüğünde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirtilmiştir (Zaky ve diğerleri, 2023). Yapılan tez çalışmasında literatüre benzer olarak PA ($2,21 \pm 0,03$) grubu 8-OHdG seviyesi kontrol ($1,43 \pm 0,26$) grubuna göre

anlamli derecede daha yu'ksek oldu'gu go'ru'mu'stu'ru ($p<0,05$). Ek olarak, w-3 ya'g asidi ($1,49\pm0,38$) grubu PA grubuna go're 8-OHdG seviyesinde anlamli derecede azalmalar oldu'gu go'ru'mu'stu'ru ($p<0,05$). Ayrica' b'u'tu'n apiterapi (AS: $1,69\pm0,12$, AE: $1,89\pm0,28$, pro: $1,83\pm0,10$) gruplarında da 8-OHdG seviyesinin PA grubuna go're daha du'su'k oldu'gu go'ru'mu'stu'ru. Bu sonu'clara go're apiterapi ve w-3 ya'g asidi tedavisinin PA kaynaklı artmi's lipid peroksidasyonu nedeniyle DNA hasarının onarıldı'ğının bir go'stergesidir.

Glutasyon, hu'crelerde en bol bulunan du'su'k molek'u'ler ku'tleli tiyoldu'ru ve v'u'cut sıvılarındaki ba'slıca antioksidan bile'şiklerden biridir. Pro-oksidan ko'sullar altında, iki GSH molek'u'lu birer elektron verir ve glutasyon disu'lfu're do'n'u'stu'ru'lu'ru. GSH/GSSG molar oranı, oksidatif stres ve hastalık riskinin gu'clu' bir indeksi olarak kabul edilmektedir. (Giustarini ve di'ğerleri, 2016). Otizm spektrum bozuklu'ğ u olan 15 bireyi hedef alan bir klinik çalışmada doku GSSG seviyesinde kontrol grubuna kıyasla %19 oranında daha yu'ksek oldu'gu belirtilmi'stir (Rose ve di'ğerleri, 2012). Yapılan farklı bir çalışmada OSB'li çocukların serum GSSG seviyesinin kontrol grubuna go're daha yu'ksek oldu'ğ u n u bildir mi'stir. Ek olarak, klinik araştırmalarda biyolojik sistemlerde oksidatif stres durumunun de'ğ erlendirilmesi yaygın olarak kullanılan GSH/GSSG oranının OSB'li grupta kontrol grubuna go're daha du'su'k oldu'ğ u n u belirt mi'stir (Faber ve di'ğerleri, 2019). Yapılan farklı bir çalışmada OSB'li bireylerin (40,6) serum GSSG seviyesi normal (14,6) bireylerden 3 kat daha yu'ksek ve GSH/GSSG (OSB: 0,3, n: 1,2) oranının ise %75 daha du'su'k oldu'ğ u n u belirt mi'stir (Han ve di'ğerleri, 2015). Yapılan otizm hayvan modeli çalışmasında serum GSH/GSSG oranında azalma oldu'ğ u n u bildir mi'stir (Uddin ve di'ğerleri, 2023). Yapılan tez çalışmasında literatu're benzer olarak 3 gu'n su'reyle 250mg/kg PA (K: $44,34\pm9,51$, PA: $50,05\pm8,58$) uygulaması sonucunda serum GSSG seviyesinde artış (~%13) oldu'ğ u tespit edil mi'stir. Ek olarak, arı su'tu ($41,1\pm4,64$), arı ekme'ğ i ($40,75\pm7,96$), propolis ($46,16\pm10,16$) ve w-3 ya'g asidi ($41,81\pm8,98$) gruplarının tamamında PA grubuna go're serum GSSG du'zeyinde belirgin du'su's oldu'ğ u go'ru'mu'stu'ru (~%8-19). Ayrica' serum GSH/GSSG oranına bakıldı'ğ u zaman kontrol ($4,42\pm0,99$) ve PA ($4,24\pm0,74$) arasında farklılık olmadı'ğ u go'ru'mu'stu'ru. Bunun nedeni PA grubunda GSH seviyesinin yu'ksek olması nedeniyle olmu'stur. Omega-3 ya'g asidi ($4,65\pm1,07$) ve arı ekme'ğ i ($4,45\pm0,88$) gruplarında serum GSH/GSSG oranının di'ğ er tu'm gruplardan daha yu'ksek oldu'ğ u go'ru'mu'stu'ru. Propiyonik asit seviyesindeki artışın beyin dokularında GSSG seviyesini du'su'rerek ve GSH/GSSG oranını arttıarak oksidatif strese neden olmu's olsa da apiterapi ve tedavisi ile belirgin iyileşmeler olmu's olabilir.

5.4. Otizm Spektrum Bozukluğunda Apiterapi Takviyesinin İnflamatuvar Seviye Üzerine Etkileri

Yapılan tez çalışmasında intörlökin seviyelerini yorumlamak için serum IL-10, IL-6, IL-1 β , TNF- α ve Kaspaz-1 değerleri incelenmiştir.

Antiinflamatuvar sitokin çeşidi olan İnterlökin-10 patojenlere karşı bağışıklık tepkisini sınırlayarak ve böylece konakçının zarar görmesini önleyerek enfeksiyon durumunda önemli görev yapmaktadır (Edwards ve diğerleri, 2023). Literatüre bakıldığında zaman farklı sonuçlar olduğu görülmektedir. Aabed ve diğerlerinin (2019) sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada 250mg/kg PA ($76,76 \pm 36,44$) uygulaması yapılan grupların IL-10 düzeyinin kontrol ($213,86 \pm 212,98$) grubuna göre daha düşük (%64) ve ek olarak arı poleni ($94,08 \pm 28,87$) ve propolis ($231,39 \pm 270,26$) alan gruplarda iyileşmeler olduğunu belirtmiştir (Aabed ve diğerleri, 2019). Yapılan farklı bir çalışmada PA (~140) grubunun salin (~142) grubuna göre farklılık olmadığını belirtmiştir. Ek olarak, erkek farelerin dişilere göre daha yüksek seviyede IL-10 değerine sahip olduğunu bildirmiştir (Abuaish ve diğerleri, 2022). Yapılan tez çalışmasında da PA ($74,66 \pm 6,25$), kontrol ($73,22 \pm 7,76$) ve propolis ($72,64 \pm 12,34$) grupları arasında farklılık tespit edilmemiştir. Fakat arı sütü, arı ekmeği ve w-3 gruplarında serum IL-10 seviyesinde azalma tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada ek olarak IL-10/IL-1 β oranı en yüksek PA (9,16) grubunda, apiterapi ve w-3 yağ asidi (K: 9.98, AS: 9.35, AE: 10.96, Pr: 11.18, W-3: 9.76) gruplarında değerin PA'dan düşük olduğu görülmüştür. Bu değerlere göre PA kaynaklı bozulmuş inflamasyonun düzeltmiş olabilir (Lopez-Castejon ve Brough; 2011).

Proinflamatuvar sitokin çeşidi olan IL-6, CRP gibi akut faz proteinlerinin uyarıcısıdır (Kishimoto ve Kang, 2022). Yapılan farklı çalışmalarda PA uygulaması yapılan sıçanlarda infalmatuar sitokin olan IL-6 seviyesinde kontrol grubuna göre artış olduğu görülmüştür (El-Ansary ve diğerleri, 2012b; MacFabe, 2012). Yapılan farklı çalışmada da benzer şekilde 3 gün 250mg/kg PA uygulamasının IL-6 seviyesinde azalmalara neden olduğunu belirtmiştir (Al tamimi ve diğerleri, 2022). Yapılan çalışmada PA ($3,14 \pm 0,23$) grubu sıçanların IL-6 seviyeleri kontrol ($2,91 \pm 0,16$) grubuna göre artış göstermiştir. Arı sütü ($3,14 \pm 0,62$) hariç tüm gruplarda PA grubuna göre daha düşük IL-6 seviyesi tespit edilmiştir. Bu sonuçlar literatür ile benzer sonuçlar göstermektedir. Ayrıca apiterapi ve w-3 yağ asidi ($2,57 \pm 0,47$) uygulamasının IL-6 seviyesindeki azalma sayesinde OSB'nin etkilerini düzeltmiş olabilir.

IL-6, iltihabi reaksiyonlar sırasında kanda miktarı artan ve karaciğer ile yağ hücreleri tarafından üretilen CRP seviyesinde düzelmeye yardımcı olduğu değerlendirilmektedir. Bu sonuçlara göre apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması PA kaynaklı bozulmuş karaciğer hücrelerini azalttığı değerlendirilmektedir.

İnterlökin-1 β , enfeksiyon ve yaralanmaya karşı konak savunma yanıtları için çok önemli olan güçlü bir proinflamatuvar sitokindir (Bertoni ve diğerleri, 2022). Bu sitokin, kaspaz 1 (CASP1/ICE) tarafından aktif formuna proteolitik olarak işlenen bir proprotein olarak aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir. Bu sitokin, enflamatuvar yanıtın önemli bir aracısıdır ve hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli hücresel aktivitelerde yer alır. Merkezi sinir sisteminde (MSS) bu sitokin tarafından siklooksijenaz-2'nin (PTGS2/COX2) uyarılmasının, enflamatuvar ağrı aşırı duyarlılığına katkı sağlar (Pretre ve diğerleri, 2022). 18 wistar türü dişi ve erkek üzürinde yapılan bir çalışmada, 11 gün süreyle PA ($12,48 \pm 0,54$, $12,56 \pm 0,79 \rightarrow 25,90 \pm 0,37$) uygulaması yapılması sonucunda IL-1 β değerlerinde artış olduğu bildirilmiştir (Tiwari ve diğerleri, 2021). Yapılan farklı bir çalışmada benzer şekilde 11 günlük PA ($16,58 \pm 0,147 \rightarrow 92,29 \pm 0,120$) uygulaması sonucunda IL-1 β değerlerinde artış olduğu bildirilmiştir (Khera ve diğerleri, 2022). Yapılan tez çalışmasında literature benzer olarak PA ($8,15 \pm 1,02$) grubunda IL-1 β seviyesi kontrol ($7,34 \pm 0,55$) grubuna göre ~%11 oranında artış olduğu görülmüştür. Bu değerlere göre PA uygulamasının proinflamatuvar sitokin seviyesinin OSB'ye benzer şekilde artış olduğu görülmüştür. Ek olarak, apiterapi (AS: $6,95 \pm 1,04$, AE: $5,84 \pm 0,87$, pro: $6,50 \pm 1,23$) ve w-3 yağ asidi ($6,86 \pm 1,77$) gruplarının tamamında IL-1 β değerlerinde düzelme olduğu görülmüştür. En düşük değer arı ekmeği grubunda olduğu görülmektedir. Bunun nedeni arı ekmeğinin yüksek antioksidan kapasitesinden kaynaklanmaktadır. Apiterapi ve w-3 yağ asidi besin takviyesi yapılan grupların tamamında OSB'de önemli bir sitokin biyobelirteç olan IL-1 β proinflamatuvar durumun bir yansıması olarak bozulmuş bağışıklık sistemini düzeltmeye yardımcı olduğu değerlendirilmektedir.

Tümör nekroz faktörü- α , makrofajlar, monositler ve T hücreleri tarafından eksprese edilen bir sitokindir. Ekspresyonu, patojenlere ve bunların endotoksinler gibi ürünlerine yanıt olarak bağışıklık sistemi tarafından tetiklenir. TNF- α , fagositler ve sitosital sistem aktivasyonu gibi inflamatuvar reaksiyonları indükleyerek konak savunmasında önemli bir rol oynar (Kitaura ve diğerleri, 2022). İnflamatuvar sitokinler OSB etiolojisinde immünolojik etkileri bulunur. Otizm spektrum bozukluğunda, TNF- α seviyesindeki artış

sebebiyle immün bozukluğu oluşmaktadır (Xie diğerleri., 2017).Yapılan bir çalışmada, 11 günlük PA ($30,73 \pm 0,440 \rightarrow 102,00 \pm 0,389$) uygulaması sonucunda TNF- α değerlerinde artış olduğu bildirilmiştir (Khera ve diğerleri, 2022). Choi ve diğerlerinin (2018) yapmış olduğu çalışmada 500mg/kg PA uygulaması sonucunda TNF- α ($\sim 0,6 \rightarrow 0,8$) değerinde belirgin artış olduğu bildirilmiştir (Choi ve diğerleri, 2018b). Yine yapılan farklı bir çalışmada PA uygulaması sonucunda sıçanların TNF- α değerlerinde %15,22 artış olduğu bildirilmiştir (Aabed, Bhat, ve diğerleri, 2019). Yapılan tez çalışmasında PA ($130,78 \pm 13,43$) grubunda serum TNF- α değeri kontrol ($114,44 \pm 4,05$) grubuna göre yaklaşık olarak %20 oranında artış olduğu görülmüştür. Beslenme tedavisi yapılan tüm gruplarda (AS: $100,56 \pm 12,57$, AE: $114,93 \pm 14,17$, pro: $112,54 \pm 14,64$, w-3 $103,58 \pm 21,05$) TNF- α değeri kontrol ve PA grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, propolis grubu kontrol ve PA grubuna göre, ve arı ekmeği kontrol grubuna göre anlamlı derecede düzelme olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bunun nedeni apiterapi ürünlerinin içerdiği antioksidan içeriğinin yüksek stres durumunu azaltması olabilir. Apiterapi ve w-3 yağ asidi besin takviyesi yapılan grupların tamamında OSB’de önemli bir sitokin biyobelirteç olan TNF- α proinflamatuvar durumun bir yansıması olarak bozulmuş bağışıklık sistemini düzeltmeye yardımcı olduğu değerlendirilmektedir.

Kaspaz-1, inflamatuvar kaspazdır. İnflamasom, enfeksiyonlara veya hücrel hasarlara karşı inflamatuvar yanıtı başlatmayı amaçlayan sitozolik bir multiprotein kompleksi oluşumudur. Kaspaz-1’in otomatik aktivasyonuna ve bunun sonucunda interlekin IL-1 β ve IL-18 gibi kaspaz-1 hedef moleküllerinin olgunlaşmasını sağlar. Literature bakıldığı zaman propiyonik asit uygulamasının farklı sonuçlara neden olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, PA (PA: $150,93 \pm 0,91$, K: $100,32 \pm 0,52$) maruziyeti sonucunda sıçaların beyin kaspaz seviyesinde artış olduğu ifade edilmiştir (Tiwari ve diğerleri, 2021). Yapılan farklı bir çalışmada kaspaz değeri için PA grubunun kontrol grubu arasında fark olmadığı bildirilmiştir (MacFabe, 2015b). Macfabe ve diğerlerinin (2007) yapmış olduğu bir çalışmada PA uygulaması yapılan sıçanların beyin hipokampusünde farklılaşma olmasına rağmen kaspaz değerinde fark gözlenmediğini bildirmiştir (Macfabe ve diğerleri, 2007a). Khera ve diğerlerinin (2022) yapmış olduğu çalışmada PA’nın etksi sıçanların beyin dokusu ve serumda incelenmiştir. PA’nın kaspaz (K: $105,30 \pm 0,454$, PA: $159,90 \pm 0,549$) değerini arttırdığını belirtmiştir (Khera ve diğerleri, 2022). Ek olarak, yapılan farklı çalışmalarda da PA (PA: $134,79$, K: $112,66$) uygulamasının kaspaz değrenin arttığını bildirmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2016; El-Ansary ve diğerleri, 2012a). Polen ($124,23 \pm 2,89$) uygulamasının kaspaz değerini

düzeltiliği belirtilmiştir (Al-Salem ve diğerleri, 2016). Yapılan tez çalışmasında 3 gün süreyle PA ($51,21 \pm 5,07$) uygulaması sonucunda serum kaspaz-1 değeri kontrol ($48,83 \pm 3,1$) grubuna göre artış olduğu görülmüştür. Kaspaz-1 seviyesindeki artış beyin dokusunun ölümünün göstergesi olabilir. Ek olarak, arı sütü başta olmak üzere tüm (AS: $34,94 \pm 3,21$, AE: $41,02 \pm 4,49$, pro: $49,85 \pm 3,05$, w-3 $45,99 \pm 6,45$) gruplarda kaspaz-1 seviyesinin (%32-3) düştüğü görülmüştür. Apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması PA kaynaklı hücre apoptozunu azalttığına göstergesi olabilir.

5.5. Otizm Spektrum Bozukluğunda Apiterapi ve Omega-3 Yağ Asidi Takviyesinin Fekal *Clostridium spp.* ve *Laktobasiller* Bakteri Sayısı Üzerine Etkileri

Bağırsak mikrobiyotasının bozulması otizm ile ilişkilendirilmektedir. (Abed, Shafi Bhat, ve diğerleri, 2019). Bağırsak mikrobiyotası ve metabolitlerinin disbiyozu OSB gibi nörogelişimsel bozukluğa neden olmaktadır (El-Ansary ve diğerleri, 2018). Yapılan bir çalışmada, 3 gün süreyle 250mg/kg PA uygulaması yapılan hamsterlerin fekal örneklerindeki toplam bakteri düzeyinde azalma (K: $120,5 \pm 0,5$, PA: 95 ± 5) olduğu belirtilmiştir. Fakat *Clostridium spp.* Bakteri suşunda artış olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, 3 hafta propolis tedavisinin toplam gut bakteri sayısında (300 ± 0) artış olduğu belirtilmiştir (Abed, Shafi Bhat, ve diğerleri, 2019). Yapılan farklı bir çalışmada 250mg/kg PA uygulamasının gram-pozitif bakteri (*cocci* ya da *bacilli*), *Clostridium spp.* sayısında azalma, *Staphylococcus aureus* sayısında artış ve Enterobacteriaceae (gram-negatif) sayısında değişme olmadığı bildirilmiştir. Ek olarak, w-3 yağ asidi uygulaması sonucu gram-pozitif bakteri (*cocci* yada *bacilli*), *Staphylococcus aureus* sayısında artış ve Enterobacteriaceae (gram-negatif) sayısının tespit edilemediği bildirilmiştir (Alfawaz ve diğerleri, 2018). Yapılan farklı bir çalışmada PA uygulamasının Candida albicans ve clostridia türlerinin büyümesini desteklediği bildirilmiştir (El-Ansary ve diğerleri, 2018). Yapılan tez çalışmasında PA uygulaması ($6633,62 \pm 11489,02$) sonucunda fekal *Laktobasiller* ($8797,50 \pm 8942,23$) sayısında kontrol grubuna göre azalma (~%25) olduğu görülmüştür. Ek olarak, arı ekmegi ($14220,00 \pm 12240,38$), propolis ($19329,00 \pm 16577,45$) ve w-3 yağ asidi ($19908,57 \pm 17085,82$) gruplarında belirgin artışlar olduğu görülmüştür. Apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması yapılan grupların tamamında *Laktobasiller ruteri* düzeyindeki artış ile OSB patogenezinde görülen bağırsak problemlerini ve sosyal davranışı da iyileştirdiği değerlendirilmektedir. Apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması yapılan grupların bağırsak doku örneklerinde hasarın PA grubuna göre daha düşük olması bu sonuçları

desteklemektedir. *Clostridium spp.* değerlerine göre bütün grupların (AS: 25068,25±41851,99, AE: 50775,67±75829,46, pro: 18333,33±7637,63, w-3: 4911,87±9809,16) bakteri sayısı PA'dan (3,83±0,14) yüksek olduğu görülmüştür. En yüksek *Clostridium spp.* sayısı propolis ve arı ekmeği gruplarında olduğu görülmüştür. Ek olarak, apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarında kontrol grubuna göre de daha yüksek sayıda *Clostridium spp.* Bakteri tespit edilmiştir. Toplam bakteri açısından apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulamasının olumlu etkisi tespit edilmiş ve bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

5.6. Sıçanların Apiterapi ve W-3 Yağ Asidi Gruplarına Göre Serum 8-OHdG Düzeyi ile Serum Antioksidan ve İnflamatuvar Seviye Arasındaki İlişki

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve birikimi arasındaki dengedeki bir bozukluğu yansıtır. Reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonu fazla olduğunda, proteinler, lipitler ve DNA'da oksidatif hasar meydana gelir ve böylece yapısal ve fonksiyonel hücresel değişikliklere neden olur. DNA hasarı genellikle esas olarak baz eksizyon onarım yolu ile onarılır ve oksitlenmiş ürünler idrarla atılır. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin, DNA'nın oksidatif hasarı en iyi biyobelirteçlerden biri olarak kabul edilmektedir (Graille ve diğerleri, 2020). Reaktif oksijen türleri, özellikle endotel hücre hasarında bir faktör olarak hücre hasarda önemli araçtır. Kontrolsüz ROS üretimi veya azalmış antioksidan aktivite, 'oksidatif stres' olarak adlandırılan zararlı bir durumla sonuçlanır. TNF- α 'nın hem endotel hücreleri tarafından salgılandığı hem de hücre içi ROS oluşumunu arttırmaktadır (Chen ve diğerleri, 2008). Yüksek ROS nedeniyle 8-OHdG düzeyinde artış meydana gelebilir (Ock ve diğerleri, 2012). Propolis grubunun serum 8-OHdG düzeyi ile TNF- α seviyesi arasında pozitif yönlü ($r=0,998$, $p=0,041$) korelasyon bulunmuştur. Bu sonuçlara göre OSB'de görülen immün bozulması ve hücre hasarı, 8-OHdG ve TNF- α sinerjistik etki yapması nedeniyle olduğu değerlendirilmektedir.

