



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA
TEZİ

DENEYSEL OTİSTİK FARE MODELİNDE
TRANS-AURİKULAR NERVUS VAGUS
STİMULASYONUNUN ENTERİK SİNİR SİSTEMİ
SİNAPS GELİŞİMİ VE BAĞIRSAK MORFOLOJİSİ
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ESMA DENİZ BARÇ

ANATOMİ ANA BİLİM DALI

OCAK 2025



ESMA DENİZ BARÇ

ANATOMİ ANA BİLİM DALI

OCAK 2025



**DENEYSEL OTİSTİK FARE MODELİNDE TRANS-AURİKULAR
NERVUS VAGUS STİMULASYONUNUN ENTERİK SİNİR SİSTEMİ
SİNAPS GELİŞİMİ VE BAĞIRSAK MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Esmâ Deniz BARÇ

**DOKTORA TEZİ
ANATOMİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2025

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.

Esma Deniz BARÇ

09/01/2025

DENEYSEL OTİSTİK FARE MODELİNDE TRANS-AURİKÜLER NERVUS VAGUS
STİMULASYONUNUN ENTERİK SİNİR SİSTEMİ SİNAPS GELİŞİMİ VE BAĞIRSAK
MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Esmâ Deniz BARÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2025

ÖZET

Bu çalışmada, deneysel otistik fare modelinde, trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulaması yapılmıştır. Otistik ve trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanmış farelerin duodenum ve jejunum morфометrisi incelenmiştir. Bununla beraber duodenum ve jejunum'da enterik sinir sistemindeki sinaps değişiklikleri, neurexin-1 ve neurexin-2'nin immunopozitivitesi yoğunluğu H-skoru ile değerlendirilmiştir. Çalışmamızda üç grup halinde toplam yirmi dört tane erkek C57BL/6 fare kullanılmıştır. Kontrol grubunda toplam sekiz adet erkek fare çalışmaya alınmıştır. Bu gruba herhangi bir şekilde cihaz ya da ilaç uygulaması yapılmamıştır. Toplam on iki adet olan gebe farelere 12,5. günde otizmli yavrular doğurmaları için valproik asit gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Otizm spektrum bozukluğu gelişen on altı erkek yavru fare çalışma grubuna alınmıştır. Bu farelerin sekizine trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulanmıştır. Kontrol grubu, otizm grubu ve trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanan grup yedi gün sonra sakrifiye edilmiş, duodenum ve jejunum dokuları alınmıştır. Dokulara; hemotoksilen&eoziin boyaması yapılarak morфометrik ölçümleri, immunohistokimyasal boyama yapılarak neurexin-1 ve neurexin-2 ekspresyonlarının immunopozitivitesinin yoğunluklarına H-skoru ile bakılmıştır. Bu çalışmada morфометrik ölçümlerde; duodenum ve jejunum'un tüm duvar, mukoza, submukoza kalınlıkları ve iç sirküler-dış longitudinal kas kalınlıkları değerlendirilmiştir. Otizm spektrum bozukluğu olan farelerde bu morфометrik ölçümlerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma göstererek incelmış olduğu belirlenmiştir. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulanan grupta morфометrik ölçümlerin değerlendirilmesi sonucunda dokularda kontrol grubuna yakın kalınlaşmalar saptanarak istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu izlenmiştir. Immunohistokimyasal yöntemle neurexin-1 ve neurexin-2 ekspresyonlarının immunopozitivitesinin yoğunlukları H-skoru ile yorumlanmıştır. Otizm grubunda kontrol grubuna göre neurexin-1 ve neurexin-2 ekspresyonlarında azalma, trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulanan grupta ise istatistiksel olarak anlamlı bir artışın meydana geldiği saptanmıştır. Sonuç olarak; trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulamasının otizmli farelerde enterik sinir sistemi sinaps gelişimini artırdığı ve bağırsak morfolojisinin düzelmesine yol açarak iyileşme etkisi gösterdiği incelenmiştir.