5.7. Sıçanların Apiterapi ve W-3 Yağ Asidi Gruplarına Göre Fekal *Laktobasiller* Sayısı ile Serum Antioksidan ve İnflamatuvar Seviye Arasındaki İlişki

Bağırsak-beyin eksenini, konak bağırsak mikrobiyotasındaki bozukluğun OSB'nin nedenlerinden biri olabileceğini göstermektedir. Needham ve diğerleri (2020) bu eksenin vagus siniri, endokrin hücrelerin uyarılması, bağışıklık aracılı sinyalleme ve bağırsaktan türetilen metabolitlerin dolaşımından beyne taşınması aracılığıyla olduğunu belirtmiştir.

(Needham ve diğerleri, 2020). Vagus siniri, bağırsak mikrobiyotası ile MSS arasında doğrudan bir nöral iletişim yolu sağlamaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, MSS çalışmasını destekler. Bravo ve diğerleri (2011), *Lactobacillus* türü bakterilerin vagotomi olmayan farelerde anksiyete ve depresyonla ilgili davranışları azaltabildiğini belirtmiştir ve bu sonuç bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen nörotransmitterlerin veya diğer metabolitlerin, vagal afferent duyu nöronlarını uyararak doğrudan vagal aktiviteyi düzenleyebileceğini kanıtlamaktadır. Günther ve diğerlerinin (2015), bağırsak hücresi dökülmesinde kaspaz sinyalinin etkisini araştırdığı bir çalışmada kaspazın, enflamatuvar dökülmeye izin vererek ve enfekte hücrelerin nekroptozunu önleyerek mukozal patojenlere yanıt olarak bağırsak bariyerini korumada önemli bir rol oynadığını belirtmiştir (Günther ve diğerleri, 2015). Yapılan çalışmada, arı ekmeği grubunun fekal *Laktobasiller* sayısı ile kaspaz-1 seviyesi arasında pozitif yönlü ($r=0,999$, $p=0,033$) çok yüksek düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Bu sonuç fekal *Laktobasiller*'in kaspaz mekanizması üzerinden bağırsak geçirgenliğini azaltarak OSB'de görülen semptomların azalmasına yardımcı olacağı değerlendirilmektedir.

Oksitosin, otistik insanların kaygı semptomlarını ve göz teması kurma ve duyguları tanıma becerileri de dahil olmak üzere sosyal becerilerini geliştirmeye yardımcı olmaktadır. Bu nedenle nöropeptit oksitosin, otizm spektrum bozukluğu çalışmalarında sosyal bozulmayı azaltmak için potansiyel bir terapi olarak kullanılabilir (Sikich ve diğerleri, 2021). Testosteron seviyeleri oksitosin seviyesi ile negatif etki yapabilir (Berends ve diğerleri, 2021). Poutahidis ve diğerleri (2014) yaptığı çalışmada *Laktobasil* türü probiyotik alan hayvanların daha yüksek testosteron düzeyine sahip olduğunu belirtmiştir ($p<0,05$) (Poutahidis ve diğerleri, 2014). Yapılan çalışmada arı sütü grubunun fekal *Laktobasillerin* sayısı ile oksitosin seviyesi arasında negatif yönlü ($r=-0,996$, $p=0,004$) korelasyon bulunmuştur. Bu durumun nedeni arı sütü alan sıçanların serum testosteron seviyesinin artması sonucu oksitosin seviyesinin düşmesi olduğu değerlendirilmektedir.

5.8. Otizm Spektrum Bozukluğunda Apiterapi Takviyesinin Periferik İnflamasyon Üzerine Etkileri

180-220 gram ağırlığa sahip 30 sıçana 11 gün süreyle PA uygulaması yapılan bir çalışmada, beyin dokusunda kontrol grubuna kıyasla beyin zarı hasarı ve zayıflamış bir beyin gözlemlendiği bildirilmiştir (Tiwari ve diğerleri, 2021). Yapılan farklı bir çalışmada PA uygulaması sonucunda hipokampusta hasarlı nekrotik nöron, hasarlı mikrogial hücre, dengesiz kan

damarı, hasar görmüş kılcal damar olduğunu belirtmiştir (Lobzhanidze ve diğerleri, 2020). Elhefnawei ve diğerlerinin (2023) yapmış olduğu çalışmada PA uygulaması sonucunda hipokampusün CA3 ve CA4 bölgelerinde bölgesinde mikrogliya varlığı ve hücre yoğunluğunda belirgin kayıp ile çok sayıda koyu dejenere nörona neden olduğunu belirtmiştir. Ek olarak, serebellumda birkaç nekrotik Purkinje hücresi tespit edildiğini bildirmiştir (Elhefnawei ve diğerleri, 2023). Yapılan tez çalışmasında literatüre benzer olarak 3 gün süreyle 200mg/kg PA uygulaması sonucunda karaciğer dokularında sitoplazmik dejenerasyon, minimal kanlanma ve sinüzoidal genişleme; böbrek dokularındatübül dejenerasyonu, Bowmann kapsülü genişlemesi, atrofik glomerulus, minimal kanlanma; beyin dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde nöron dejenerasyonu, genişlemiş kan damarı, piramidal hücre tabakasında küçülmüş, hiperkromatik, distrofik nöron bulguları ve bağırsak dokusunda goblet hücresi artışı ve villus dejenerasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir. Propiyonik asit uygulaması kaynaklı bağırsak doku hasarı OSB’de görülen bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olduğu değerlendirilmektedir. Bu bozulma apiterapi ve w-3 yağ asidi gruplarının tamamında daha az olduğu görülmüş ve bu sayede OSB’de görülen davranış bozukluklarına yardımcı olacağı değerlendirilmektedir. Ek olarak, PA kaynaklı histopatolojik bulgular arı ürünlerinin iyileştirici olma yönünde etkilerinin olduğu özellikle de propolisin karaciğer, ince bağırsak ve beyin dokularında pozitif yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bunların yanında arı ekmeği ve w – 3 yağ asidi takviyesinin böbrek ve bağırsak dokuları üzerinde iyileştirici etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, propiyonik asit uygulaması sonucu oluşturulan otizm modelinin arı sütü, arı ekmeği, propolis gibi apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulamasının etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışma geniş yelpazede gerçekleştirilerek proinflatuvar, antiinflatuvar sitokin (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α), hormon (oksitosin), karaciğer enzimleri, bağırsak bakterileri (*Clostridium spp*, *Laktobasiller*) ile katalaz, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon S transferazın (GST) gibi antioksidan kapasitesi ve karaciğer, böbrek, beyin, ince bağırsak dokuları incelenmiştir.

6.1. Sonuçlar

Propiyonik asit ile otizm modeli oluşturulan sıçanlarda arı sütü, arı ekmeği, propolis gibi apiterapi ve w-3 yağ asidi tedavisinden elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

Hipotezler doğrultusunda bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- Arı sütü, arı ekmeği ve w-3 yağ asidi grupları ile PA grupları arasında ağırlık kazanımı anlamlı olarak yüksektir ($p<0,05$).
- Omega-3 yağ asidi grubu serum ALT değeri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,05$).
- Propiyonik asit grubu serum demir düzeyi arı sütü, arı ekmeği, propolis gibi apiterapi ve w-3 yağ asit gruplarından anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,05$).
- Arı sütü ve propolis gruplarının serum SOD değeri diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,05$).
- Kontrol ve w-3 gruplarının serum 8-OHdG değeri PA grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,05$).
- Arı sütü grubu Kaspaz-1 değeri kontrol, PA, ve propolis gruplarına göre anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,05$).
- Arı ekmeği grubu Kaspaz-1 değeri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,05$).
- Propiyonik asit grubu fekal *Clostridium spp.* bakteri sayısı arı sütü, arı ekmeği ve propolis gruplarına göre anlamlı olarak daha azdır ($p<0,05$).

- Böbrek dokuları PA kaynaklı tübül dejenerasyonu, Bowmann kapsülü genişlemesi, atrofik glomerulus, minimal kanlanma tespit edildi.
- Böbrek dokularında PA kaynaklı hasar, oral propolis takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- Böbrek dokularında PA kaynaklı hasar, oral arı sütü takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- Böbrek dokularında PA kaynaklı hasar, oral arı ekmeği takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- Böbrek dokularında PA kaynaklı hasar, oral w-3 yağ asidi uygulaması sonucunda azalma tespit edildi.
- İnce bağırsak dokuları PA kaynaklı goblet hücresi artışı ve villus dejenerasyonu tespit edildi.
- İnce bağırsak dokularında PA kaynaklı hasar, oral propolis takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- İnce bağırsak dokularında PA kaynaklı hasar, oral w-3 yağ asidi takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- İnce bağırsak dokularında PA kaynaklı hasar, oral arı sütü uygulaması sonucunda azalma tespit edilmedi.
- İnce bağırsak dokularında PA kaynaklı hasar, oral arı ekmeği uygulaması sonucunda azalma tespit edilmedi.
- Beyin dokuları PA kaynaklı nöron dejenerasyonu, genişlemiş kan damarı, piramidal hücre tabakasında küçülmüş, hiperkromatik, distrofik nöron bulguları tespit edildi.
- Beyin dokularında PA kaynaklı hasar, oral propolis uygulaması sonucunda azalma tespit edildi.
- Beyin dokularında PA kaynaklı hasar, oral arı sütü takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- Beyin dokularında PA kaynaklı hasar, oral arı ekmeği takviyesi sonucu azalma gözlemlenmiştir.
- Apiterapi (arı sütü, arı ekmeği, propolis) ürünlerinin iyileştirici olma yönünde etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.
- Özellikle oral propolis uygulaması karaciğer, ince bağırsak ve beyin dokularında pozitif yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir.
- Propiyonik asit uygulaması kan biyokimya değerlerini bozduğu tespit edilmiştir.

- Propiyonik asit uygulaması enflamatuvar dengeyi bozduğu tespit edilmiştir.
- Propiyonik asit uygulaması mikrobiyota bakteri sayısını azalttığı tespit edilmiştir.
- Propiyonik asit uygulaması histopatolojik bozulmalara neden olduğu tespit edilmiştir.
- Arı sütü takviyesi PA kaynaklı bozulmuş kan biyokimya değerinin düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı sütü takviyesi PA kaynaklı bozulmuş enflamatuvar dengeyi düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı sütü takviyesi PA kaynaklı bozulmuş mikrobiyota bakteri sayısını düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı sütü takviyesi PA kaynaklı bozulmuş histopatolojik bozulmaların düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı ekmeği takviyesi PA kaynaklı bozulmuş kan biyokimya değerinin düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı ekmeği takviyesi PA kaynaklı bozulmuş enflamatuvar dengeyi düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı ekmeği takviyesi PA kaynaklı bozulmuş mikrobiyota bakteri sayısını düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Arı ekmeği takviyesi PA kaynaklı bozulmuş histopatolojik bozulmaların düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Propolis takviyesi PA kaynaklı bozulmuş kan biyokimya değerinin düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Propolis takviyesi PA kaynaklı bozulmuş enflamatuvar dengeyi düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Propolis takviyesi PA kaynaklı bozulmuş mikrobiyota bakteri sayısını düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Propolis takviyesi PA kaynaklı bozulmuş histopatolojik bozulmaların düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Omega- 3 yağ asidi takviyesi PA kaynaklı bozulmuş kan biyokimya değerinin düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Omega- 3 yağ asidi takviyesi PA kaynaklı bozulmuş enflamatuvar dengeyi düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.
- Omega- 3 yağ asidi takviyesi PA kaynaklı bozulmuş mikrobiyota bakteri sayısını düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.

- Omega- 3 yağ asidi takviyesi PA kaynaklı bozulmuş histopatolojik bozulmaların düzelmesine yardımcı olduğu tespit edilmiştir.

6.2. Öneriler

Otizm spektrum bozukluğunun bir tedavisi bulunmadığı bilimsel kaynaklarda ifade edilmektedir ancak otizmde görülen nörodejeneratif hasar, oksidatif hasar, doku hasarı, serum biyokimyasal parametrelerindeki değişiklikler, mikrobiyota analizleri, enflamatuvar değişiklikler gibi birçok parametrede önemli değişiklikler meydana geldiği bilinmektedir. Öncelikle otizmin oluşmasındaki nedenleri bilinmemekle birlikte çevresel ve toksik faktörlerin, fetal dönem stres ve beslenme kaynaklı zararlı kimyasal maddelerin, pestilerin bazı mekanizmaları tetikleyebileceğine yönelik çalışmalar mevcuttur. Sağlıklı beslenme, otizm prevalansındaki hızlı artışın önlenmesi amacı ile etkili bir metodoloji olarak değerlendirilmelidir. Ek olarak, otizmlili bireylerde görülen beslenme sorunları, obezite, besin ögesi yetersizlikleri, ve gastrointestinal problemler otizmlili bireylerin yaşam kalitesini etkileyerek otizm tablosunun ağırlaşmasında, algı zayıflamasında, öğrenme süreçlerinde gecikme gibi birçok açıdan önemli etkileri bulunmaktadır. Otizmlili bireylerin en çok kullandığı gıda takviyelerden biri omega-3 takviyesidir. Otizm spektrum bozukluğu olan bireyler için EPA ve DHA'nın beyindeki iltihabı azaltma, nörotransmitterler, ruh hali bozukluğu, uyku düzensizliği, dikkat eksikliği ve saldırganlık gibi semptomların azalması büyük önemi bulunmaktadır. Bu nedenle otizmlili bireylerin w-3 yağ asidi tüketim durumları ve değerlerinin takip edilmesi çok önemli olmaktadır. Özellikle kolesterol, hdl kolesterol, ldl kolesterol düzeyinin bozulması ve oksidatif hasar gibi otizmde görülen başlıca sorunlar üzerinde w-3 yağ asidi dengeleyici etkisi bulunmaktadır. Yapılan tez çalışmasında w-3 yağ asidi uygulaması PA kaynaklı enflamatuvar bozulma üzerinde belirgin düzelmelere ve biyokimyasal değerler, doku hasarı, mikrobiyota dengesinde düzelmelere yardımcı olmuştur. Arı ürünleri ve apiterapi son yıllarda kullanımı ve önemi artış göstermiştir. Özellikle dejeneratif hastalıklarda etkin bir şekilde hasarı azalttığına yönelik yayınların sayısı her geçen artmaktadır. Ancak otizmde bu ürünlerin kullanımında dair elde edilen sonuçlar yeterli değildir. Özellikle erken yaşta kullanılan apiterapi ürünleri alerjenik etki yapabilir, bu nedenle küçük yaşta OSB'li çocukların apiterapi ürün kullanımına başlanmadan önce kesinlikle doktor ya da diyetisyen görüşü alınması gerekmektedir. Ek olarak her apiterapi ürününün (propolis, arı ekmeği ve arısütü) içeriği kendine özgüdür. Dolayısı ile her bir ürün için standardizasyon ve detaylı etkinlik çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Yapılan tez çalışmasında apiterapi uygulaması PA kaynaklı enflamatuvar bozulma, biyokimyasal değerler, doku hasarı, mikrobiyota dengesinde düzelmelere yardımcı olmuştur. Propolis uygulaması PA kaynaklı enflamatuvar bozulma, mikrobiyota üzerinde belirgin düzelmelere ve biyokimyasal değerler, doku hasarı üzerinde düzelmelere yardımcı olmuştur. Arı sütü uygulaması PA kaynaklı, biyokimyasal değerler, mikrobiyota üzerinde belirgin düzelmelere ve enflamatuvar bozulma, doku hasarı üzerinde düzelmelere yardımcı olmuştur. Arı ekmeği uygulaması PA kaynaklı, biyokimyasal değerler, mikrobiyota, enflamatuvar bozulma üzerinde belirgin düzelmelere ve doku hasarı üzerinde düzelmelere yardımcı olmuştur. Genel olarak PA kaynaklı genel hasar apiterapi ve w-3 yağ asidi uygulaması sonucu tüm gruplarda azaldığı gözlenmiştir. Otizm spektrum bozukluğunda semptomların azalması için dengeli beslenmenin yanında besinsel destekler kullanılabileceği unutulmamalıdır. Çalışma apiterapi karışımı (arı sütü, arı ekmeği ve propolis) tedavi yöntemi ile daha büyük ölçekli tekrarlanarak inflamatuvar, doku ve serum biyobelirteç bozulmasına yardımcı olmasına dolayısıyla OSB’de görülen semptomların azalması için alternatif sunabilir.

KAYNAKLAR

- Aabed, K., Bhat, R. S., Al-Dbass, A., Moubayed, N., Algahtani, N., Merghani, N. M., Alanazi, A., Zayed, N., and El-Ansary, A. (2019a). Bee pollen and propolis improve neuroinflammation and dysbiosis induced by propionic acid, a short chain fatty acid in a rodent model of autism. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 200. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1150-0>
- Aabed, K., Bhat, R. S., Al-Dbass, A., Moubayed, N., Algahtani, N., Merghani, N. M., Alanazi, A., Zayed, N., and El-Ansary, A. (2019b). Bee pollen and propolis improve neuroinflammation and dysbiosis induced by propionic acid, a short chain fatty acid in a rodent model of autism. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 200. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1150-0>
- Aabed, K., Shafi Bhat, R., Moubayed, N., Al-Mutiri, M., Al-Marshoud, M., Al-Qahtani, A., and Ansary, A. (2019). Ameliorative effect of probiotics (Laktobasiller paracaseii and Protexin®) and prebiotics (propolis and bee pollen) on clindamycin and propionic acid-induced oxidative stress and altered gut microbiota in a rodent model of autism. *Cellular and Molecular Biology*, 65(1), 1–7. <https://doi.org/10.14715/cmb/2019.65.1.1>
- Abrahams, B. S., and Geschwind, D. H. (2008). Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nature Reviews Genetics*, 9(5), 341–355. <https://doi.org/10.1038/nrg2346>
- Abuaish, S., Al-Otaibi, N. M., Aabed, K., Abujamel, T. S., Alzahrani, S. A., Alotaibi, S. M., Bhat, R. S., Arzoo, S., and El-Ansary, A. (2022). Correction to: The role of sex-differentiated variations in stress hormones, antioxidants, and neuroimmune responses in relation to social interaction impairment in a rodent model of autism. *Metabolic Brain Disease*, 37(5), 1685–1685. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-00982-x>
- Adams, J. B., Johansen, L. J., Powell, L. D., Quig, D., and Rubin, R. A. (2011). Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism – comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterology*, 11(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-11-22>
- Ahuja, V., and Ahuja, A. (2011). Apitherapy - A sweet approach to dental diseases. Part II: Propolis. *Journal of Advanced Oral Research*, 2(2), 1–8. <https://doi.org/10.1177/2229411220110201>
- Akcay, A., Nguyen, Q., and Edelstein, C. L. (2009). Mediators of Inflammation in Acute Kidney Injury. *Mediators of Inflammation*, 2009, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2009/137072>
- Al Tamimi, M. I., Alfawaz, H. A., Bhat, R. S., Arzoo, S., Soliman, D. A., al khibary, M. A. E., Hassan, S. A., and El-Ansary, A. (2022). Comparative Study on the Exacerbating Effects of Casein-Rich vs. Glüten-Rich Diets on Biochemical-Induced Features in Rodent Model of Autism. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(2), 359–371. <https://doi.org/10.1007/s12031-021-01950-3>

- Alabdali, A., Al-Ayadhi, L., and El-Ansary, A. (2014). Association of social and cognitive impairment and biomarkers in autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation*, 11(1), 4. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-4>
- Al-Dewik, N. I. (2020). Risk factors diagnosis prognosis and treatment of autism. *Frontiers in Bioscience*, 25(9), 4873. <https://doi.org/10.2741/4873>
- Alfawaz, H., Al-Onazi, M., Bukhari, S. I., Binobead, M., Othman, N., Algahtani, N., Bhat, R. S., Moubayed, N. M. S., Alzeer, H. S., and El-Ansary, A. (2018). The Independent and Combined Effects of Omega-3 and Vitamin B12 in Ameliorating Propionic Acid Induced Biochemical Features in Juvenile Rats as Rodent Model of Autism. *Journal of Molecular Neuroscience*, 66(3), 403–413. <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1186-z>
- Alharthi, A., Alhazmi, S., Alburae, N., and Bahieldin, A. (2022). The Human Gut Microbiome as a Potential Factor in Autism Spectrum Disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1363. <https://doi.org/10.3390/ijms23031363>
- Ali, A. M., and Kunugi, H. (2020a). Apitherapy for Parkinson's Disease: A Focus on the Effects of Propolis and Royal Jelly. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2020/1727142>
- Ali, A. M., and Kunugi, H. (2020b). Apitherapy for Parkinson's Disease: A Focus on the Effects of Propolis and Royal Jelly. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2020/1727142>
- Aljumaiah, M. M., Alonazi, M. A., Al-Dbass, A. M., Almnaizel, A. T., Alahmed, M., Soliman, D. A., and El-Ansary, A. (2022). Association of Maternal Diabetes and Autism Spectrum Disorders in Offspring: a Study in a Rodent Model of Autism. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(2), 349–358. <https://doi.org/10.1007/s12031-021-01912-9>
- Alkhateeb, A. A., and Connor, J. R. (2010). Nuclear ferritin: A new role for ferritin in cell biology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1800(8), 793–797. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.03.017>
- Al-Lahham, S. H., Peppelenbosch, M. P., Roelofsen, H., Vonk, R. J., and Venema, K. (2010). Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1801(11), 1175–1183. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2010.07.007>
- Alonazi, M., ben Bacha, A., al Suhaibani, A., Almnaizel, A. T., Aloudah, H. S., and El-Ansary, A. (2022). Psychobiotics improve propionic acid-induced neuroinflammation in juvenile rats, rodent model of autism. *Translational Neuroscience*, 13(1), 292–300. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2022-0226>
- Al-Owain, M., Kaya, N., Al-Shamrani, H., Al-Bakheet, A., Qari, A., Al-Muaigl, S., and Ghaziuddin, M. (2012). *Autism Spectrum Disorder in a Child with Propionic Acidemia* (pp. 63–66). https://doi.org/10.1007/8904_2012_143

- Al-Salem, H. S., Al-Yousef, H. M., Ashour, A. E., Ahmed, A. F., Amina, M., Issa, I. S., and Bhat, R. S. (2020). Antioxidant and hepatorenal protective effects of bee pollen fractions against propionic acid-induced autistic feature in rats. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 5114–5127. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1813>
- Al-Salem, H. S., Bhat, R. S., Al-Ayadhi, L., and El-Ansary, A. (2016). Therapeutic potency of bee pollen against biochemical autistic features induced through acute and sub-acute neurotoxicity of orally administered propionic acid. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1099-8>
- Al-Sanafi, A. E., Mohssin, S. A., and Abdulla, S. M. (1963). Effect of royal jelly on regeneration. *Folia Biologica*, 9, 230–232.
- Altun, H., Şahin, N., Kurutaş, E. B., Karaaslan, U., Sevgen, F. H., and Findıklı, E. (2018). Assessment of malondialdehyde levels, superoxide dismutase, and catalase activity in children with autism spectrum disorders. *Psychiatry and Clinical Psychopharmacology*, 28(4), 408–415. <https://doi.org/10.1080/24750573.2018.1470360>
- American Psychiatric Association. (2013a). *Diagnostic And Statistical Manual of Mental Disorders* (5th ed.). https://med-mu.com/wp-content/uploads/2018/08/American-Psychiatric-Association-Diagnostic-and-statistical-manual-of-mental-disorders_-_DSM-5-American-Psychiatric-Association-2013.pdf
- American Psychiatric Association. (2013b). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. American Psychiatric Association. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Anderson, K. E., Carroll, M. J., Sheehan, T., Mott, B. M., Maes, P., and Corby-Harris, V. (2014). Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. *Molecular Ecology*, 23(23), 5904–5917. <https://doi.org/10.1111/mec.12966>
- Ashwood, P., and van de Water, J. (2004). Is autism an autoimmune disease? *Autoimmunity Reviews*, 3(7-8 SPEC.ISS), 557–562. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2004.07.036>
- Ashwood, P., Krakowiak, P., Hertz-Picciotto, I., Hansen, R., Pessah, I., and Van de Water, J. (2011). Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(1), 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.08.003>
- Ashwood, P., Wills, S., and Van de Water, J. (2006). The immune response in autism: a new frontier for autism research. *Journal of Leukocyte Biology*, 80(1), 1–15. <https://doi.org/10.1189/jlb.1205707>
- Aslan, R., Kutlu, R., Civi, S., and Tasyurek, E. (2014). The correlation of the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and paraoxonase activity (PON1) with smoking. *Clinical Biochemistry*, 47(6), 393–397. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.10.002>

- Atkin, S. L., Barrier, S., Cui, Z., Fletcher, P. D. I., Mackenzie, G., Panel, V., Sol, V., and Zhang, X. (2011). UV and visible light screening by individual sporopollenin exines derived from *Lycopodium clavatum* (club moss) and *Ambrosia trifida* (giant ragweed). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 102(3), 209–217. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.12.005>
- Attia, Y. A., Bovera, F., Abd-Elhamid, A. E.-H. E., Calabrò, S., Mandour, M. A., Al-Harthi, M. A., and Hassan, S. S. (2019). Evaluation of the carryover effect of antibiotic, bee pollen and propolis on growth performance, carcass traits and splenic and hepatic histology of growing rabbits. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(3), 947–958. <https://doi.org/10.1111/jpn.13068>
- Baio, J., Wiggins, L., Christensen, D. L., Maenner, M. J., Daniels, J., Warren, Z., Kurzius-Spencer, M., Zahorodny, W., Robinson, C., Rosenberg, White, T., Durkin, M. S., Imm, P., Nikolaou, L., Yeargin-Allsopp, M., Lee, L.-C., Harrington, R., Lopez, M., Fitzgerald, R. T., and Dowling, N. F. (2018). Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *MMWR. Surveillance Summaries*, 67(6), 1–23. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6706a1>
- Baker, M., Hong, S.-I., Kang, S., and Choi, D.-S. (2020). Rodent models for psychiatric disorders: problems and promises. *Laboratory Animal Research*, 36(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s42826-020-00039-z>
- Balcı, N., Türkan, F., Şakiroğlu, H., Aygün, A., and Şen, F. (2019). Purification and characterization of glutathione S-transferase from blueberry fruits (*Vaccinium arctostaphylos* L.) and investigated of some pesticide inhibition effects on enzyme activity. *Heliyon*, 5(4), e01422. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01422>
- Baltrušait, V., Venskmonis, P. R., and Čeksteryte, V. (2007). Antibacterial activity of honey and beebread of different origin against *S. Aureus* and *S. Epidermidis*. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 201–208.
- Bankova, V. (2005). Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 29–32. <https://doi.org/10.1093/ecam/neh059>
- Bankova, V., Popova, M., and Trusheva, B. (2016). New emerging fields of application of propolis. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 35(1), 1. <https://doi.org/10.20450/mjcce.2016.864>
- Belzung, C., Leman, S., Vourc'h, P., and Andres, C. (2005). Rodent models for autism: A critical review. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 2(2), 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2005.05.004>
- Benachenhou, S., Etcheverry, A., Galarneau, L., Dubé, J., and Çaku, A. (2019a). Implication of hypocholesterolemia in autism spectrum disorder and its associated comorbidities: A retrospective case–control study. *Autism Research*, 12(12), 1860–1869. <https://doi.org/10.1002/aur.2183>

- Benachenhou, S., Etcheverry, A., Galarneau, L., Dubé, J., and Çaku, A. (2019b). Implication of hypocholesterolemia in autism spectrum disorder and its associated comorbidities: A retrospective case-control study. *Autism Research*, 12(12), 1860–1869. <https://doi.org/10.1002/aur.2183>
- Berends, Y.R., Tulen, J.H.M., Wierdsma, A.I., de Rijke, Y.B., Kushner, S.A., van Marlea, I.J.C. (2021). Oxytocin moderates the association between testosterone-cortisol ratio and trustworthiness: A randomized placebo-controlled study. *Compr Psychoneuroendocrinol*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.cpnec.2021.100080>
- Berretta, A. A., Silveira, M. A. D., Córdor Capcha, J. M., and de Jong, D. (2020). Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110622. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110622>
- Berridge, M. J. (2016). The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 96(4), 1261–1296. <https://doi.org/10.1152/physrev.00006.2016>
- Bertoni, A., Penco, F., Mollica, H., Bocca, P., Prigione, I., Corcione, A., Cangelosi, D., Schena, F., del Zotto, G., Amaro, A., Paladino, N., Pontali, E., Feasi, M., Signa, S., Bustaffa, M., Caorsi, R., Palmeri, S., Contini, P., de Palma, R., and Volpi, S. (2022). Spontaneous NLRP3 inflammasome-driven IL-1- β secretion is induced in severe COVID-19 patients and responds to anakinra treatment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 150(4), 796–805. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.05.029>
- Bhat, S., Acharya, U. R., Adeli, H., Bairy, G. M., and Adeli, A. (2014). Autism: cause factors, early diagnosis and therapies. *Reviews in the Neurosciences*, 25(6). <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0056>
- Bicudo de Almeida-Muradian, L., Monika Barth, O., Dietemann, V., Eyer, M., Freitas, A. da S. de, Martel, A.-C., Marcazzan, G. L., Marchese, C. M., Mucignat-Caretta, C., Pascual-Maté, A., Reybroeck, W., Sancho, M. T., and Gasparotto Sattler, J. A. (2020). Standard methods for Apis mellifera honey research. *Journal of Apicultural Research*, 59(3), 1–62. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1738135>
- Biluca, F. C., da Silva, B., Caon, T., Mohr, E. T. B., Vieira, G. N., Gonzaga, L. V., Vitali, L., Micke, G., Fett, R., Dalmarco, E. M., and Costa, A. C. O. (2020). Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (Meliponinae). *Food Research International*, 129, 108756. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108756>
- Bjørklund, G., Pivina, L., Dadar, M., Meguid, N. A., Semenova, Y., Anwar, M., and Chirumbolo, S. (2020). Gastrointestinal alterations in autism spectrum disorder: What do we know? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 118, 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.06.033>
- Bogdanov, S. (2020). Antiviral properties of the bee products: a review. *Bee Products Science*, 1–16.

- Bonomini, F., Siniscalco, D., Schultz, S., Carnovale, C., Barthélémy, C., and Fazzi, E. M. (2022a). Editorial: Antioxidants in Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.889865>
- Bonomini, F., Siniscalco, D., Schultz, S., Carnovale, C., Barthélémy, C., and Fazzi, E. M. (2022b). Editorial: Antioxidants in Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.889865>
- Boone, K. M., Klebanoff, M. A., Rogers, L. K., Rausch, J., Coury, D. L., and Keim, S. A. (2022). Effects of Omega-3-6-9 fatty acid supplementation on behavior and sleep in preterm toddlers with autism symptomatology: Secondary analysis of a randomized clinical trial. *Early Human Development*, 169, 105588. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2022.105588>
- Bourgeron, T. (2009). A synaptic trek to autism. *Current Opinion in Neurobiology*, 19(2), 231–234. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2009.06.003>
- Bölte, S., Girdler, S., and Marschik, P. B. (2019). The contribution of environmental exposure to the etiology of autism spectrum disorder. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(7), 1275–1297. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2988-4>
- Braakhuis, A. (2019). Evidence on the Health Benefits of Supplemental Propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705. <https://doi.org/10.3390/nu11112705>
- Brugha, T. S., McManus, S., Bankart, J., Scott, F., Purdon, S., Smith, J., Bebbington, P., Jenkins, R., and Meltzer, H. (2011). Epidemiology of Autism Spectrum Disorders in Adults in the Community in England. *Archives of General Psychiatry*, 68(5), 459. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.38>
- Bukhari, S. I., Alfawaz, H., Al-Dbass, A., Bhat, R. S., Moubayed, N. M., Bukhari, W., Hassan, S. A., Merghani, N., Elsamaligy, S., and El-Ansary, A. (2020). Efficacy of Novavit in ameliorating the neurotoxicity of propionic acid. *Translational Neuroscience*, 11(1), 134–146. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2020-0103>
- Bull, S.B., Mirea, L., Briollais, L., Logan, A.G. (2003). Heterogeneity in IBD allele sharing among covariate-defined subgroups: Issues and findings for affected relatives. *Human Heredity*. 56, 94-106.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347–363. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)00145-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-2)
- Buttstedt, A., Moritz, R. F., and Erler, S. (2013). More than royal food - Major royal jelly protein genes in sexuals and workers of the honeybee *Apis mellifera*. *Frontiers in Zoology*, 10(1), 72. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-72>
- Campos, M. G. R., Frigerio, C., Lopes, J., and Bogdanov, S. (2010). What is the future of Bee-Pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(4), 131–144. <https://doi.org/10.3896/IBRA.4.02.4.01>

- Careaga, M., Murai, T., and Bauman, M. D. (2017). Maternal Immune Activation and Autism Spectrum Disorder: From Rodents to Nonhuman and Human Primates. *Biological Psychiatry*, 81(5), 391–401. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.10.020>
- Castro, K., Baronio, D., Perry, I.S., Riesgo, R.D.S., Gottfried, C. (2017). The effect of ketogenic diet in an animal model of autism induced by prenatal exposure to valproic acid. *Nutritional Neuroscience*, 20(50), 343.
- CDC. (2023). *LDL and HDL Cholesterol and Triglycerides*. Centers for Disease Control and Prevention. https://www.cdc.gov/cholesterol/ldl_hdl.htm
- Chauhan, A., and Chauhan, V. (2006). Oxidative stress in autism. *Pathophysiology*, 13(3), 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2006.05.007>
- Cheng, J., Wang, F., Yu, D.F., Wu, P.F., Chen J.G. (2011). The cytotoxic mechanism of malondialdehyde and protective effect of carnosine via protein cross-linking/mitochondrial dysfunction/reactive oxygen species/MAPK pathway in neurons. *European Journal of Pharmacology*, 10;650(1):184-94. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.09.033
- Cheng, Y., Mai, Q., Zeng, X., Wang, H., Xiao, Y., Tang, L., Li, J., Zhang, Y., and Ding, H. (2019). Propionate relieves pentylentetrazol-induced seizures, consequent mitochondrial disruption, neuron necrosis and neurological deficits in mice. *Biochemical Pharmacology*, 169, 113607. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.08.009>
- Chiarotti, F., and Venerosi, A. (2020a). Epidemiology of Autism Spectrum Disorders: A Review of Worldwide Prevalence Estimates Since 2014. *Brain Sciences*, 10(5), 274. <https://doi.org/10.3390/brainsci10050274>
- Chiarotti, F., and Venerosi, A. (2020b). Epidemiology of Autism Spectrum Disorders: A Review of Worldwide Prevalence Estimates Since 2014. *Brain Sciences*, 10(5), 274. <https://doi.org/10.3390/brainsci10050274>
- Chiu, H.-F., Chen, B.-K., Lu, Y.-Y., Han, Y.-C., Shen, Y.-C., Venkatakrishnan, K., Golovinskaia, O., and Wang, C.-K. (2017). Hypocholesterolemic efficacy of royal jelly in healthy mild hypercholesterolemic adults. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 497–502. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1253110>
- Choi, J., Lee, S., Won, J., Jin, Y., Hong, Y., Hur, T.-Y., Kim, J.-H., Lee, S.-R., and Hong, Y. (2018a). Pathophysiological and neurobehavioral characteristics of a propionic acid-mediated autism-like rat model. *PLOS ONE*, 13(2), e0192925. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192925>
- Choi, J., Lee, S., Won, J., Jin, Y., Hong, Y., Hur, T.-Y., Kim, J.-H., Lee, S.-R., and Hong, Y. (2018b). Pathophysiological and neurobehavioral characteristics of a propionic acid-mediated autism-like rat model. *PLOS ONE*, 13(2), e0192925. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192925>

- Coretti, L., Paparo, L., Riccio, M. P., Amato, F., Cuomo, M., Natale, A., Borrelli, L., Corrado, G., de Caro, C., Comegna, M., Buommino, E., Castaldo, G., Bravaccio, C., Chiariotti, L., Berni Canani, R., and Lembo, F. (2018). Gut Microbiota Features in Young Children With Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03146>
- Courchesne, E., Campbell, K., and Solso, S. (2011). Brain growth across the life span in autism: Age-specific changes in anatomical pathology. *Brain Research*, 1380, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.101>
- Cömert, E. D., and Gökmen, V. (2020). *Physiological relevance of food antioxidants* (pp. 205–250). <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.03.002>
- Cryan, J. F., O’Riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. v., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cussotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. v., Guzzetta, K. E., Jaggar, M., Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., and Dinan, T. G. (2019). The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiological Reviews*, 99(4), 1877–2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Cuche, G., and Malbert, C. H. (1999). Short-chain fatty acids present in the ileum inhibit fasting gastrointestinal motility in conscious pigs. *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 11(3), 219–225.
- Cummings, J. H., Pomare, E. W., Branch, W. J., Naylor, C. P., and Macfarlane, G. T. (1987). Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*, 28(10), 1221–1227. <https://doi.org/10.1136/gut.28.10.1221>
- D’Eufemia, P., Celli, M., Finocchiaro, R., Pacifico, L., Viozzi, L., Zaccagnini, M., Cardi, E., and Giardini, O. (1996). Abnormal intestinal permeability in children with autism. *Acta Paediatrica*, 85(9), 1076–1079. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1996.tb14220.x>
- Davidson, P. M., Sofos, J. N., and Branen, A. L. (Eds.). (2005). *Antimicrobials in Food*. CRC Press <https://doi.org/10.1201/9781420028737>
- de Angelis, M., Francavilla, R., Piccolo, M., de Giacomo, A., and Gobbetti, M. (2015). Autism spectrum disorders and intestinal microbiota. *Gut Microbes*, 6(3), 207–213. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1035855>
- de Angelis, M., Piccolo, M., Vannini, L., Siragusa, S., de Giacomo, A., Serrazzanetti, D. I., Cristofori, F., Guerzoni, M. E., Gobbetti, M., and Francavilla, R. (2013). Fecal Microbiota and Metabolome of Children with Autism and Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified. *PLoS ONE*, 8(10), e76993. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076993>
- de Castro, J. M. (1997). Socio-cultural determinants of meal size and frequency. *British Journal of Nutrition*, 77(S1), S39–S55. <https://doi.org/10.1079/BJN19970103>
- de Castro, J. M. (1999). Behavioral genetics of food intake regulation in free-living humans. *Nutrition*, 15(7–8), 550–554. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(99\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(99)00114-8)

- de Magistris, L., Familiari, V., Pascotto, A., Sapone, A., Frolli, A., Iardino, P., Carteni, M., de Rosa, M., Francavilla, R., Riegler, G., Militerni, R., and Bravaccio, C. (2010). Alterations of the Intestinal Barrier in Patients With Autism Spectrum Disorders and in Their First-degree Relatives. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 51(4), 418–424. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181dcc4a5>
- de Theije, C. G. M., Koelink, P. J., Korte-Bouws, G. A. H., Lopes da Silva, S., Korte, S. M., Olivier, B., Garssen, J., and Kraneveld, A. D. (2014). Intestinal inflammation in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*, 37, 240–247. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.12.004>
- Denieffe, S., Kelly, R. J., McDonald, C., Lyons, A., and Lynch, M. A. (2013). Classical activation of microglia in CD200-deficient mice is a consequence of blood brain barrier permeability and infiltration of peripheral cells. *Brain, Behavior, and Immunity*, 34, 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.07.174>
- Denisow, B., and Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303–4309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7729>
- Didaras, N. A., Karatasou, K., Dimitriou, T. G., Amoutzias, G. D., and Mossialos, D. (2020). Antimicrobial Activity of Bee-Collected Pollen and Beebread: State of the Art and Future Perspectives. *Antibiotics*, 9(11), 811. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110811>
- Dietschy, J. M., and Turley, S. D. (2004). Thematic review series: Brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *Journal of Lipid Research*, 45(8), 1375–1397. <https://doi.org/10.1194/jlr.R400004-JLR200>
- Doğanyığıt, Z., Okan, A., Kaymak, E., Pandır, D., and Silici, S. (2020). Investigation of protective effects of apilarnil against lipopolysaccharide induced liver injury in rats via TLR 4/ HMGB-1/ NF-κB pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 125, 109967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109967>
- Doreswamy, S., Bashir, A., Guarecuco, J. E., Lahori, S., Baig, A., Narra, L. R., Patel, P., and Heindl, S. E. (2020). Effects of Diet, Nutrition, and Exercise in Children With Autism and Autism Spectrum Disorder: A Literature Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.12222>
- Dwivedi, D., Megha, K., Mishra, R., and Mandal, P. K. (2020). Glutathione in Brain: Overview of Its Conformations, Functions, Biochemical Characteristics, Quantitation and Potential Therapeutic Role in Brain Disorders. *Neurochemical Research*, 45(7), 1461–1480. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03030-1>
- Dziobek, I., Gold, S. M., Wolf, O. T., and Convit, A. (2007). Hypercholesterolemia in Asperger syndrome: Independence from lifestyle, obsessive–compulsive behavior, and social anxiety. *Psychiatry Research*, 149(1–3), 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2006.02.003>

- Dżugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P., and Grabek-Lejko, D. (2018). Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety. *Molecules*, 23(8), 2069. <https://doi.org/10.3390/molecules23082069>
- Edwards, C. L., Ng, S. S., de Labastida Rivera, F., Corvino, D., Engel, J. A., Montes de Oca, M., Bukali, L., Frame, T. C. M., Bunn, P. T., Chauhan, S. B., Singh, S. S., Wang, Y., Na, J., Amante, F. H., Loughland, J. R., Soon, M. S. F., Waddell, N., Mukhopadhyay, P., Koufariotis, L. T., and Engwerda, C. R. (2023). Human IL-10-producing Th1 cells exhibit a molecular signature distinct from Tr1 cells in malaria. *Journal of Clinical Investigation*, 133(1). <https://doi.org/10.1172/JCI153733>
- El-Ansary, A. K., Al-Daihan, S. K., and El-Gezeery, A. R. (2011). On the protective effect of omega-3 against propionic acid-induced neurotoxicity in rat pups. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 142. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-142>
- El-Ansary, A. K., Bacha, A. Ben, & Kotb, M. (2012a). Etiology of autistic features: the persisting neurotoxic effects of propionic acid. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 661. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-74>
- El-Ansary, A. K., Bacha, A. Ben, & Kotb, M. (2012b). Etiology of autistic features: the persisting neurotoxic effects of propionic acid. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 661. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-74>
- El-Ansary, A., Al-Salem, H. S., Asma, A., and Al-Dbass, A. (2017). Glutamate excitotoxicity induced by orally administered propionic acid, a short chain fatty acid can be ameliorated by bee pollen. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0485-7>
- El-Ansary, A., and Al-Ayadhi, L. (2014a). GABAergic/glutamatergic imbalance relative to excessive neuroinflammation in autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation*, 11(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0189-0>
- El-Ansary, A., and Al-Ayadhi, L. (2014b). GABAergic/glutamatergic imbalance relative to excessive neuroinflammation in autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation*, 11(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0189-0>
- El-Ansary, A., and Bhat, R. S. (2020). Targeting gut microbiota as a possible therapeutic intervention in autism. In *Autism 360°* (pp. 301–327). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818466-0.00017-4>
- El-Ansary, A., Bacha, A. Ben, Bjørklund, G., Al-Orf, N., Bhat, R. S., Moubayed, N., and Abed, K. (2018). Probiotic treatment reduces the autistic-like excitation/inhibition imbalance in juvenile hamsters induced by orally administered propionic acid and clindamycin. *Metabolic Brain Disease*, 33(4), 1155–1164. <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0212-8>
- Elhefnawei, D. M., Mahmoud, A. H., Kadry, M. O., AL-Mokaddem, A. K., Badawy, M. A., and EL-Desouky, M. A. (2023). Calcium voltage-gated channel subunit alpha 1 C and glial fibrillary acidic protein signaling pathways as a selective biomarker in predicting the efficacy of liposomal loaded co-enzyme Q in the autistic rat model. *Toxicology Reports*, 10, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.12.003>

- Emberti Gialloreti, L., Mazzone, L., Benvenuto, A., Fasano, A., Alcon, A. G., Kraneveld, A., Moavero, R., Raz, R., Riccio, M. P., Siracusano, M., Zachor, D. A., Marini, M., and Curatolo, P. (2019). Risk and Protective Environmental Factors Associated with Autism Spectrum Disorder: Evidence-Based Principles and Recommendations. *Journal of Clinical Medicine*, 8(2), 217. <https://doi.org/10.3390/jcm8020217>
- Eraslan, G., Kanbur, M., and Silici, S. (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.013>
- Eriksson, K., Viinikainen, K., Mönkkönen, A., Äikiä, M., Nieminen, P., Heinonen, S., and Kälviäinen, R. (2005). Children exposed to valproate in utero—Population based evaluation of risks and confounding factors for long-term neurocognitive development. *Epilepsy Research*, 65(3), 189–200. <https://doi.org/10.1016/j.eplespyres.2005.06.001>
- Faber, S., Fahrenholz, T., Wolle, M. M., Kern, J. C., Pamuku, M., Miller, L., Jamrom, J., and Skip Kingston, H. M. (2019). Chronic exposure to xenobiotic pollution leads to significantly higher total glutathione and lower reduced to oxidized glutathione ratio in red blood cells of children with autism. *Free Radical Biology and Medicine*, 134, 666–677. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.02.009>
- Fatemi, S. H., Aldinger, K. A., Ashwood, P., Bauman, M. L., Blaha, C. D., Blatt, G. J., Chauhan, A., Chauhan, V., Dager, S. R., Dickson, P. E., Estes, A. M., Goldowitz, D., Heck, D. H., Kemper, T. L., King, B. H., Martin, L. A., Millen, K. J., Mittleman, G., Mosconi, M. W., and Welsh, J. P. (2012). Consensus Paper: Pathological Role of the Cerebellum in Autism. *The Cerebellum*, 11(3), 777–807. <https://doi.org/10.1007/s12311-012-0355-9>
- Feliz, B., Witt, D. R., and Harris, B. T. (2003). Propionic Acidemia: A Neuropathology Case Report and Review of Prior Cases. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 127(8), e325–e328. <https://doi.org/10.5858/2003-127-e325-PAANCR>
- Fernandez-Garcia, E., and McGregor, J. U. (1994). Determination of Organic Acids During the Fermentation and Cold Storage of Yogurt. *Journal of Dairy Science*, 77(10), 2934–2939. [https://doi.org/10.3168/jdss0022-0302\(94\)77234-9](https://doi.org/10.3168/jdss0022-0302(94)77234-9)
- Ferri, S. L., Abel, T., and Brodtkin, E. S. (2018). Sex Differences in Autism Spectrum Disorder: a Review. *Current Psychiatry Reports*, 20(2), 9. <https://doi.org/10.1007/s11920-018-0874-2>
- Finegold, S. M., Dowd, S. E., Gontcharova, V., Liu, C., Henley, K. E., Wolcott, R. D., Youn, E., Summanen, P. H., Granpeesheh, D., Dixon, D., Liu, M., Molitoris, D. R., and Green, J. A. (2010). Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*, 16(4), 444–453. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.06.008>

- Finucane, M. M., Stevens, G. A., Cowan, M. J., Danaei, G., Lin, J. K., Paciorek, C. J., Singh, G. M., Gutierrez, H. R., Lu, Y., Bahalim, A. N., Farzadfar, F., Riley, L. M., and Ezzati, M. (2011). National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *The Lancet*, 377(9765), 557–567. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62037-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62037-5)
- Flannery, J., Callaghan, B., Sharpton, T., Fisher, P., and Pfeifer, J. (2019). Is adolescence the missing developmental link in Microbiome-Gut-Brain axis communication? *Developmental Psychobiology*, 61(5), 783–795. <https://doi.org/10.1002/dev.21821>
- Fletcher-Watson, S., and Happé, F. (2019). The history of autism. *Autism*, 14–27. <https://doi.org/10.4324/9781315101699-2>
- Fombonne, E. (2018). Editorial: The rising prevalence of autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 59(7), 717–720. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12941>
- Fombonne, E., du Mazaubrun, C., Cans, C., and Grandjean, H. (1997). Autism and Associated Medical Disorders in a French Epidemiological Survey. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 36(11), 1561–1569. [https://doi.org/10.1016/S0890-8567\(09\)66566-7](https://doi.org/10.1016/S0890-8567(09)66566-7)
- Forssberg, H. (2019). Microbiome programming of brain development: implications for neurodevelopmental disorders. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 61(7), 744–749. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14208>
- Fratellone, P. M., Tsimis, F., and Fratellone, G. (2016). Apitherapy Products for Medicinal Use. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 22(12), 1020–1022. <https://doi.org/10.1089/acm.2015.0346>
- Fröhlich, H., Kollmeyer, M. L., Linz, V. C., Stuhlinger, M., Groneberg, D., Reigl, A., Zizer, E., Friebe, A., Niesler, B., and Rappold, G. (2019). Gastrointestinal dysfunction in autism displayed by altered motility and achalasia in Foxp1 +/- mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(44), 22237–22245. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911429116>
- Frye, R. E. (2012). Biomarkers of Abnormal Energy Metabolism in Children with Autism Spectrum Disorder. *American Chinese Journal of Medicine and Science*, 5(3), 141. <https://doi.org/10.7156/v5i3p141>
- Frye, R. E., Cakir, J., Rose, S., Palmer, R. F., Austin, C., Curtin, P., and Arora, M. (2021). Mitochondria May Mediate Prenatal Environmental Influences in Autism Spectrum Disorder. *Journal of Personalized Medicine*, 11(3), 218. <https://doi.org/10.3390/jpm11030218>
- Fung, K. Y., Wang, C., Nyegaard, S., Heit, B., Fairn, G. D., and Lee, W. L. (2017). SR-BI Mediated Transcytosis of HDL in Brain Microvascular Endothelial Cells Is Independent of Caveolin, Clathrin, and PDZK1. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00841>
- GA., B. (2003). Risks of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 32, 787–804.

- Genovese, A., and Butler, M. G. (2020). Clinical Assessment, Genetics, and Treatment Approaches in Autism Spectrum Disorder (ASD). *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4726. <https://doi.org/10.3390/ijms21134726>
- Gershon, M. D. (1999). The Enteric Nervous System: A Second Brain. *Hospital Practice*, 34(7), 31–52. <https://doi.org/10.3810/hp.1999.07.153>
- Geschwind, D. H. (2011). Genetics of autism spectrum disorders. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(9), 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.07.003>
- Gesundheit, B., Rosenzweig, J. P., Naor, D., Lerer, B., Zachor, D. A., Procházka, V., Melamed, M., Kristt, D. A., Steinberg, A., Shulman, C., Hwang, P., Koren, G., Walfisch, A., Passweg, J. R., Snowden, J. A., Tamouza, R., Leboyer, M., Farge-Bancel, D., and Ashwood, P. (2013). Immunological and autoimmune considerations of Autism Spectrum Disorders. *Journal of Autoimmunity*, 44, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2013.05.005>
- Ghanizadeh, A. (2011). Targeting of Glycine Site on NMDA Receptor as a Possible New Strategy for Autism Treatment. *Neurochemical Research*, 36(5), 922–923. <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0381-2>
- Giustarini, D., Tsikas, D., Colombo, G., Milzani, A., Dalle-Donne, I., Fanti, P., and Rossi, R. (2016). Pitfalls in the analysis of the physiological antioxidant glutathione (GSH) and its disulfide (GSSG) in biological samples: An elephant in the room. *Journal of Chromatography B*, 1019, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.02.015>
- Goldani, A. A. S., Downs, S. R., Widjaja, F., Lawton, B., and Hendren, R. L. (2014). Biomarkers in Autism. *Frontiers in Psychiatry*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00100>
- Goldani, A.A.S., Downs, S.R., Widjaja, F., Lawton, B., Hendren, R.L. (2014). Biomarkers in Autism. *Front Psychiatry*, 5, 100, <https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00100>
- González-Domenech, P.J, Díaz Atienza, F., García Pablos, C., Fernández Soto, M.L., Martínez-Ortega, J.M., GutiérrezRojas, L. (2020). Influence of a combined gluten-free and casein-free diet on behavior disorders in children and adolescents diagnosed with autism spectrum disorder: A 12-month follow-up clinical trial. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 50(48), 935.
- González-Fraguela, M. (2013). Oxidative Stress Markers in Children with Autism Spectrum Disorders. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 3(2), 307–317. <https://doi.org/10.9734/bjmmr/2013/2335>
- Gonzalez-Garcia, R., McCubbin, T., Navone, L., Stowers, C., Nielsen, L., and Marcellin, E. (2017). Microbial Propionic Acid Production. *Fermentation*, 3(2), 21. <https://doi.org/10.3390/fermentation3020021>

- Goodpaster, B. H., Park, S. W., Harris, T. B., Kritchevsky, S. B., Nevitt, M., Schwartz, A. v., Simonsick, E. M., Tylavsky, F. A., Visser, M., and Newman, A. B. (2006). The Loss of Skeletal Muscle Strength, Mass, and Quality in Older Adults: The Health, Aging and Body Composition Study. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(10), 1059–1064. <https://doi.org/10.1093/gerona/61.10.1059>
- Gottschall, E. (2020). *Breaking the Vicious Cycle: Intestinal Health Through Diet*. Baltimore: Kirkton Presss.
- Goyal, R. K., and Hirano, I. (1996). The Enteric Nervous System. *New England Journal of Medicine*, 334(17), 1106–1115. <https://doi.org/10.1056/NEJM199604253341707>
- Grabrucker, A. M. (2013). Environmental Factors in Autism. *Frontiers in Psychiatry*, 3. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2012.00118>
- Graille, M., Wild, P., Sauvain, J.-J., Hemmendinger, M., Guseva Canu, I., and Hopf, N. B. (2020). Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3743. <https://doi.org/10.3390/ijms21113743>
- Guardia de Souza e Silva, T., do Val de Paulo, M. E. F., da Silva, J. R. M., da Silva Alves, A., Britto, L. R. G., Xavier, G. F., and Lopes Sandoval, M. R. (2020). Oral treatment with royal jelly improves memory and presents neuroprotective effects on icv-STZ rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Heliyon*, 6(2), e03281. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03281>
- Gurbuzer, N., Gozke, E., and Ayhan Basturk, Z. (2014). Gamma-Glutamyl Transferase Levels in Patients with Acute Ischemic Stroke. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*, 2014, 1–4. <https://doi.org/10.1155/2014/170626>
- Günther, C., Buchen, B., He, G.W., Hornef, M., Torow, N., Neumann, H., Wittkopf, N., Martini, E., Basic, M., Bleich, A., Watson, A.J.M., Neurath, M.F., Becker, C. (2015). Caspase-8 controls the gut response to microbial challenges by $\text{Tnf-}\alpha$ -dependent and independent pathways. *Gut*, 64:601–610. doi:10.1136/gutjnl-2014-307226
- Haar, S., Berman, S., Behrmann, M., and Dinstein, I. (2016). Anatomical Abnormalities in Autism? *Cerebral Cortex*, 26(4), 1440–1452. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu242>
- Habryka, C., Kruczek, M., and Drygas, B. (2016). Bee products used in apitherapy. *World Scientific News*, 48, 254–258.
- Hagmeyer, S., Mangus, K., Boeckers, T. M., and Grabrucker, A. M. (2015). Effects of Trace Metal Profiles Characteristic for Autism on Synapses in Cultured Neurons. *Neural Plasticity*, 2015, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2015/985083>
- Han, Y., Xi, Q., Dai, W., Yang, S., Gao, L., Su, Y., and Zhang, X. (2015). Abnormal transsulfuration metabolism and reduced antioxidant capacity in Chinese children with autism spectrum disorders. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 46(1), 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2015.06.006>

- Harris, J. C. (2016). The origin and natural history of autism spectrum disorders. *Nature Neuroscience*, 19(11), 1390–1391. <https://doi.org/10.1038/nn.4427>
- Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., Yoshida, T., and Okuda, T. (1989). Effects of the interaction of tannins with Co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), 2016–2021. <https://doi.org/10.1248/cpb.37.2016>
- He, Y., Ding, F., Yin, M., Zhang, H., Hou, L., Cui, T., Xu, J., Yue, J., and Zheng, Q. (2022). High Serum AST/ALT Ratio and Low Serum INS*PA Product Are Risk Factors and Can Diagnose Sarcopenia in Middle-Aged and Older Adults. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.843610>
- Hellner, M., Winter, D., von Georgi, R., and Münstedt, K. (2008). Apitherapy: Usage and Experience in German Beekeepers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(4), 475–479. <https://doi.org/10.1093/ecam/nem052>
- Hergüner, S., Keleşoğlu, F. M., Tanıdır, C., and Çöpür, M. (2012a). Ferritin and iron levels in children with autistic disorder. *European Journal of Pediatrics*, 171(1), 143–146. <https://doi.org/10.1007/s00431-011-1506-6>
- Hergüner, S., Keleşoğlu, F. M., Tanıdır, C., and Çöpür, M. (2012b). Ferritin and iron levels in children with autistic disorder. *European Journal of Pediatrics*, 171(1), 143–146. <https://doi.org/10.1007/s00431-011-1506-6>
- Hijova, E., and Chmelarova, A. (2007). Short chain fatty acids and intestinal microflora. *Ratisl Lek Listy*, 108(8), 354–358.
- Hopkins, J. (2003). *NHANES Laboratory procedure manual, Total Cholesterol, Direct HDL, Precipitated HDL, Triglycerides, and LDL*.
- Horvath, K., Papadimitriou, J. C., Rabsztyń, A., Drachenberg, C., and Tildon, J. T. (1999). Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder. *The Journal of Pediatrics*, 135(5), 559–563. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(99\)70052-1](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(99)70052-1)
- Hossain, M. D., Ahmed, H. U., Jalal Uddin, M. M., Chowdhury, W. A., Iqbal, M. S., Kabir, R. I., Chowdhury, I. A., Aftab, A., Datta, P. G., Rabbani, G., Hossain, S. W., and Sarker, M. (2017). Autism Spectrum disorders (ASD) in South Asia: A systematic review. *BMC Psychiatry*, 17(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12888-017-1440-x>
- Hrabovska, S. V., and Salyha, Yu. T. (2016a). Animal Models of Autism Spectrum Disorders and Behavioral Techniques of their Examination. *Neurophysiology*, 48(5), 380–388. <https://doi.org/10.1007/s11062-017-9613-2>
- Hrabovska, S. v., and Salyha, Yu. T. (2016b). Animal Models of Autism Spectrum Disorders and Behavioral Techniques of their Examination. *Neurophysiology*, 48(5), 380–388. <https://doi.org/10.1007/s11062-017-9613-2>

- Hsiao, E. Y., McBride, S. W., Chow, J., Mazmanian, S. K., and Patterson, P. H. (2012). Modeling an autism risk factor in mice leads to permanent immune dysregulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(31), 12776–12781. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202556109>
- Huang, X., Abbott, R. D., Petrovitch, H., Mailman, R. B., and Ross, G. W. (2008). Low LDL cholesterol and increased risk of Parkinson's disease: Prospective results from Honolulu-Asia Aging Study. *Movement Disorders*, 23(7), 1013–1018. <https://doi.org/10.1002/mds.22013>
- Huang, X.-J., Choi, Y.-K., Im, H.-S., Yarimaga, O., Yoon, E., and Kim, H.-S. (2006). Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. *Sensors*, 6(7), 756–782. <https://doi.org/10.3390/s6070756>
- Icasiano, F., Hewson, P., Machet, P., Cooper, C., and Marshall, A. (2004). Childhood autism spectrum disorder in the Barwon region: A community based study. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 40(12), 696–701. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2004.00513.x>
- Isidorov, V. A., Bakier, S., and Stocki, M. (2016). GC-MS investigation of the chemical composition of honeybee drone and queen larvae homogenate. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 111–120. <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0011>
- İnternet: Scherr, R. E., and Cherr, S. Z. (2016). Nutrition and Health Info Sheet: Cholesterol For Health Professionals. *Center for Nutrition in Schools Department of Nutrition University of California*. Web: <https://nutrition.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk426/files/content/infosheets/factsheets/fact-pro-cholesterol.pdf> adresinden 12 Mayıs 2023'te alınmıştır.
- İnternet: Sfari Gene. (2019). *Gene*. Web: <https://gene.sfari.org/database/gene-scoring/> adresinden 12 Mayıs 2023'te alınmıştır.
- İnternet: Unicef, B., and Synchron, D. (2008). *Laboratory Procedure Manual Alanine Amino Transferase (ALT)*. Web: https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/alt_biopro_e_met_dxc800.pdf adresinden 12.05.2023'te alınmıştır.
- İnternet: WHO. (2022). *Autism*. Web: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders> adresinden 12.05.2023'te alınmıştır.
- James, D. M., Kozol, R. A., Kajiwar, Y., Wahl, A. L., Storrs, E. C., Buxbaum, J. D., Klein, M., Moshiree, B., and Dallman, J. E. (2019). Intestinal dysmotility in a zebrafish (*Danio rerio*) shank3a;shank3b mutant model of autism. *Molecular Autism*, 10(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13229-018-0250-4>
- Jolanta Wasilewska, J., and Klukowski, M. (2015). Gastrointestinal symptoms and autism spectrum disorder: links and risks – a possible new overlap syndrome. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics*, 153. <https://doi.org/10.2147/PHMT.S85717>
- Joon, P., Kumar, A., and Parle, M. (2021). What is autism? *Pharmacological Reports*, 73(5), 1255–1264. <https://doi.org/10.1007/s43440-021-00244-0>