Bilim Kodu : 1005
Anahtar Kelimeler : Otizm spektrum bozukluğu, Enterik sinir sistemi, Fare
Sayfa Adedi : 76
Danışman : Prof. Dr. Meltem BAHÇELİOĞLU

INVESTIGATION OF THE TRANS-AURICULAR VAGAL NERVE STIMULATION
EFFECTS, IN EXPERIMENTAL AUTISTIC MICE MODEL ON ENTERIC NERVOUS
SYSTEM SYNAPTIC DEVELOPMENT AND INTESTINE MORPHOLOGY
(Doctoral Thesis)

Esma Deniz BARÇ

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
January 2025

ABSTRACT

In this study, trans-auricular nervus vagus stimulation was applied in an experimental autistic mouse model. The morphometry of the duodenum and jejunum of autistic and trans-auricular nervus vagus stimulated mice were examined. In addition, synapse changes in the enteric nervous system in the duodenum and jejunum, as well as the immunopositivity density of neuroligin-1 and neurexin-2, were evaluated by H-score. A total of twenty-four male C57BL/6 mice were used in three groups. A total of eight male mice were included in the control group. No device or medication was administered to this group. A total of twelve pregnant mice were administered valproic acid by the gavage method to give birth to autistic offspring on day 12.5. Sixteen male offspring mice with autism spectrum disorder were included in the study group. Eight of these mice were subjected to trans-auricular nervus vagus stimulation. The control group, autism group, and trans-auricular nervus vagus stimulation group were sacrificed after seven days, and duodenum and jejunum tissues were removed. The tissues were measured morphometrically by hematoxylin & eosin staining, and the intensity of immunopositivity of neuroligin-1 and neurexin-2 expressions was determined by immunohistochemical staining using H-score. In this study, morphometric measurements of the duodenum and jejunum included the thickness of the entire wall, mucosa, and submucosa and the thickness of the internal circular and external longitudinal muscles. It was determined that these morphometric measurements were statistically significantly decreased and thinned in mice with autism spectrum disorder compared to the control group. As a result of the evaluation of morphometric measurements in the trans-auricular nervus vagus stimulation group, it was observed that there was a statistically significant increase in the thickness of the tissues close to the control group. The intensities of the immunopositivity of neuroligin-1 and neurexin-2 expressions by immunohistochemical method were interpreted by H-score. It was found that there was a decrease in neuroligin-1 and neurexin-2 expressions in the autism group compared to the control group and a statistically significant increase in the trans-auricular nervus vagus stimulation group. In conclusion, trans-auricular nervus vagus stimulation increased the development of enteric nervous system synapses in mice with autism and improved intestinal morphology.

Science Code : 1005
Key Words : Autism Spectrum Disorder, Enteric Nervous System, Mice
Page Number : 76
Supervisor : Prof. Dr. Meltem BAHÇELİOĞLU

TEŞEKKÜR

Değerli danışmanım Prof. Dr. Sayın Meltem BAHÇELİOĞLU'na eğitim hayatım boyunca verdikleri destek ve rehberlik için minnet duygularımı sunar, teşekkür ederim. Doktora eğitimim sürecinde bilgilerini benden esirgemeyen Anatomi Anabilim Dalı değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. İ. Nadir GÜLEKON, Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER, Prof. Dr. Zafer Kutay COŞKUN, Dr. Öğr. Üyesi Kerem ATALAR ve Dr. Ece ALİM'e teşekkür ederim.

Kıymetli hocam, rehberim, hayatımdaki her adımda danıştığım, akademik annem, eğitim hayatım boyunca beni destekleyen, yol gösteren, bana akademik bir bakış açısı kazandıran ve değerli zamanını ayıran Prof. Dr. Sayın Rabet GÖZİL'e şükran dileklerle saygılarımı sunarım.

Doktora eğitim sürecinde beni destekleyen, bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Sayın Suna ÖMEROĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca beni destekleyen, zaman ayıran, laboratuvar sürecimde hiç bıkmadan usanmadan saat kaç olursa olsun yanımda olan, sabrını ve bilgisini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Sayın Zeynep YİĞMAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Dr. Ayşen ÇALIKUŞU, Dr. Hasan KILINÇ ve Dr. Elif ABBASOĞLU TOPA'ya teşekkür ederim. Ayrıca, her daim yanımda olan, zamanını ayıran ve süreç boyunca sabır ve özveriyle destek veren Nursu ÇAKIR'a gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte bana inanan ve her koşulda yanımda olan en büyük destekçilerim annem Seniha BARÇ, babam Fahri BARÇ, kardeşlerim Işık BARÇ ve Derya BARÇ'a şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nervus Vagus	3
2.1.1. Nervus vagus anatomisi.....	3
2.2. Bağırsak Gelişimi.....	6
2.2.1. Bağırsak embriyolojisi.....	6
2.2.2. Bağırsak histolojisi	8
2.2.3. Bağırsak anatomisi	10
2.3. Enterik Sinir Sistemi	13
2.3.1. Enterik sinir sistem embriyolojisi.....	15
2.3.2. Enterik sinir sistemi yapısı	16
2.3.3. Enterik nöronlar	16
2.3.4. Enterik nöron sınıflandırılması	17
2.3.5. Neuroligin ve neurexin protein aileleri.....	19
2.3.6. Enterik pleksuslar	20
2.3.7. Enterik glia	21

	Sayfa
2.4. Otizm Spektrum Bozukluğu.....	22
2.4.1. Epidemiyolojisi.....	22
2.5. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Enterik Sinir Sistem İlişkisi.....	23
2.6. Nervus vagus stimülasyonu.....	25
2.6.1. Nervus vagus stimülasyon yöntemleri.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Deney Hayvanlarından Otizm Modeli Oluşturulması.....	29
3.2. Histolojik İncelemeler.....	31
3.2.1. Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama yöntemi ve boyalı doku kesitlerinin histomorfometrik analizleri.....	32
3.2.2. İmmunohistokimyasal yöntem ve immunohistokimyasal bulguların değerlendirilmesi.....	33
3.3. İstatistiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Hemotoksilen&Eozin Boyalı Kesitlerde Yapılan Morfometrik Ölçümlerin Sonuçları.....	35
4.1.1. Duodenum'un morfometrik ölçümleri.....	35
4.1.2. Jejunum'un morfometrik ölçümleri.....	39
4.2. Neuroligin-1 ve Neurexin-2 Ekspresyonlarının İmmunohistokimyasal Değerlendirme Sonuçları.....	43
4.2.1. Duodenum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünopozitif boyanma yoğunluğunun değerlendirmesi.....	43
4.2.2. Jejunum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünopozitif boyanma yoğunluğunun değerlendirmesi.....	45
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	53

	Sayfa
EKLER.....	73
EK-1. Etil Kurul Onayı	74
ÖZGEÇMİŞ	76



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Dogiel tarafından sınıflandırılan nöron çeşitleri	17
Çizelge 3.1. C57BL/6 fareleriyle oluşturulan deney grupları	30
Çizelge 4.1. Kontrol, otizm ve tVNS gruplarında duodenum ve jejunum dokularının morfolometrik değerlendirme sonuçları.....	35
Çizelge 4.2. Kontrol, Otizm ve tVNS gruplarında duodenum ve jejunum dokularının Neuroligin-1 ve Neurexin-2 ile boyanmış hücrelerin yüzdesini içeren histokimyasal skorlama (H-skoru) değerlendirmesi	43