- Jyonouchi, H., Sun, S., and Le, H. (2001). Proinflammatory and regulatory cytokine production associated with innate and adaptive immune responses in children with autism spectrum disorders and developmental regression. *Journal of Neuroimmunology*, 120(1–2), 170–179. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(01\)00421-0](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(01)00421-0)
- Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*, 473(7348), 478–483. <https://doi.org/10.1038/nature10093>
- Kameyama, H., Nakajima, H., Nishitsuji, K., Mikawa, S., Uchimura, K., Kobayashi, N., Okuhira, K., Saito, H., and Sakashita, N. (2016). Iowa Mutant Apolipoprotein A-I (ApoA-IIowa) Fibrils Target Lysosomes. *Scientific Reports*, 6(1), 30391. <https://doi.org/10.1038/srep30391>
- Kang, D.-W., Adams, J. B., Gregory, A. C., Borody, T., Chittick, L., Fasano, A., Khoruts, A., Geis, E., Maldonado, J., McDonough-Means, S., Pollard, E. L., Roux, S., Sadowsky, M. J., Lipson, K. S., Sullivan, M. B., Caporaso, J. G., and Krajmalnik-Brown, R. (2017). Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*, 5(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0225-7>
- Kang, D.-W., Ilhan, Z. E., Isern, N. G., Hoyt, D. W., Howsmon, D. P., Shaffer, M., Lozupone, C. A., Hahn, J., Adams, J. B., and Krajmalnik-Brown, R. (2018). Differences in fecal microbial metabolites and microbiota of children with autism spectrum disorders. *Anaerobe*, 49, 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.12.007>
- Kang, D.-W., Park, J. G., Ilhan, Z. E., Wallstrom, G., LaBaer, J., Adams, J. B., and Krajmalnik-Brown, R. (2013). Reduced Incidence of Prevotella and Other Fermenters in Intestinal Microflora of Autistic Children. *PLoS ONE*, 8(7), e68322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068322>
- Karaki, S., Mitsui, R., Hayashi, H., Kato, I., Sugiya, H., Iwanaga, T., Furness, J. B., and Kuwahara, A. (2006). Short-chain fatty acid receptor, GPR43, is expressed by enteroendocrine cells and mucosal mast cells in rat intestine. *Cell and Tissue Research*, 324(3), 353–360. <https://doi.org/10.1007/s00441-005-0140-x>
- Karimi, P., Kamali, E., Mousavi, S., and Karahmadi, M. (2017). Environmental factors influencing the risk of autism. *Journal of Research in Medical Sciences*, 22(1), 27. <https://doi.org/10.4103/1735-1995.200272>
- Karuri, A., Dobrowsky, E., and Tannock, I. (1993). Selective cellular acidification and toxicity of weak organic acids in an acidic microenvironment. *British Journal of Cancer*, 68(6), 1080–1087. <https://doi.org/10.1038/bjc.1993.485>
- Kataoka, S., Takuma, K., Hara, Y., Maeda, Y., Ago, Y., and Matsuda, T. (2013). Autism-like behaviours with transient histone hyperacetylation in mice treated prenatally with valproic acid. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 16(1), 91–103. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001714>

- Kelishadi, R. (2007). Childhood Overweight, Obesity, and the Metabolic Syndrome in Developing Countries. *Epidemiologic Reviews*, 29(1), 62–76. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxm003>
- Khan, R. U., Naz, S., and Abudabos, A. M. (2017). Towards a better understanding of the therapeutic applications and corresponding mechanisms of action of honey. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(36), 27755–27766. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0567-0>
- Khera, R., Mehan, S., Bhalla, S., Kumar, S., Alshammari, A., Alharbi, M., and Sadhu, S. S. (2022). Guggulsterone Mediated JAK/STAT and PPAR-Gamma Modulation Prevents Neurobehavioral and Neurochemical Abnormalities in Propionic Acid-Induced Experimental Model of Autism. *Molecules*, 27(3), 889. <https://doi.org/10.3390/molecules27030889>
- Kim, E.-K., Neggers, Y. H., Shin, C.-S., Kim, E., and Kim, E. M. (2010). Alterations in lipid profile of autistic boys: a case control study. *Nutrition Research*, 30(4), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2010.04.002>
- Kim, K. C., Choi, C. S., Kim, J.-W., Han, S.-H., Cheong, J. H., Ryu, J. H., and Shin, C. Y. (2016). MeCP2 Modulates Sex Differences in the Postsynaptic Development of the Valproate Animal Model of Autism. *Molecular Neurobiology*, 53(1), 40–56. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8987-z>
- Kim, K. C., Lee, D.-K., Go, H. S., Kim, P., Choi, C. S., Kim, J.-W., Jeon, S. J., Song, M.-R., and Shin, C. Y. (2014). Pax6-Dependent Cortical Glutamatergic Neuronal Differentiation Regulates Autism-Like Behavior in Prenatally Valproic Acid-Exposed Rat Offspring. *Molecular Neurobiology*, 49(1), 512–528. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8535-2>
- Kim, S. A., Jang, E. H., Mun, J. Y., and Choi, H. (2019). Propionic acid induces mitochondrial dysfunction and affects gene expression for mitochondria biogenesis and neuronal differentiation in SH-SY5Y cell line. *NeuroToxicology*, 75, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.09.009>
- Kim, S., Jo, Y., Liu, Q., Ahn, J., Hong, I., Han, S., Hwang, B., and Lee, M. (2015). Optimization of Extraction Condition of Bee Pollen Using Response Surface Methodology: Correlation between Anti-Melanogenesis, Antioxidant Activity, and Phenolic Content. *Molecules*, 20(11), 19764–19774. <https://doi.org/10.3390/molecules201119656>
- Kishimoto, T., and Kang, S. (2022). IL-6 Revisited: From Rheumatoid Arthritis to CAR T Cell Therapy and COVID-19. *Annual Review of Immunology*, 40(1), 323–348. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-101220-023458>
- Kismet, K., Ozcan, C., Kuru, S., Gencay Celekli, O., Celepli, P., Senes, M., Guclu, T., Sorkun, K., Hucumenoglu, S., and Besler, T. (2017). Does propolis have any effect on non-alcoholic fatty liver disease? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 863–871. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.04.062>

- Kitaura, H., Marahleh, A., Ohori, F., Noguchi, T., Nara, Y., Pramusita, A., Kinjo, R., Ma, J., Kanou, K., and Mizoguchi, I. (2022). Role of the Interaction of Tumor Necrosis Factor- α and Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 in Bone-Related Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1481. <https://doi.org/10.3390/ijms23031481>
- Kittana, M., Ahmadani, A., Al Marzooq, F., and Attlee, A. (2021). Dietary Fat Effect on the Gut Microbiome, and Its Role in the Modulation of Gastrointestinal Disorders in Children with Autism Spectrum Disorder. *Nutrients*, 13(11), 3818. <https://doi.org/10.3390/nu13113818>
- Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., and Olczyk, K. (2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2015/297425>
- Kong, X., Hu, W., Cui, Y., Gao, J., Yao, X., Ren, J., Lin, T., Sun, J., Gao, Y., Li, X., Wang, H., Li, H., Che, F., and Wan, Q. (2022). Transcranial Direct-Current Stimulation Regulates MCT1-PPA-PTEN-LONP1 Signaling to Confer Neuroprotection After Rat Cerebral Ischemia–Reperfusion Injury. *Molecular Neurobiology*, 59(12), 7423–7438. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-03051-7>
- Kong, X., Liu, J., Cetinbas, M., Sadreyev, R., Koh, M., Huang, H., Adeseye, A., He, P., Zhu, J., Russell, H., Hobbie, C., Liu, K., and Onderdonk, A. B. (2019a). New and Preliminary Evidence on Altered Oral and Gut Microbiota in Individuals with Autism Spectrum Disorder (ASD): Implications for ASD Diagnosis and Subtyping Based on Microbial Biomarkers. *Nutrients*, 11(9), 2128. <https://doi.org/10.3390/nu11092128>
- Kong, X., Liu, J., Cetinbas, M., Sadreyev, R., Koh, M., Huang, H., Adeseye, A., He, P., Zhu, J., Russell, H., Hobbie, C., Liu, K., and Onderdonk, A. B. (2019b). New and Preliminary Evidence on Altered Oral and Gut Microbiota in Individuals with Autism Spectrum Disorder (ASD): Implications for ASD Diagnosis and Subtyping Based on Microbial Biomarkers. *Nutrients*, 11(9), 2128. <https://doi.org/10.3390/nu11092128>
- Kowalski, J. L., Nemanich, S. T., Rao, R., Georgieff, Mi., Menk, J., Rudser, K., and Gillick, B. (2019). Abstract #112: Recruitment Challenges in Infant Stroke and Non-Invasive Brain Stimulation Research: Demographics and Factors. *Brain Stimulation*, 12(2), e38–e39. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.12.119>
- Krishnamurthy, V. (2008). A Clinical Experience of Autism in India. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 29(4), 331–333. <https://doi.org/10.1097/DBP.0b013e3181829f1f>
- Ku, K., Park, I., Kim, D., Kim, J., Jang, S., Choi, M., Choe, H. K., and Kim, K. (2020). Gut microbial metabolites induce changes in circadian oscillation of clock gene expression in the mouse embryonic fibroblasts. *Molecules and Cells*, 43(3), 276–285. <https://doi.org/10.14348/molcells.2020.2309>

- Kumar, S., Modgil, S., Bammidi, S., Minhas, G., Shri, R., Kaushik, S., Singh, V., and Anand, A. (2020). Allium cepa exerts neuroprotective effect on retinal ganglion cells of pterygopalatine artery (PPA) ligated mice. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(4), 489–494. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2019.08.002>
- Lange, K.W., Hauser, J., Reissmann, A. (2015). Gluten-free and casein-free diets in the therapy of autism. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 18(5), 572.
- Lee, H.-J., Ahn, H.-J., Kang, C.-S., Choi, J.-C., Choi, H.-J., Lee, K.-G., Kim, J.-I., and Kim, H.-Y. (2010). Naturally occurring propionic acid in foods marketed in South Korea. *Food Control*, 21(2), 217–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.04.006>
- Lee, R. W. Y., Corley, M. J., Pang, A., Arakaki, G., Abbott, L., Nishimoto, M., Miyamoto, R., Lee, E., Yamamoto, S., Maunakea, A. K., Lum-Jones, A., and Wong, M. (2018). A modified ketogenic gluten-free diet with MCT improves behavior in children with autism spectrum disorder. *Physiology & Behavior*, 188, 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.006>
- Leung, L.-W. S., Msi, V., and Desborough, K. A. (1987). Hippocampal electrical activity in the diabetes insipidus (brattleboro) rat. *Experimental Neurology*, 97(3), 672–685. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(87\)90124-5](https://doi.org/10.1016/0014-4886(87)90124-5)
- Li, F., Guo, S., Zhang, S., Peng, S., Cao, W., Ho, C.-T., and Bai, N. (2019). Bioactive Constituents of F. esculentum Bee Pollen and Quantitative Analysis of Samples Collected from Seven Areas by HPLC. *Molecules*, 24(15), 2705. <https://doi.org/10.3390/molecules24152705>
- Li, N., Yang, J., Zhang, J., Liang, C., Wang, Y., Chen, B., Zhao, C., Wang, J., Zhang, G., Zhao, D., Liu, Y., Zhang, L., Yang, J., Li, G., Gai, Z., Zhang, L., and Zhao, G. (2019). Correlation of Gut Microbiome Between ASD Children and Mothers and Potential Biomarkers for Risk Assessment. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 17(1), 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2019.01.002>
- Li, Q., Han, Y., Dy, A. B. C., and Hagerman, R. J. (2017). The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00120>
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., and Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, Volume 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Liu, F., Li, J., Wu, F., Zheng, H., Peng, Q., and Zhou, H. (2019). Altered composition and function of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: a systematic review. *Translational Psychiatry*, 9(1), 43. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0389-6>
- Liu, Z., Tan, S., Zhou, L., Chen, L., Liu, M., Wang, W., Tang, Y., Yang, Q., Chi, S., Jiang, P., Zhang, Y., Cui, Y., Qin, J., Hu, X., Li, S., Liu, Q., Chen, L., Li, S., Burstein, E., and Jia, D. (2023). SCGN deficiency is a risk factor for autism spectrum disorder. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 3. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01225-2>

- Lobzhanidze, G., Japaridze, N., Lordkipanidze, T., Rzaev, F., MacFabe, D., and Zhvania, M. (2020). Behavioural and brain ultrastructural changes following the systemic administration of propionic acid in adolescent male rats. Further development of a rodent model of autism. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 80(2), 139–156. <https://doi.org/10.1002/jdn.10011>
- Loomes, R., Hull, L., and Mandy, W. P. L. (2017). What Is the Male-to-Female Ratio in Autism Spectrum Disorder? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 56(6), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2017.03.013>
- López-Cabanillas, R., Huayanay-Conde, R., Gonzales, C., Maguiña, M., Granados, I., Ccasani, M., Laguna, A., León, E., Romero-Caballero, N., and Chacón, J. (2017). Actividad antiurólítica del extracto etanólico de propóleo ayacuchano en ratas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 34(4), 642. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2730>
- MacFabe, D. F. (2012). Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 23. <https://doi.org/10.3402/mehd.v23i0.19260>
- MacFabe, D. F. (2015a). Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 26. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.28177>
- MacFabe, D. F. (2015b). Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 26. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.28177>
- MacFabe, D. F., Cain, N. E., Boon, F., Ossenkopp, K.-P., and Cain, D. P. (2011). Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: Relevance to autism spectrum disorder. *Behavioural Brain Research*, 217(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.10.005>
- MacFabe, D. F., Rodríguez, K., Hoffman, J. E., Franklin, A. E., Mohammad-A, Y., Taylor, A. R., Boon, F., Cain, D. P., Kavaliers, M., Possmayer, F., and Ossenkopp, K.-P. (2008). A Novel Rodent Model of Autism: Intraventricular Infusions of Propionic Acid Increase Locomotor Activity and Induce Neuroinflammation and Oxidative Stress in Discrete Regions of Adult Rat Brain. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(2), 146–166. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2008.146.166>
- MacFabe, D. F., Rodríguez-Capote, K., Hoffman, J. E., Franklin, A. E., Mohammad-Asef, Y., Taylor, A. R., Boon, F., Cain, D. P., Kavaliers, M., Possmayer, F., and Ossenkopp, K. P. (2008). A novel rodent model of autism: Intraventricular infusions of propionic acid increase locomotor activity and induce neuroinflammation and oxidative stress in discrete regions of adult rat brain. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(2), 146–166. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2008.146.166>

- Macfabe, D., Cain, D., Rodriguezcapote, K., Franklin, A., Hoffman, J., Boon, F., Taylor, A., Kavaliers, M., and Ossenkopp, K. (2007a). Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behavioural Brain Research*, 176(1), 149–169. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.07.025>
- Macfabe, D., Cain, D., Rodriguezcapote, K., Franklin, A., Hoffman, J., Boon, F., Taylor, A., Kavaliers, M., and Ossenkopp, K. (2007b). Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behavioural Brain Research*, 176(1), 149–169. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.07.025>
- Malik, M., Sheikh, A. M., Wen, G., Spivack, W., Brown, W. T., and Li, X. (2011). Expression of inflammatory cytokines, Bcl2 and cathepsin D are altered in lymphoblasts of autistic subjects. *Immunobiology*, 216(1–2), 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.03.001>
- Mama, M., Teshome, T., and Detamo, J. (2019). Antibacterial Activity of Honey against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Laboratory-Based Experimental Study. *International Journal of Microbiology*, 2019, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/7686130>
- Mandic-Maravic, V., Mitkovic-Voncina, M., Pljesa-Ercegovac, M., Savic-Radojevic, A., Djordjevic, M., Ercegovac, M., Pekmezovic, T., Simic, T., and Pejovic-Milovancevic, M. (2021). Glutathione S-Transferase Polymorphisms and Clinical Characteristics in Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.672389>
- Margaoan, R., Marghitas, L. A., Dezmirean, D. S., Bobis, O., Bonta, V., Catana, C., Urcan, A., Muresan, C. I., and Margin, M. G. (2017). Comparative Study on Quality Parameters of Royal Jelly, Apilarnil and Queen Bee Larvae Triturate. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 74(1), 51. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:12622>
- Mari-Bauset, S., Zazpe, I., Mari-Sanchis, A., Llopis-González, A., Morales-Suárez-Varela, M. (2014). Evidence of the gluten-free and casein-free diet in autism spectrum disorders: A systematic review. *Journal of Child Neurology*, 29(27), 1718.
- Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Bartosiuk, E., Moskwa, J., Isidorov, V., Soroczyńska, J., and Borawska, M. H. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of beebread, and its influence on the glioblastoma cell line (U87MG). *Journal of Apicultural Science*, 57(2), 147–157. <https://doi.org/10.2478/jas-2013-0025>
- Martín, M. G., Pfrieger, F., and Dotti, C. G. (2014). Cholesterol in brain disease: sometimes determinant and frequently implicated. *EMBO Reports*, 15(10), 1036–1052. <https://doi.org/10.15252/embr.201439225>
- Martinello, M., and Mutinelli, F. (2021). Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants*, 10(1), 71. <https://doi.org/10.3390/antiox10010071>

- Martini, G.A., Brandes, J.W. (1976). Increased consumption of refined carbohydrates in patients with Crohn's disease. *Wiener klinische Wochenschrift*, 54, 367-71.
- Masi, A., Glozier, N., Dale, R., and Guastella, A. J. (2017). The Immune System, Cytokines, and Biomarkers in Autism Spectrum Disorder. *Neuroscience Bulletin*, 33(2), 194–204. <https://doi.org/10.1007/s12264-017-0103-8>
- Masi, A., Quintana, D. S., Glozier, N., Lloyd, A. R., Hickie, I. B., and Guastella, A. J. (2015). Cytokine aberrations in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, 20(4), 440–446. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.59>
- Matsueda, K., Yamato, S., Umeda, N. (1996). Epidemiologic analysis of Crohn disease in Japan: increased dietary intake of n-6 polyunsaturated fatty acids and animal protein relates to the increased incidence of Crohn disease in Japan. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(5),741.
- Mattson, M. P., Allison, D. B., Fontana, L., Harvie, M., Longo, V. D., Malaisse, W. J., Mosley, M., Notterpek, L., Ravussin, E., Scheer, F. A. J. L., Seyfried, T. N., Varady, K. A., and Panda, S. (2014). Meal frequency and timing in health and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(47), 16647–16653. <https://doi.org/10.1073/pnas.1413965111>
- Mayer, E. A., Knight, R., Mazmanian, S. K., Cryan, J. F., and Tillisch, K. (2014). Gut Microbes and the Brain: Paradigm Shift in Neuroscience. *Journal of Neuroscience*, 34(46), 15490–15496. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3299-14.2014>
- Mazahery, H., Conlon, C. A., Beck, K. L., Mugridge, O., Kruger, M. C., Stonehouse, W., Camargo, C. A., Meyer, B. J., Jones, B., and von Hurst, P. R. (2019). A randomised controlled trial of vitamin D and omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in the treatment of irritability and hyperactivity among children with autism spectrum disorder. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 187, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.10.017>
- Meador, K. J., Baker, G. A., Browning, N., Clayton-Smith, J., Combs-Cantrell, D. T., Cohen, M., Kalayjian, L. A., Kanner, A., Liporace, J. D., Pennell, P. B., Privitera, M., and Loring, D. W. (2009). Cognitive Function at 3 Years of Age after Fetal Exposure to Antiepileptic Drugs. *New England Journal of Medicine*, 360(16), 1597–1605. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0803531>
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., and Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Mephram, J. R., MacFabe, D. F., Boon, F. H., Foley, K. A., Cain, D. P., and Ossenkopp, K.-P. (2021). Examining the non-spatial pretraining effect on a water maze spatial learning task in rats treated with multiple intracerebroventricular (ICV) infusions of propionic acid: Contributions to a rodent model of ASD. *Behavioural Brain Research*, 403, 113140. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113140>