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Nervus vagus'un temel anatomisi ve işlevleri	4
Şekil 2.2. Bağırsak duvarı tabakaları	9
Şekil 2.3. Duodenum'un bölümleri	11
Şekil 2.4. Enterik sinir sistemi şeması.....	15
Şekil 2.5. Pleksus myentericus ve pleksus submucosus'un şematik diyagramı.....	21
Şekil 2.6. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyon cihazının elektrotlarının uygulandığı kulak bölgeleri	27
Şekil 4.1. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubunda duodenum'un morfometrik değerlendirilmesi.....	37
Şekil 4.2. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubunda jejunum'un morfometrik değerlendirilmesi.....	41
Şekil 4.3. Kontrol, Otizm ve tVNS gruplarında duodenum dokusunun Neuroligin-1 ve Neurexin-2 ile boyanmış hücrelerin yüzdesini içeren histokimyasal skorlamanın (H-skoru) şematik analizi	44
Şekil 4.4. Kontrol, Otizm ve tVNS gruplarında duodenum dokusunun Neuroligin-1 ve Neurexin-2 ile boyanmış hücrelerin yüzdesini içeren histokimyasal skorlamanın (H-skoru) şematik analizi	45

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Duodenumun endoskopik görünümü	12
Resim 3.1. C57BL/6 cinsi farede trans-aurikular nervus vagus stimülasyonunun uygulanması	30
Resim 3.2. C57BL/6 cinsi fare disseksiyonu	31
Resim 4.1. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların, H&E boyalı duodenum kesitlerine ait görüntüler	38
Resim 4.2. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların, H&E boyalı jejunum kesitlerine ait görüntüler	42
Resim 4.3. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların duodenum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünoreaktivitesini gösteren mikrograflar	44
Resim 4.4. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların, jejunum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünoreaktivitesini gösteren mikrograflar	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
<	Küçük
>	Büyük
≤	Küçük eşit
°C	Santigrat (Centigrate) derece
μm	Mikrometre
Hz	Hertz
Kısaltmalar	Açıklamalar
A/a	Arteria
ADDM	Otizm ve Gelişimsel Yetersizlik İzleme Ağı
ATP	Adenozin trifosfat
BBE	Bağırsak-beyin eksen
CACNA1D	Kalsiyum kanalı, voltaja bağlı, L tipi, alfa 1D alt birimi
CaMKII	Kalsiyum / kalmodulin bağımlı protein kinaz 2
DAB	Diaminobenzidine
DEHB	Dikkat Eksikliği/Hiperaktivite Bozukluğu
ESS	Enterik Sinir Sistemi
For	Foramen
GI	Gastrointestinal
hCG	İnsan koryonik gonadotropin
HE	Hematoksilen & Eozin
HSCR	Hirschsprung hastalığı
IL-6	İnterlökin-6
IPAN	İnternal primer afferent nöron
miRNA	Tek iplikli RNA molekülü
MSS	Merkezi Sinir Sistemi

Kısaltmalar	Açıklamalar
N/n	Nervus
NACL	Sodyum klorür
NLGN	Neurologin
NMDAR	N-metil-D-aspartat reseptörü
NO	Nitrik oksit
NRXN	Neurexin
OSB	Otizm spektrum bozukluğu
PBS	Fosfat Buffer Salin
PFA	Paraformaldehit
PTTPRT	Reseptör tipi protein tirozin fosfataz-T
R/r	Ramus
tVNS	Trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu
VIP	Vazoaktif intestinal peptid
VPA	Valproik asit

1. GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu, sosyal etkileşim, iletişim ve tekrarlayan davranışlardaki bozukluklar ile tanımlanan genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen nörogelişimsel bir bozukluktur [1]. Otizm spektrum bozukluğunun prevalansı çocuklar arasında 1:59, yetişkinler arasında ise 1:100'dür [2]. Otizm spektrum bozukluğunda merkezi sinir sisteminde yer alan beyincik, limbik sistem ve kortekste ki belirli alanların etkilendiği belirtilmektedir [3]. Otizm spektrum bozukluğu sadece merkezi sinir sistemini değil aynı zamanda enterik sinir sistemini de etkilemektedir [1]. Enterik sinir sistemi bağırsak motilitesi, enzim sekresyonunu ve besin emilimini kontrol ederek, bağışıklık sistemi ve bağırsak mikrobiyomu ile etkileşime girmektedir [4]. Gastrointestinal bozukluklar otizmlili bireylerde sıklıkla görüldüğünden bu da enterik sinir sistemi disfonksiyonunun varlığını düşündürmektedir [2]. Enterik sinir sisteminin etkilenmesi sebebiyle otizmlili bireylerde gastrointestinal bozuklukların özellikle de fonksiyonel kabızlık, ishal ve karın ağrısı sıklıkla görülmektedir [1].

Enterik sinir sisteminin merkezi sinir sistemiyle olan çift yönlü iletişimi nedeniyle beyinde başlayan herhangi bir etkileşimin bağırsakları etkilemesi ya da tam tersi bir durum görülebilmektedir [3]. Beyin ile gastrointestinal sistem arasındaki bağlantılardan biri nervus vagus'tur [5]. Nervus vagus %80 afferent ve %20 efferent lifler içermektedir [6].

Nervus vagus'un nucleus tractus solitari'ye ulaşan afferentler lifleri nucleus dorsalis nervi vagi'nin preganglionik nöronlarıyla bağlantı kurarak vago-vagal reflekslerin temelini oluşturmaktadır [6]. Nervus vagus'un nucleus dorsalis nervi vagi'den çıkan efferent lifleri, plexus miyentericus'taki enterik sinir sisteminin bir parçası olan postganglionik nöronların kolinerjik innervasyonu yoluyla gastrointestinal kanaldaki düz kas ve sekretomotor efektörleri kontrol etmektedir [6]. Vagal afferentler ve efferentler aracılığıyla enterik sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi arasındaki çift yönlü iletişimin temelini oluşturmaktadır [6].

Nervus vagus'un iyileştirici etkisinin kullanıldığı non-invaziv yöntemlerden biri trans-aurikular nervus vagus stimülasyonudur. Trans-aurikular vagus sinir stimülasyonu, implante edilebilir bir cihaza ihtiyaç duymadan non-invaziv bir şekilde inflamatuvar refleksi ortaya çıkarmak için uygulanabilir bir yöntem olarak tanımlanmıştır [7]. İnvaziv nervus vagus stimülasyonu ile de benzer nöral yollara erişebilmektedir [8]. Bu uygulama epilepsi, migren,

majör depresyon ve otizm spektrum bozukluğu gibi nörodejeneratif hastalıklarda uygulanmaktadır [9]. Enterik sinir sisteminde meydana gelen gastrointestinal disfonksiyonun trans-aurikular nervus vagus stimölasyonu uygulandıktan sonra iyileşme gösterdiği bildirilmiştir [8].

Çalışmamızda otizm spektrum bozukluğu geliştirilen farelerde trans-aurikular nervus vagus stimölasyonu ile bağırsak morfometrisi ve enterik sinir sisteminde neuroligin-1 ve neurexin-2 ekspresyonları üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nervus Vagus