- Meyers, L., Groover, C. J., Douglas, J., Lee, S., Brand, D., Levin, M. C., and Gardner, L. A. (2014). A role for Apolipoprotein A-I in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 277(1–2), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.10.010>
- Miles, J. H. (2011). Autism spectrum disorders—A genetics review. *Genetics in Medicine*, 13(4), 278–294. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181ff67ba>
- Milner, J. A. (1985). Metabolic Aberrations Associated with Arginine Deficiency. *The Journal of Nutrition*, 115(4), 516–523. <https://doi.org/10.1093/jn/115.4.516>
- Mines, M. A., Yuskaitis, C. J., King, M. K., Beurel, E., and Jope, R. S. (2010). GSK3 Influences Social Preference and Anxiety-Related Behaviors during Social Interaction in a Mouse Model of Fragile X Syndrome and Autism. *PLoS ONE*, 5(3), e9706. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009706>
- Mirza, R., and Sharma, B. (2019). A selective peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist benefited propionic acid induced autism-like behavioral phenotypes in rats by attenuation of neuroinflammation and oxidative stress *Chemico-Biological Interactions*, 311, 108758. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108758>
- Mishima, S., Suzuki, K.-M., Isohama, Y., Kuratsu, N., Araki, Y., Inoue, M., and Miyata, T. (2005). Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1–3), 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.012>
- Mitsui, r., Ono, S., Karaki, S., and Kuwahara, A. (2005). Neural and non-neural mediation of propionate-induced contractile responses in the rat distal colon. *Neurogastroenterology and Motility*, 17(4), 585–594. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2005.00669.x>
- Miyata, Y., Araki, K., Ohba, K., Mastuo, T., Nakamura, Y., Yuno, T., Mukai, Y., Otsubo, A., Mitsunari, K., Mochizuki, Y., and Sakai, H. (2020). [Corrigendum] Oral intake of royal jelly improves anti-cancer effects and suppresses adverse events of molecular targeted therapy by regulating TNF- α and TGF- β in renal cell carcinoma: A preliminary study based on a randomized double-bl. *Molecular and Clinical Oncology*, 13(6), 1–1. <https://doi.org/10.3892/mco.2020.2148>
- Miyazaki, K., Narita, N., and Narita, M. (2005). Maternal administration of thalidomide or valproic acid causes abnormal serotonergic neurons in the offspring: implication for pathogenesis of autism. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 23(2–3), 287–297. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2004.05.004>
- Modabbernia, A., Velthorst, E., and Reichenberg, A. (2017). Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Molecular Autism*, 8(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s13229-017-0121-4>
- Moghazy, A. M., Shams, M. E., Adly, O. A., Abbas, A. H., El-Badawy, M. A., Elsakka, D. M., Hassan, S. A., Abdelmohsen, W. S., Ali, O. S., and Mohamed, B. A. (2010). The clinical and cost effectiveness of bee honey dressing in the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 89(3), 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.05.021>

- Mohamed, N. A., Ahmed, O. M., Hozayen, W. G., and Ahmed, M. A. (2018). Ameliorative effects of bee pollen and date palm pollen on the glycemic state and male sexual dysfunctions in streptozotocin-Induced diabetic wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.117>
- Mohammad-Rezazadeh, I., Frohlich, J., Loo, S. K., and Jeste, S. S. (2016). Brain connectivity in autism spectrum disorder. *Current Opinion in Neurology*, 29(2), 137–147. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000301>
- Moses, L., Katz, N., and Weizman, A. (2014). Metabolic profiles in adults with autism spectrum disorder and intellectual disabilities. *European Psychiatry*, 29(7), 397–401. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2013.05.005>
- Moss, J., and Howlin, P. (2009). Autism spectrum disorders in genetic syndromes: implications for diagnosis, intervention and understanding the wider autism spectrum disorder population. *Journal of Intellectual Disability Research*, 53(10), 852–873. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.2009.01197.x>
- Münstedt, K., Bargello, M., and Hauenschild, A. (2009). Royal Jelly Reduces the Serum Glucose Levels in Healthy Subjects. *Journal of Medicinal Food*, 12(5), 1170–1172. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0289>
- Nadebaum, C., Anderson, V., Vajda, F., Reutens, D., Barton, S., and Wood, A. (2011). The Australian Brain and Cognition and Antiepileptic Drugs Study: IQ in School-Aged Children Exposed to Sodium Valproate and Polytherapy. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 17(01), 133–142. <https://doi.org/10.1017/S1355617710001359>
- Nagai, T., and Inoue, R. (2004). Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chemistry*, 84(2), 181–186. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00198-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00198-5)
- Nallagangula, K. S., Nagaraj, S. K., Venkataswamy, L., and Chandrappa, M. (2018a). Liver fibrosis: a compilation on the biomarkers status and their significance during disease progression. *Future Science OA*, 4(1), FSO250. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0083>
- Nallagangula, K. S., Nagaraj, S. K., Venkataswamy, L., and Chandrappa, M. (2018b). Liver fibrosis: a compilation on the biomarkers status and their significance during disease progression. *Future Science OA*, 4(1), FSO250. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0083>
- Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., and Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>
- Narita, M., Oyabu, A., Imura, Y., Kamada, N., Yokoyama, T., Tano, K., Uchida, A., and Narita, N. (2010). Nonexploratory movement and behavioral alterations in a thalidomide or valproic acid-induced autism model rat. *Neuroscience Research*, 66(1), 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2009.09.001>

- Nau, H., Hauck, R.-S., and Ehlers, K. (1991). Valproic Acid-Induced Neural Tube Defects in Mouse and Human: Aspects of Chirality, Alternative Drug Development, Pharmacokinetics and Possible Mechanisms. *Pharmacology & Toxicology*, 69(5), 310–321. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1991.tb01303.x>
- Nayan, N. S., Yazid, M. A. M., Nallappan, K., Amran, A. A., Zaidi, N. S., Zakaria, F., Hassan, H., and Karim, N. A. (2020). In Vitro Modulation of Endogenous Antioxidant Enzyme Activities and Oxidative Stress in Autism Lymphoblastoid Cell Line (ALCL) by Stingless Bee Honey Treatment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/4539891>
- Nguyen, R. L., Medvedeva, Y. v., Ayyagari, T. E., Schmunk, G., and Gargus, J. J. (2018). Intracellular calcium dysregulation in autism spectrum disorder: An analysis of converging organelle signaling pathways. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1865(11), 1718–1732. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.003>
- Nickl-Jockschat, T., Habel, U., Maria Michel, T., Manning, J., Laird, A. R., Fox, P. T., Schneider, F., and Eickhoff, S. B. (2012). Brain structure anomalies in autism spectrum disorder-a meta-analysis of VBM studies using anatomic likelihood estimation. *Human Brain Mapping*, 33(6), 1470–1489. <https://doi.org/10.1002/hbm.21299>
- Nicolini, C., and Fahnestock, M. (2018). The valproic acid-induced rodent model of autism. *Experimental Neurology*, 299, 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.04.017>
- Oldenburg, H.S., Siroen, M.P., Boelens, P.G., Sluijter, B.J., Pruitt, J.H., Naseri, A.H. (2004). Aortic aneurysm repair is associated with a lower inflammatory response compared with surgery for inflammatory bowel disease. *European Surgical Research*, 36(52), 266–73.
- Olson, L. A., Mash, L. E., Linke, A., Fong, C. H., Müller, R.-A., and Fishman, I. (2020). Sex-related patterns of intrinsic functional connectivity in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Autism*, 24(8), 2190–2201. <https://doi.org/10.1177/1362361320938194>
- Onore, C., Careaga, M., and Ashwood, P. (2012). The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26(3), 383–392. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.08.007>
- Orozco, J. S., Hertz-Picciotto, I., Abbeduto, L., and Slupsky, C. M. (2019). Metabolomics analysis of children with autism, idiopathic-developmental delays, and Down syndrome. *Translational Psychiatry*, 9(1), 243. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0578-3>
- Ozonoff, S., Young, G. S., Carter, A., Messinger, D., Yirmiya, N., Zwaigenbaum, L., Bryson, S., Carver, L. J., Constantino, J. N., Dobkins, K., Hutman, T., Iverson, J. M., Landa, R., Rogers, S. J., Sigman, M., and Stone, W. L. (2011). Recurrence Risk for Autism Spectrum Disorders: A Baby Siblings Research Consortium Study. *Pediatrics*, 128(3), e488–e495. <https://doi.org/10.1542/peds.2010-2825>

- Ozturk, O., Basay, O., Basay, B. K., Alacam, H., Buber, A., Kaptanoglu, B., Enli, Y., Dogan, M., Tuncer, O. F., and Kardesler, A. C. (2016). Oxidative Imbalance in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, 26(3), 257–264. <https://doi.org/10.5455/bcp.20160323105909>
- Park, H. R., Lee, J. M., Moon, H. E., Lee, D. S., Kim, B.-N., Kim, J., Kim, D. G., and Paek, S. H. (2016). A Short Review on the Current Understanding of Autism Spectrum Disorders. *Experimental Neurobiology*, 25(1), 1–13. <https://doi.org/10.5607/en.2016.25.1.1>
- Parletta, N., Niyonsenga, T., Duff, J. (2016). Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acid Levels and Correlations with Symptoms in Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder, Autistic Spectrum Disorder and Typically Developing Controls. *Plos One Journals*, 1-16, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156432>
- Pecorelli, A., Leoncini, S., de Felice, C., Signorini, C., Cerrone, C., Valacchi, G., Ciccoli, L., and Hayek, J. (2013). Non-protein-bound iron and 4-hydroxynonenal protein adducts in classic autism. *Brain and Development*, 35(2), 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2012.03.011>
- Pfriege, F. W. (2003). Cholesterol homeostasis and function in neurons of the central nervous system. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60(6), 1158–1171. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3018-7>
- Pistollato, F., Forbes-Hernández, T. Y., Calderón Iglesias, R., Ruiz, R., Elexpuru Zabaleta, M., Cianciosi, D., Giampieri, F., and Battino, M. (2020). Pharmacological, non-pharmacological and stem cell therapies for the management of autism spectrum disorders: A focus on human studies. *Pharmacological Research*, 152, 104579. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104579>
- Pobbe, R. L. H., Pearson, B. L., Defensor, E. B., Bolivar, V. J., Young, W. S., Lee, H.-J., Blanchard, D. C., and Blanchard, R. J. (2012). Oxytocin receptor knockout mice display deficits in the expression of autism-related behaviors. *Hormones and Behavior*, 61(3), 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.10.010>
- Poutahidis, T., Springer, A., Levkovich, T., Qi, P., Varian, B.J., Lakritz, J.R., Ibrahim, Y.M., Chatzigiagkos, A., Alm, E.J., Erdman, S.E. (2014). Probiotic Microbes Sustain Youthful Serum Testosterone Levels and Testicular Size in Aging Mice. *PLoS One*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084877>
- Premkumar, G., Bhagyalakshmi, V., and Sandhya, S. (2023). A correlation biomarker between BMI and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus with and without other complications. *Indian Journal of Medical Sciences*, 74, 122. https://doi.org/10.25259/IJMS_359_2021
- Prete, V., Papadopoulos, D., Regard, J., Pelletier, M., and Woo, J. (2022). Interleukin-1 (IL-1) and the inflammasome in cancer. *Cytokine*, 153, 155850. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.155850>

- Qiu, S., Lu, Y., Li, Y., Shi, J., Cui, H., Gu, Y., Li, Y., Zhong, W., Zhu, X., Liu, Y., Cheng, Y., Liu, Y., and Qiao, Y. (2020). Prevalence of autism spectrum disorder in Asia: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Research*, 284, 112679. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.112679>
- Qiu, W., Chen, X., Tian, Y., Wu, D., Du, M., and Wang, S. (2020). Protection against oxidative stress and anti-aging effect in *Drosophila* of royal jelly-collagen peptide. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 110881. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110881>
- Rafiki, A., Boulland, J. L., Halestrap, A. P., Ottersen, O. P., and Bergersen, L. (2003a). Highly differential expression of the monocarboxylate transporters MCT2 and MCT4 in the developing rat brain. *Neuroscience*, 122(3), 677–688. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.040>
- Rafiki, A., Boulland, J. L., Halestrap, A. P., Ottersen, O. P., and Bergersen, L. (2003b). Highly differential expression of the monocarboxylate transporters MCT2 and MCT4 in the developing rat brain. *Neuroscience*, 122(3), 677–688. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.040>
- Raina, S. K., Chander, V., Bhardwaj, A. K., Kumar, D., Sharma, S., Kashyap, V., Singh, M., and Bhardwaj, A. (2017). Prevalence of Autism Spectrum Disorder among Rural, Urban, and Tribal Children (1–10 Years of Age). *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 08(03), 368–374. https://doi.org/10.4103/jnrp.jnrp_329_16
- Ramadan, M. F., and Al-Ghamdi, A. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 39–52. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.12.007>
- Ranneh, Y., Akim, A. M., Hamid, H. A., Khazaai, H., Fadel, A., and Mahmoud, A. M. (2019). Stingless bee honey protects against lipopolysaccharide induced-chronic subclinical systemic inflammation and oxidative stress by modulating Nrf2, NF- κ B and p38 MAPK. *Nutrition & Metabolism*, 16(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0341-z>
- Righetto, I., Gasparotto, M., Casalino, L., Vacca, M., and Filippini, F. (2023). Exogenous Players in Mitochondria-Related CNS Disorders: Viral Pathogens and Unbalanced Microbiota in the Gut-Brain Axis. *Biomolecules*, 13(1), 169. <https://doi.org/10.3390/biom13010169>
- Rinehart, N. J., Tonge, B. J., Iansek, R., McGinley, J., Brereton, A. v, Enticott, P. G., and Bradshaw, J. L. (2006). Gait function in newly diagnosed children with autism: cerebellar and basal ganglia related motor disorder. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 48(10), 819. <https://doi.org/10.1017/S0012162206001769>
- Ripari, N., Sartori, A. A., da Silva Honorio, M., Conte, F. L., Tasca, K. I., Santiago, K. B., and Sforcin, J. M. (2021). Propolis antiviral and immunomodulatory activity: a review and perspectives for COVID-19 treatment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 73(3), 281–299. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgaa067>

- Risco-ríos, C. A., Pérez-piñeiro, A., Álvarez-rivera, V. P., Rodríguez-, G., Leiva-castillo, V., and García-neninger, Y. P. R. (2012). Bacterias ácido-lácticas para ensilar polen apícola. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 43(1), 17–21.
- Ristori, M.V., Quagliariello, A., Reddel, S., Ianiro, G., Vicari, S., Gasbarrini, A. (2019). Autism, gastrointestinal symptoms and modulation of gut microbiota by nutritional interventions. *Nutrients*, 11, 2812.
- Rivet, T. T., and Matson, J. L. (2011). Review of gender differences in core symptomatology in autism spectrum disorders. *Research in Autism Spectrum Disorders*, 5(3), 957–976. <https://doi.org/10.1016/j.rasd.2010.12.003>
- Rogers, G. B., Keating, D. J., Young, R. L., Wong, M.-L., Licinio, J., and Wesselingh, S. (2016). From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Molecular Psychiatry*, 21(6), 738–748. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.50>
- Roheim, P. S., Carey, M., Forte, T., and Vega, G. L. (1979). Apolipoproteins in human cerebrospinal fluid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(9), 4646–4649. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4646>
- Ros, E., Martínez-González, M.A., Estruch, R., Salas-Salvadó, J., Fitó, M., Martínez, J.A. (2014). Mediterranean diet and cardiovascular health: Teachings of the predimed study. *Advances in Nutrition*, 5(6), 330.
- Rose, S., Melnyk, S., Pavliv, O., Bai, S., Nick, T. G., Frye, R. E., and James, S. J. (2012). Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Translational Psychiatry*, 2(7), e134–e134. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.61>
- Rosenfeld, C. S. (2015). Microbiome Disturbances and Autism Spectrum Disorders. *Drug Metabolism and Disposition*, 43(10), 1557–1571. <https://doi.org/10.1124/dmd.115.063826>
- Rossignol, D. A., and Bradstreet, J. J. (2008). Evidence of Mitochondrial Dysfunction in Autism and Implications for Treatment. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(2), 208–217. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2008.208.217>
- Rossignol, D. A., and Frye, R. E. (2012). Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, 17(3), 290–314. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.136>
- Roulet, F. I., Lai, J. K. Y., and Foster, J. A. (2013). In utero exposure to valproic acid and autism — A current review of clinical and animal studies. *Neurotoxicology and Teratology*, 36, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2013.01.004>
- Rutter, M., and Schopler, E. (1987). Autism and pervasive developmental disorders: Concepts and diagnostic issues. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 17(2), 159–186. <https://doi.org/10.1007/BF01495054>

- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabala-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A., and Buszman, E. (2015). Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20(12), 21732–21749. <https://doi.org/10.3390/molecules201219800>
- Sasson, N. J., Turner-Brown, L. M., Holtzclaw, T. N., Lam, K. S. L., and Bodfish, J. W. (2008). Children with autism demonstrate circumscribed attention during passive viewing of complex social and nonsocial picture arrays. *Autism Research*, 1(1), 31–42. <https://doi.org/10.1002/aur.4>
- Satterstrom, F. K., Kosmicki, J. A., Wang, J., Breen, M. S., de Rubeis, S., An, J.-Y., Peng, M., Collins, R., Grove, J., Klei, L., Stevens, C., Reichert, J., Mulhern, M. S., Artomov, M., Gerges, S., Sheppard, B., Xu, X., Bhaduri, A., Norman, U., and Walters, R. K. (2020). Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell*, 180(3), 568–584.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.036>
- Sauer, A. K., Stanton, J. E., Hans, S., and Grubruck, A. M. (2021a). Autism Spectrum Disorders: Etiology and Pathology. In *Autism Spectrum Disorders* (pp. 1–16). Exon Publications. <https://doi.org/10.36255/exonpublications.autismspectrumdisorders.2021.etiology>
- Sauer, A. K., Stanton, J. E., Hans, S., and Grubruck, A. M. (2021b). Autism Spectrum Disorders: Etiology and Pathology. In *Autism Spectrum Disorders* (pp. 1–16). Exon Publications. <https://doi.org/10.36255/exonpublications.autismspectrumdisorders.2021.etiology>
- Scheau, C., Badarau, I. A., Lupescu, I. G., Papacoccea, I. R., Mihai, G. L., Papacoccea, M. T., and Scheau, A. E. (2019). The Pivotal Role of the Glutamate - glutamine Cycle in Minimal Hepatic Encephalopathy. An experimental magnetic resonance spectroscopy study. *Revista de Chimie*, 70(8), 2959–2962. <https://doi.org/10.37358/RC.19.8.7464>
- Schengrund, C.-L., Ali-Rahmani, F., and Ramer, J. C. (2012). Cholesterol, GM1, and Autism. *Neurochemical Research*, 37(6), 1201–1207. <https://doi.org/10.1007/s11064-011-0697-6>
- Seres, A. B., Ducza, E., Báthori, M., Hunyadi, A., Béni, Z., Dékány, M., and Gáspár, R. (2013). Raw Drone Milk of Honeybees Elicits Uterotrophic Effect in Rats: Evidence for Estrogenic Activity. *Journal of Medicinal Food*, 16(5), 404–409. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0232>
- Shahjadi, S., Khan, A. S., and Ahmed, M. U. (2017). Mitochondrial Dysfunction in Early Diagnosed Autism Spectrum Disorder Children. *Journal of Dhaka Medical College*, 26(1), 43–47. <https://doi.org/10.3329/jdmc.v26i1.34000>
- Shanmugam, H., Ganguly, S., and Priya, B. (2022). Plant food bioactives and its effects on gut microbiota profile modulation for better brain health and functioning in Autism Spectrum Disorder individuals: A review. *Food Frontiers*, 3(1), 124–141. <https://doi.org/10.1002/fft2.125>

- Shao, Y., Forster, S. C., Tsaliki, E., Vervier, K., Strang, A., Simpson, N., Kumar, N., Stares, M. D., Rodger, A., Brocklehurst, P., Field, N., and Lawley, T. D. (2019). Stunted microbiota and opportunistic pathogen colonization in caesarean-section birth. *Nature*, 574(7776), 117–121. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1560-1>
- Shaw, K. A., Maenner, M. J., Baio, J., Washington, A., Christensen, D. L., Wiggins, L. D., Pettygrove, S., Andrews, J. G., White, T., Rosenberg, C. R., Constantino, J. N., Fitzgerald, R. T., Zahorodny, W., Shenouda, J., Daniels, J. L., Salinas, A., Durkin, M. S., and Dietz, P. M. (2020). Early Identification of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 4 Years — Early Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, Six Sites, United States, 2016. *MMWR. Surveillance Summaries*, 69(3), 1–11. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6903a1>
- Shultz, S. R., and MacFabe, D. F. (2014a). Propionic Acid Animal Model of Autism. In *Comprehensive Guide to Autism* (pp. 1755–1778). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4788-7_106
- Shultz, S. R., and MacFabe, D. F. (2014b). Propionic Acid Animal Model of Autism. In *Comprehensive Guide to Autism* (pp. 1755–1778). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4788-7_106
- Shultz, S. R., MacFabe, D. F., Martin, S., Jackson, J., Taylor, R., Boon, F., Ossenkopp, K.-P., and Cain, D. P. (2009). Intracerebroventricular injections of the enteric bacterial metabolic product propionic acid impair cognition and sensorimotor ability in the Long–Evans rat: Further development of a rodent model of autism. *Behavioural Brain Research*, 200(1), 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.12.023>
- Shultz, S. R., MacFabe, D. F., Ossenkopp, K.-P., Scratch, S., Whelan, J., Taylor, R., and Cain, D. P. (2008). Intracerebroventricular injection of propionic acid, an enteric bacterial metabolic end-product, impairs social behavior in the rat: Implications for an animal model of autism. *Neuropharmacology*, 54(6), 901–911. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.01.013>
- Sidor, E., and Džugan, M. (2020). Drone Brood Homogenate as Natural Remedy for Treating Health Care Problem: A Scientific and Practical Approach. *Molecules*, 25(23), 5699. <https://doi.org/10.3390/molecules25235699>
- Sikich, L., Kolevzon, A., King, B. H., McDougale, C. J., Sanders, K. B., Kim, S.-J., Spanos, M., Chandrasekhar, T., Trelles, M. D. P., Rockhill, C. M., Palumbo, M. L., Witters Cundiff, A., Montgomery, A., Siper, P., Minjarez, M., Nowinski, L. A., Marler, S., Shuffrey, L. C., Alderman, C., and Veenstra-VanderWeele, J. (2021). Intranasal Oxytocin in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder. *New England Journal of Medicine*, 385(16), 1462–1473. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2103583>
- Silva, L. R., Lima, S. M. P., and Vasconcelos, N. A. e L. M. (2016). Diversidade cultural - diálogos interdisciplinares entre povos indígenas e não indígenas - uma experiencia na formação inicial docente. *Revista Ambivalências*, 4(7), 309. <https://doi.org/10.21665/2318-3888.v4n7p309-323>

- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., and Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–29. <https://doi.org/10.1155/2015/206439>
- Silveira, M. A. D., de Jong, D., Berretta, A. A., Galvão, E. B. dos S., Ribeiro, J. C., Cerqueira-Silva, T., Amorim, T. C., Conceição, L. F. M. R. da, Gomes, M. M. D., Teixeira, M. B., Souza, S. P. de, Santos, M. H. C. A. dos, San Martin, R. L. A., Silva, M. de O., Lírio, M., Moreno, L., Sampaio, J. C. M., Mendonça, R., Ultchak, S. S., and Passos, R. da H. (2021). Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111526. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111526>
- Skalny, A. v., Simashkova, N. v., Klyushnik, T. P., Grabeklis, A. R., Bjørklund, G., Skalnaya, M. G., Nikonorov, A. A., and Tinkov, A. A. (2017). Hair toxic and essential trace elements in children with autism spectrum disorder. *Metabolic Brain Disease*, 32(1), 195–202. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9899-6>
- Skalny, A. v., Simashkova, N. v., Skalnaya, A. A., Klyushnik, T. P., Bjørklund, G., Skalnaya, M. G., and Tinkov, A. A. (2017). Assessment of gender and age effects on serum and hair trace element levels in children with autism spectrum disorder. *Metabolic Brain Disease*, 32(5), 1675–1684. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0056-7>
- Sobral, F., Calhelha, R., Barros, L., Dueñas, M., Tomás, A., Santos-Buelga, C., Vilas-Boas, M., and Ferreira, I. (2017). Flavonoid Composition and Antitumor Activity of Bee Bread Collected in Northeast Portugal. *Molecules*, 22(2), 248. <https://doi.org/10.3390/molecules22020248>
- Sookoian, S., Gemma, C., Gianotti, T. F., Burgueño, A., Alvarez, A., González, C. D., and Pirola, C. J. (2007). Serotonin and Serotonin Transporter Gene Variant in Rotating Shift Workers. *Sleep*, 30(8), 1049–1053. <https://doi.org/10.1093/sleep/30.8.1049>
- Strati, F., Cavalieri, D., Albanese, D., de Felice, C., Donati, C., Hayek, J., Jousson, O., Leoncini, S., Renzi, D., Calabrò, A., and de Filippo, C. (2017). New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*, 5(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0242-1>
- Streit, W. J. (2000). Microglial Response to Brain Injury: A Brief Synopsis. *Toxicologic Pathology*, 28(1), 28–30. <https://doi.org/10.1177/019262330002800104>
- Strittmatter, W. J., Saunders, A. M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G. S., and Roses, A. D. (1993). Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(5), 1977–1981. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.5.1977>

- Sugiyama, T., Takahashi, K., and Mori, H. (2012). Royal Jelly Acid, 10-Hydroxy-trans-2-Decenoic Acid, as a Modulator of the Innate Immune Responses. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 12(4), 368–376. <https://doi.org/10.2174/187153012803832530>
- Suzuki, R., Sato, Y., Fukaya, M., Suzuki, D., Yoshizawa, F., and Sato, Y. (2021). Energy metabolism profile of the effects of amino acid treatment on hepatocytes: Phenylalanine and phenylpyruvate inhibit glycolysis of hepatocytes. *Nutrition*, 82, 111042. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.111042>
- Swellam, T., Miyanaga, N., Onozawa, M., Hattori, K., Kawai, K., Shimazui, T., and Akaza, H. (2003). Antineoplastic activity of honey in an experimental bladder cancer implantation model: In vivo and in vitro studies. *International Journal of Urology*, 10(4), 213–219. <https://doi.org/10.1046/j.0919-8172.2003.00602.x>
- Sztainberg, Y., and Zoghbi, H. Y. (2016). Lessons learned from studying syndromic autism spectrum disorders. *Nature Neuroscience*, 19(11), 1408–1417. <https://doi.org/10.1038/nn.4420>
- Tamai, I., Takanaga, H., Ogihara, T., Higashida, H., Maeda, H., Sai, Y., and Tsuji, A. (1995). Participation of a Proton-Cotransporter, MCT1, in the Intestinal Transport of Monocarboxylic Acids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 214(2), 482–489. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2312>
- Tawfik, A. I., Ahmed, Z. H., Abdel-Rahman, M. F., and Moustafa, A. M. (2022). Effect of some bee bread quality on protein content and antioxidant system of honeybee workers. *International Journal of Tropical Insect Science*, 43(1), 93–105. <https://doi.org/10.1007/s42690-022-00888-2>
- Thomas, R. H., Foley, K. A., Mephram, J. R., Tichenoff, L. J., Possmayer, F., and MacFabe, D. F. (2010). Altered brain phospholipid and acylcarnitine profiles in propionic acid infused rodents: further development of a potential model of autism spectrum disorders. *Journal of Neurochemistry*, 113(2), 515–529. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06614.x>
- Tiwari, A., Khera, R., Rahi, S., Mehan, S., Makeen, H. A., Khormi, Y. H., Rehman, M. U., and Khan, A. (2021). Neuroprotective Effect of α -Mangostin in Ameliorating Propionic Acid-Induced Experimental Model of Autism in Wistar Rats. *Brain Sciences*, 11(3), 288. <https://doi.org/10.3390/brainsci11030288>
- Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., and Park, Y. K. (2013). Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2013/697390>
- Toscano, C. V. A., Carvalho, H. M., and Ferreira, J. P. (2018). Exercise Effects for Children With Autism Spectrum Disorder: Metabolic Health, Autistic Traits, and Quality of Life. *Perceptual and Motor Skills*, 125(1), 126–146. <https://doi.org/10.1177/0031512517743823>

- Tsai, P. T., Hull, C., Chu, Y., Greene-Colozzi, E., Sadowski, A. R., Leech, J. M., Steinberg, J., Crawley, J. N., Regehr, W. G., and Sahin, M. (2012a). Autistic-like behaviour and cerebellar dysfunction in Purkinje cell Tsc1 mutant mice. *Nature*, 488(7413), 647–651. <https://doi.org/10.1038/nature11310>
- Tsai, P. T., Hull, C., Chu, Y., Greene-Colozzi, E., Sadowski, A. R., Leech, J. M., Steinberg, J., Crawley, J. N., Regehr, W. G., and Sahin, M. (2012b). Autistic-like behaviour and cerebellar dysfunction in Purkinje cell Tsc1 mutant mice. *Nature*, 488(7413), 647–651. <https://doi.org/10.1038/nature11310>
- Tu, W.-J., Chen, H., and He, J. (2012). Application of LC-MS/MS analysis of plasma amino acids profiles in children with autism. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.12-45>
- Tubío-Fungueiriño, M., Cruz, S., Sampaio, A., Carracedo, A., and Fernández-Prieto, M. (2021). Social Camouflaging in Females with Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 51(7), 2190–2199. <https://doi.org/10.1007/s10803-020-04695-x>
- Uddin, M. N., Mondal, T., Yao, Y., Manley, K., and Lawrence, D. A. (2023). Oxidative stress and neuroimmune proteins in a mouse model of autism. *Cell Stress and Chaperones*. <https://doi.org/10.1007/s12192-023-01331-2>
- Uğur, Ç., Tunca, H., Sekmen, E., Neri, Ö., Alişık, M., Erel, Ö., and Solmaz, E. (2017). A comparative study of the oxidative stress indices of children with autism and healthy children. *Anatolian Journal of Psychiatry*, 1. <https://doi.org/10.5455/apd.276094>
- Urcan, A. C., Marghitas, L. Al, Dezmirean, D. S., Bobis, O., Bonta, V., Muresan, C. I., and Margaoan, R. (2017). Chemical Composition and Biological Activities of Beebread – Review. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 74(1), 6. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:12646>
- van Wijngaarden-Cremers, P. J. M., van Eeten, E., Groen, W. B., van Deurzen, P. A., Oosterling, I. J., and van der Gaag, R. J. (2014). Gender and Age Differences in the Core Triad of Impairments in Autism Spectrum Disorders: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 44(3), 627–635. <https://doi.org/10.1007/s10803-013-1913-9>
- Vargas, D. L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A. W., and Pardo, C. A. (2005a). Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology*, 57(1), 67–81. <https://doi.org/10.1002/ana.20315>
- Vargas, D. L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A. W., and Pardo, C. A. (2005b). Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology*, 57(1), 67–81. <https://doi.org/10.1002/ana.20315>
- Vela, G., Stark, P., Socha, M., Sauer, A. K., Hagmeyer, S., and Grabrucker, A. M. (2015). Zinc in Gut-Brain Interaction in Autism and Neurological Disorders. *Neural Plasticity*, 2015, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/972791>

- Vitali, C., Wellington, C. L., and Calabresi, L. (2014). HDL and cholesterol handling in the brain. *Cardiovascular Research*, 103(3), 405–413. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu148>
- Volkmar, F. R., and McPartland, J. C. (2014). From Kanner to DSM-5: Autism as an Evolving Diagnostic Concept. *Annual Review of Clinical Psychology*, 10(1), 193–212. <https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-032813-153710>
- Volkmar, F. R., Paul, R., Klin, A., and Cohen, D. (Eds.). (2005). *Handbook of Autism and Pervasive Developmental Disorders*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470939345>
- Vos, T., Abajobir, A. A., Abate, K. H., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abd-Allah, F., Abdulkader, R. S., Abdulle, A. M., Abebo, T. A., Abera, S. F., Aboyans, V., Abu-Raddad, L. J., Ackerman, I. N., Adamu, A. A., Adetokunboh, O., Afarideh, M., Afshin, A., Agarwal, S. K., Aggarwal, R., and Murray, C. J. L. (2017). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*, 390(10100), 1211–1259. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32154-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32154-2)
- Waheed, M., Hussain, M. B., Javed, A., Mushtaq, Z., Hassan, S., Shariati, M. A., Khan, M. U., Majeed, M., Nigam, M., Mishra, A. P., and Heydari, M. (2019). Honey and cancer: A mechanistic review. *Clinical Nutrition*, 38(6), 2499–2503. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.12.019>
- Wajner, M., Latini, A., Wyse, A. T. S., and Dutra-Filho, C. S. (2004a). The role of oxidative damage in the neuropathology of organic acidurias: Insights from animal studies. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 27(4), 427–448. <https://doi.org/10.1023/B:BOLI.0000037353.13085.e2>
- Wajner, M., Latini, A., Wyse, A. T. S., and Dutra-Filho, C. S. (2004b). The role of oxidative damage in the neuropathology of organic acidurias: Insights from animal studies. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 27(4), 427–448. <https://doi.org/10.1023/B:BOLI.0000037353.13085.e2>
- Wang, L. W., Tancredi, D. J., and Thomas, D. W. (2011). The Prevalence of Gastrointestinal Problems in Children Across the United States With Autism Spectrum Disorders From Families With Multiple Affected Members. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 32(5), 351–360. <https://doi.org/10.1097/DBP.0b013e31821bd06a>
- Weis, W. A., Ripari, N., Conte, F. L., Honorio, M. da S., Sartori, A. A., Matucci, R. H., and Sforcin, J. M. (2022). An overview about apitherapy and its clinical applications. *Phytomedicine Plus*, 2(2), 100239. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100239>
- Werler, M. M., Ahrens, K. A., Bosco, J. L. F., Mitchell, A. A., Anderka, M. T., Gilboa, S. M., and Holmes, L. B. (2011). Use of Antiepileptic Medications in Pregnancy in Relation to Risks of Birth Defects. *Annals of Epidemiology*, 21(11), 842–850. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2011.08.002>
- Whitfield, J. B. (2001). Gamma glutamyl transferase. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 38(4), 263–355. <https://doi.org/10.1080/20014091084227>

- Williams, B. L., Hornig, M., Buie, T., Bauman, M. L., Cho Paik, M., Wick, I., Bennett, A., Jabado, O., Hirschberg, D. L., and Lipkin, W. I. (2011). Impaired Carbohydrate Digestion and Transport and Mucosal Dysbiosis in the Intestines of Children with Autism and Gastrointestinal Disturbances. *PLoS ONE*, 6(9), e24585. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024585>
- Witsch-Baumgartner, M., Fitzky, B. U., Ogorelkova, M., Kraft, H. G., Moebius, F. F., Glossmann, H., Seedorf, U., Gillesen-Kaesbach, G., Hoffmann, G. F., Clayton, P., Kelley, R. I., and Utermann, G. (2000). Mutational Spectrum in the $\Delta 7$ -Sterol Reductase Gene and Genotype-Phenotype Correlation in 84 Patients with Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 66(2), 402–412. <https://doi.org/10.1086/302760>
- Won, H., Mah, W., and Kim, E. (2013). Autism spectrum disorder causes, mechanisms, and treatments: focus on neuronal synapses. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2013.00019>
- Wong, F. (2023). Management of refractory ascites. *Clinical and Molecular Hepatology*, 29(1), 16–32. <https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0104>
- Wong, J. M. W., de Souza, R., Kendall, C. W. C., Emam, A., and Jenkins, D. J. A. (2006). Colonic Health: Fermentation and Short Chain Fatty Acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40(3), 235–243. <https://doi.org/10.1097/00004836-200603000-00015>
- Wu, S., Wu, F., Ding, Y., Hou, J., Bi, J., and Zhang, Z. (2017). Advanced parental age and autism risk in children: a systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 135(1), 29–41. <https://doi.org/10.1111/acps.12666>
- Xi, X., Li, J., Guo, S., Li, Y., Xu, F., Zheng, M., Cao, H., Cui, X., Guo, H., and Han, C. (2018). The Potential of Using Bee Pollen in Cosmetics: a Review. *Journal of Oleo Science*, 67(9), 1071–1082. <https://doi.org/10.5650/jos.ess18048>
- Xie, J., Huang, L., Li, X., Li, H., Zhou, Y., Zhu, H., Pan, T., Kendrick, K. M., and Xu, W. (2017). Immunological cytokine profiling identifies TNF- α as a key molecule dysregulated in autistic children. *Oncotarget*, 8(47), 82390–82398. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19326>
- Yamauchi, K., Kogashiwa, Y., Moro, Y., and Kohno, N. (2014). The Effect of Topical Application of Royal Jelly on Chemoradiotherapy-Induced Mucositis in Head and Neck Cancer: A Preliminary Study. *International Journal of Otolaryngology*, 2014, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2014/974967>
- Yates, K., and Le Couteur, A. (2016). Diagnosing autism/autism spectrum disorders. *Paediatrics and Child Health (United Kingdom)*, 26(12), 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.paed.2016.08.004>
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*, 12(3), 88–93. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29896077> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5969776>

- Yui, K., Imataka, G., Sasaki, H., Shiroki, R. (2020). The role of lipid peroxidation in individuals with autism spectrum disorders. *Metabolic Brain Disease*, 35(7):1101-1108. doi: 10.1007/s11011-020-00585-4
- Zaky, E. A., Elhameed, S. A. A., Ismail, S. M., Eldamer, N. M., and Abdelaziz, A. W. (2023). Analysis of urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in pediatric children with autism spectrum disorder. *Research in Autism Spectrum Disorders*, 102, 102129. <https://doi.org/10.1016/j.rasd.2023.102129>
- Zhang, J., and Liu, Q. (2015). Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain. *Protein & Cell*, 6(4), 254–264. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0131-3>
- Židová, D. (2021). Literature as a tool of awareness: Traits of autism spectrum disorders for students in esp class *Journal of Teaching English for Specific and Academic Purposes*, 297. <https://doi.org/10.22190/JTESAP2003297Z>

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 22.06.2021-E.109700



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-66332047-604.01.02-109700
Konu : Değerlendirme ve Onay

22.06.2021

Sayın Prof. Dr. Adviye Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP
Beslenme Bilimleri Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Adviye Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP, Evrim Arzu KOÇKAYA ve İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN'dan oluşan, G.Ü.ET-21.046 kod numaralı ve "*Deneyisel Otizm Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Api Terapi (Propolis, Arı Sütü ve Arı Ekmeği) ve Omega-3 Takviyesinin Etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-21.046 and entitled "*The Effect of Apitherapy (propolis, royal jell and beebread) and Omega-3 Supplementation in Rats With an Experimental Autism Model*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar
Hayvan Sayısı : 38

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Belge Doğrulama Kodu :BSEZ0PKMYYY

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi : <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr/belgedogrulama.aspx>

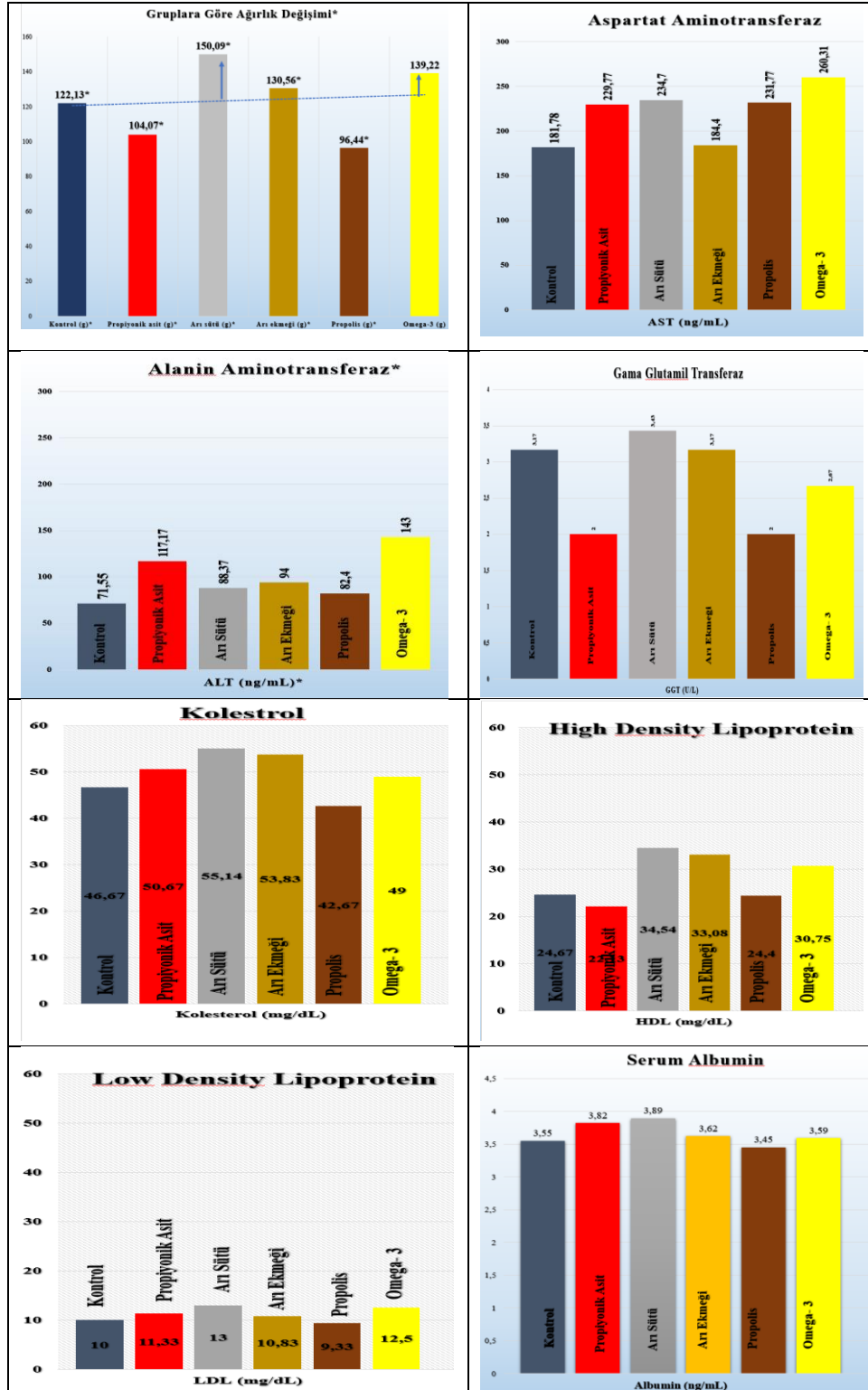
Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/
Kep Adresi: gaziuniversitesi@hs01.kep.tr

Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

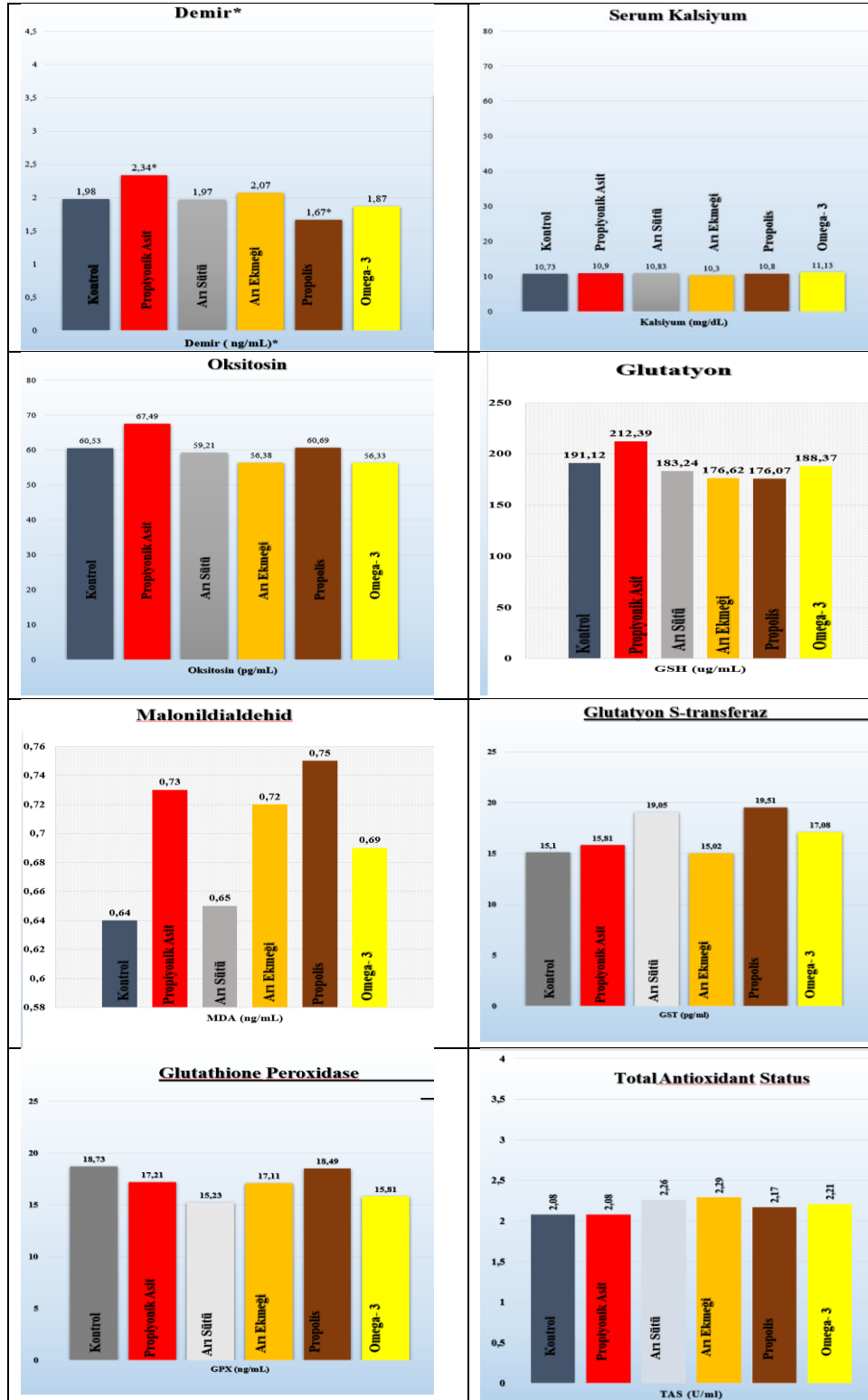


Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

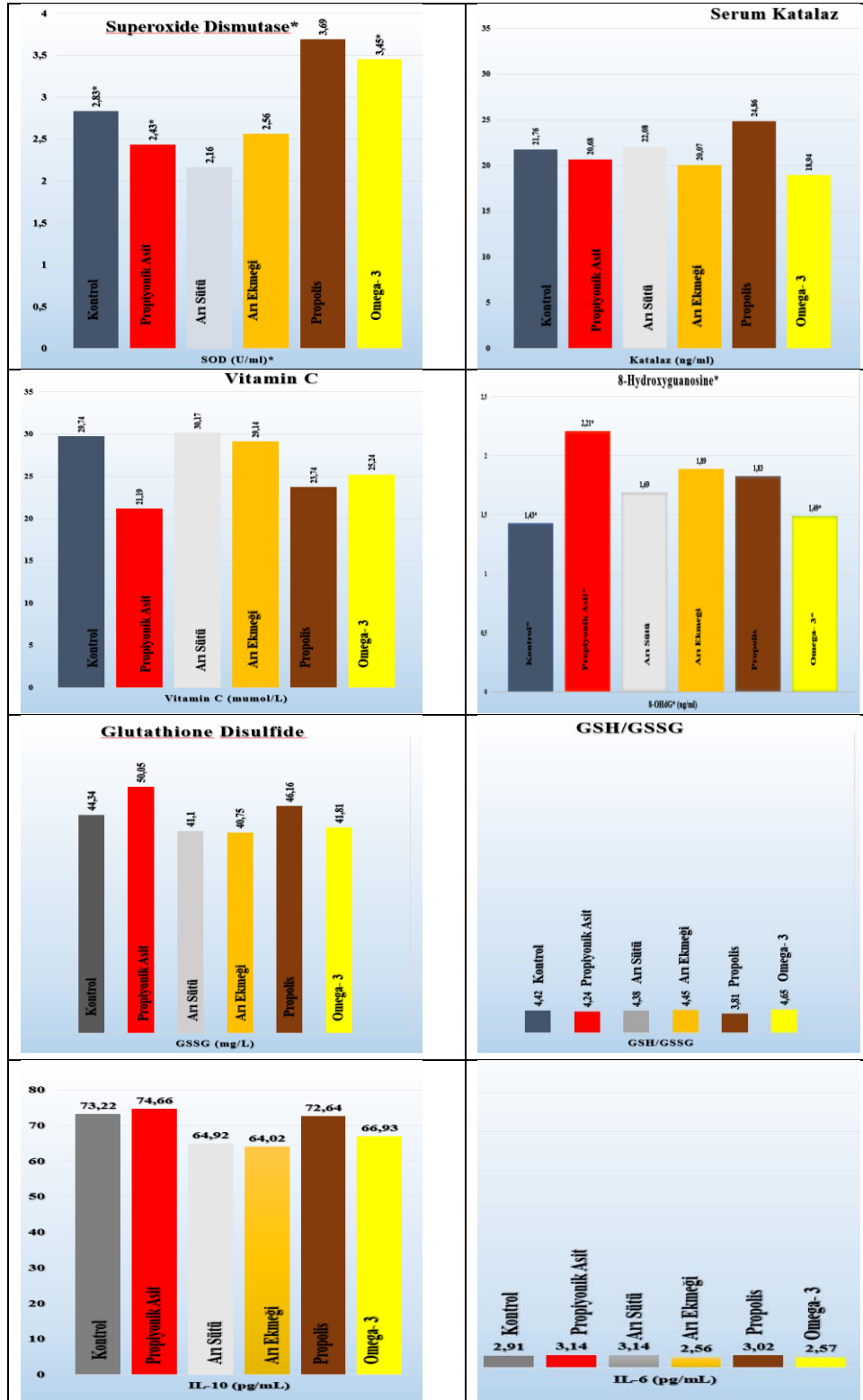
EK-2. Bulgu Grafikleri



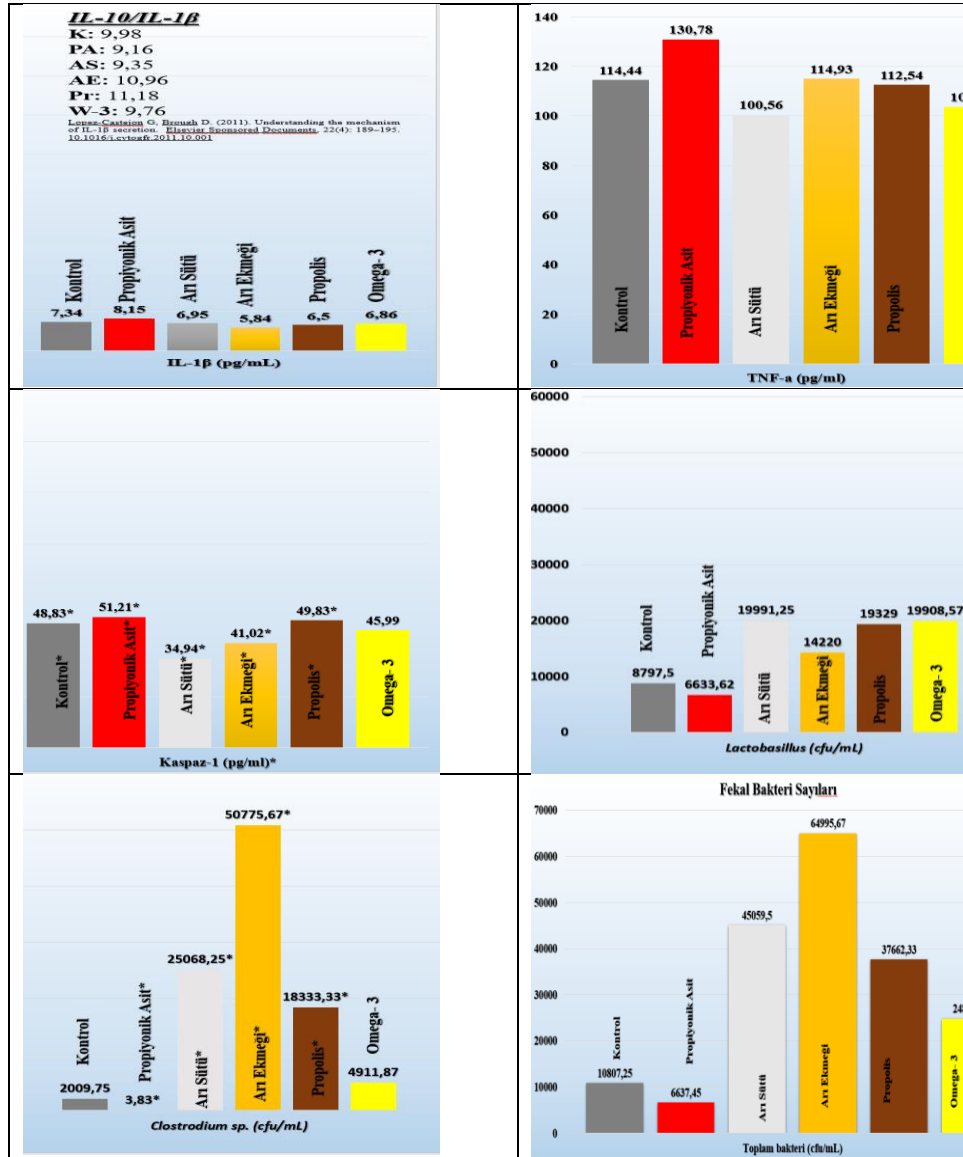
EK-2. (devam) Bulgu Grafikleri



EK-2. (devam) Bulgu Grafikleri



EK-2. (devam) Bulgu Grafikleri



ÖZGEÇMİŞ

İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	2018
Lisans	Yeditepe Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2015
Lise	Yozgat Anadolu Lisesi	2009

İş Deneyimi Yılı	Yer	Görev
2019-halen	Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi	Öğretim Gör.
2016-2019	Catering Firmaları	Diyetisyen

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

Çağiran İH, Nutritional Ergogenic Supplements. *Sakarya Üniversitesi Holistik Sağlık Dergisi*, 2020;3(3): 143-161.

Çağiran İH, Yılmaz DA. Otizm Spektrum Bozukluğunda Beslenme Tedavisi, *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2022; 7(1): 55, <https://doi.org/10.51754/cusbed.1038009>.

Çağiran İH, Kaya Bilecenoğlu D. Nutrition, ergogenic aids use and physical activity status of students in sports teams. *Mus Alparslan University Journal of Health Sciences*, 2022; 2(1);1-13.

Yılmaz DA, Çağırın İH, Dege G, Yıldırım MS. Elektromanyetik Kirliliğin Sağlığa Etkileri. *Mus Alparslan University Journal of Health Sciences*, 2022;2(2) 67-79.

Çağırın İH, Yılmaz DA, Atay ME, Dege G. Ağrı İlinden Çıkan Doğal Maden Suyunun Sporcu İçecekleri ile Karşılaştırılması. *Akdeniz Spor Bilimleri Dergisi*

Blimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler.

Dege G, Yılmaz DA, Çağırın İH. (2022). Pandemi Kısıtlamaları Sonrası Sağlık Bilimleri Lisans Öğrencilerinin Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutumları, Yaşam Memnuniyetleri ve Algılanan Streslerinin Belirlenmesi, *Uluslararası Spor ve Sağlık Araştırmaları Kongresi*, Türkiye

Çağırın İH, Yılmaz DA, Atay ME. (2022). Sporcu içeceklerine doğal alternatif: yerel maden suyu. 2. *Uluslararası Spor ve Sosyal Bilimlere Multidisipliner Yaklaşım Kongresi, Türkiye*

Çağırın İH, Kaya Bilecenoğlu D. (2022). Investigation of nutrition, ergogenic aids use. 2. *Uluslararası Spor ve Sosyal Bilimlere Multidisipliner Yaklaşım Kongresi, Türkiye*

Çağırın İH, Sağdıçoğlu Celep G. (2022). Examining the level of knowledge about apitherapy and its uses, *5th International Health Science and Life Congress, Turkey*

Çağırın İH, Sağdıçoğlu Celep G. (2021). Table salt from past to present, *IV. International Health Sciences Congress, Turkey*

Çağırın İH, Sağdıçoğlu Celep G. (2021). A new perspective in nutritional therapy: apitherapy, *IV. International Health Sciences Congress, Turkey*

Yazılan Uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler.

Çağırın İH, Çağırın E. (2023). Fertilite ve Beslenme. *Sağlık Bilimleri Alanında Uluslararası Araştırmalar XIII*, Eğitim Yayınevi, 1-24, ISBN:978-625-6408-21-0.

Çağırın İH. (2023). Dikkat Eksikliği/ Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) ve Beslenme. *Sağlık Bilimlerinde Güncel Araştırmalar-I*, Gece Kitaplığı Yayınevi, 290, ISBN:978-625-430-705-8.

Çağırın İH, Sağdıçoğlu Celep AG. (2023). Examining the Level of Knowledge About Apitherapy and its Uses. *International Research In Health Sciences 5*, Platanus Publishing, 398, ISBN:978-625-6971-13-4.

Çağırın İH, Yılmaz DA, Sağdıçoğlu Celep AG. (2022). The Effects of Minerals and Heavy Metals in Different Kinds of Table Salts on Health. *International Research in Health Sciences*, Serüven Yayınevi, 227-240, ISBN: 978-625-6399-20-4.

Çağırın İH, Demirkaya A, Sağdıçoğlu Celep AG. (2022). Beslenme Tedavisinde Yeni Bir Bakış: Apiterapi. *Sağlık Bilimlerinde Uluslararası Araştırmalar – I*, Serüven Yayınevi, 337-358, ISBN: 978-605-72852-8-7.

Ulusal ve Uluslararası Dergilerde Yapılan Hakemlikler

- International Journal of Disabilities Sports and Health Sciences

Projeler

- Ortaokul ve Lise Öğrencilerinin Beslenme Şekilleri ve Beden Kitle Endekslerinin İncelenmesi- Proje, 2014
- Adnan Menderes Üniversitesi Sportakımlarında Yer Alan Öğrencilerin Beslenme, Ergojenik Destek Kullanım Ve Fiziksel Aktivite Durumları, Araştırma Projesi, 08/01/2017 - 15/05/2018 (Ulusal)
- Deneysel Otizm Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Apiterapi (Propolis, Arı Sütü ve Arı Ekmeği) ve Omega-3 Takviyesinin Etkisi, Araştırma Projesi, 07/08/2022 (Devam Ediyor) (Ulusal)

Sertifika ve Kurslar

- Sağlık Bilimleri Alanındaki Lisansüstü Öğrenciler İçin Deneysel Nörobilim Araştırmalar Okulu / Temmuz 2021
İnönü Üniversitesi & Tubitak 2237-A
- Nutrigüncel Erişkin Nutrisyon Dijital Buluşma Toplantısı / Nisan 2021
Nutrigüncel
- Deney Hayvaları Kullanım Sertifikası / Ocak 2021
Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi
- Temel ve İleri Düzeyde İstatistik ve Spss Programı Eğitimi / Kasım 2019
Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi
- Natural Nutrition, Healthy Life and Sport / October 2019
T.C. Gazi Üniversitesi & Turgut Özal Üniversitesi
- İlk 1000 Gün Anne-Çocuk Beslenmesi ve Sağlığı / Ekim 2019
T.C. Gazi Üniversitesi & Turgut Özal Üniversitesi
- Bilgilendirme Toplantısı / Şubat 2018
T.C. Gençlik ve Spor Bakanlığı – Yüksek Öğrenim Kredi ve Yurtlar Kurumu Genel Müdürlüğü
- Futbolcu Beslenmesi Sempozyumu / Kasım 2017
Diyetisimen / Beslenme Eğitimi ve Diyet Danışmanlığı Merkezi
- I. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi – Haziran / Temmuz 2017
Adnan Menderes Üniversitesi
- Metabolik – Bariatrik Cerrahide Beslenme Yaklaşımı ve Bariatrik Cerrahi Diyetisyenliği Kursu - Mart 2015
İstanbul Medipol Üniversitesi
- Tedavi ve Önlenmesinde Kanser ve Beslenme - Nisan 2015
Sağlık & Afiyet / Kanser Haftası Etkinliği

- Kendini Tanıma ve Farkındalık Semineri - Mart 2012
U.K Danışmanlık

Ödüller & Burslar

- 100/2000 YÖK Doktora Bursu

Verilen Dersler

2019-2020 Güz Dönemi

- Çocuk Hastalıklarında Beslenme ve Diyetetik Uygulamaları I (ÖÖ)
- Çocuk Hastalıklarında Beslenme ve Diyetetik Uygulamaları I (İÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı I (ÖÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı I (İÖ)
- Sporcu Beslenmesi (ÖÖ)
- Sporcu Beslenmesi (İÖ)

2019-2020 Bahar Dönemi

- Çocuk Hastalıklarında Beslenme ve Diyetetik Uygulamaları II (ÖÖ)
- Çocuk Hastalıklarında Beslenme ve Diyetetik Uygulamaları II (İÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı II (ÖÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı II (İÖ)
- Bilgi ve İletişim Teknolojileri II

2020-2021 Güz Dönemi

- Çocuk Hastalıklarında Beslenme ve Diyetetik Uygulamaları I (ÖÖ)
- Çocuk Hastalıklarında Beslenme ve Diyetetik Uygulamaları I (İÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı I (ÖÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı I (İÖ)
- Sporcu Beslenmesi (ÖÖ)
- Sporcu Beslenmesi (İÖ)
- Mezuniyet Projesi I (ÖÖ)
- Mezuniyet Projesi I (İÖ)
- Çocuk Beslenmesi (ÖÖ)
- Çocuk Beslenmesi (İÖ)

2020-2021 Bahar Dönemi

- Klinik Beslenme Çocuk Stajı II (ÖÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı II (İÖ)
- Toplu Beslenme Sistemleri Stajı II (İÖ)
- Anne Çocuk Beslenmesi (ÖÖ)
- Anne Çocuk Beslenmesi (İÖ)

2021-2022 Güz Dönemi

- Sporcu Beslenmesi (ÖÖ)
- Sporcu Beslenmesi (İÖ)
- Çocuk Beslenmesi (ÖÖ)
- Çocuk Beslenmesi (İÖ)
- Beslenmeye Giriş
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı I

2021-2022 Bahar Dönemi

- Anne - Çocuk Beslenmesi (ÖÖ)
- Anne - Çocuk Beslenmesi (İÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı II (ÖÖ)
- Klinik Beslenme Çocuk Stajı II (İÖ)
- Kariyer Planlama (ÖÖ)
- Kariyer Planlama (İÖ)
- Seminer (ÖÖ)
- Seminer (İÖ)

Hobiler

-



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..