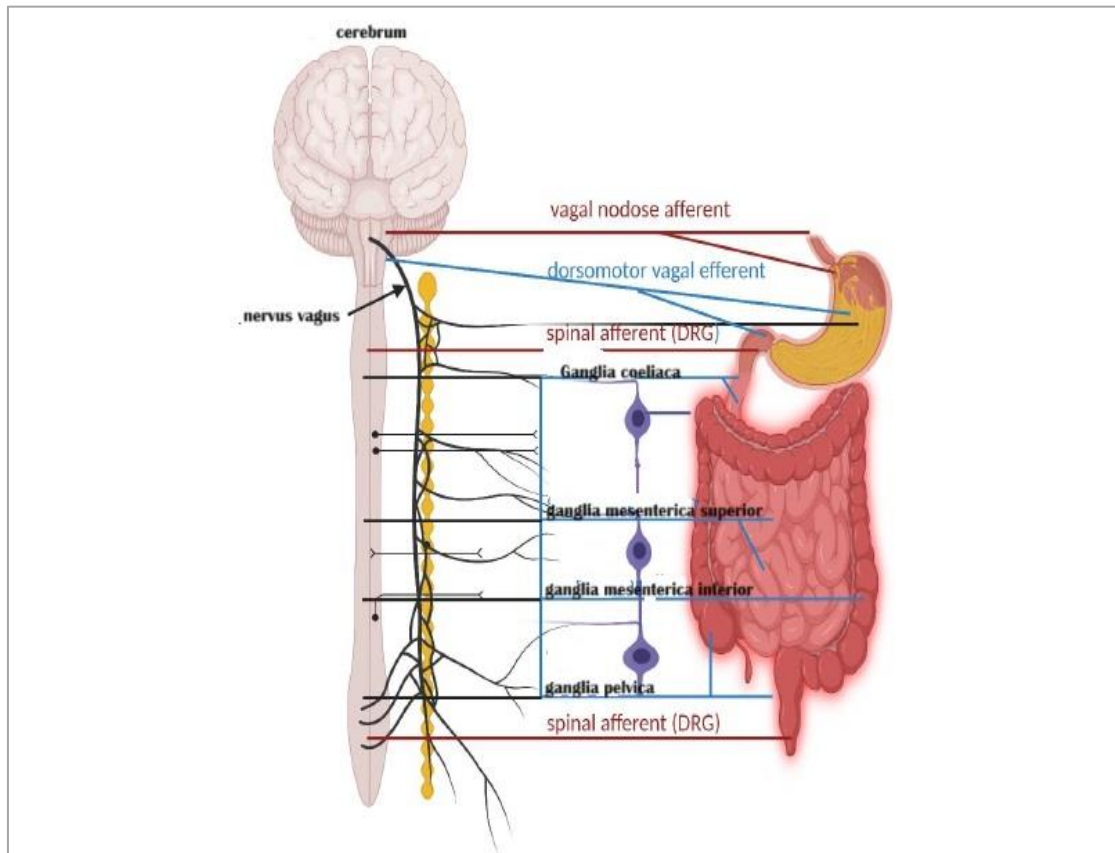
Nervus vagus onuncu kafa siniridir. Dört çekirdeğe ve beş farklı lif türüne sahip oldukça karmaşık bir siniridir [10]. Bunlar; duyuşal aktivite, muskuler aktivite ve otonomik işlevlerle ilgili bilgileri iletir. Sinirin ismi, dolaşan anlamına gelen Latince “vagary” kelimesinden gelir [11]. Kranial sinirler içerisinde en uzun seyre sahiptir [11]. Brankiyal motor (farinks ve gırtlak kaslar için), Visseral duyu (kalp ve akciğerler, farinks ve gırtlak ve gastrointestinal sistemin üst kısmı), Visseral motor (Parasempatik lifler- üst solunum yolu, kalp ve gastrointestinal sistemin düz kası), Özel duyu (damak ve epiglot-tat için), Genel duyu (kulağın bölümlerinden ve fossa cranii posterior’daki duradan gelen bilgilerle) olmak üzere lif türlerini içermektedir [11].

2.1.1. Nervus vagus anatomisi

Nervus (n.) vagus, medulla oblongatadan çıkar, n. glossopharyngeus ile n. accessorius arasından foramen (for.) jugulare’ye doğru geçer [12]. Nervus glossopharyngeus gibi, iki gangliyonu bulunur (ganglion superius- ganglion inferius) [12]. Foramen jugulare içerisinde ganglion superius ve onun altında da ganglion inferius bulunur [12]. Ganglion superius’un bir dalı olan ramus (r.) meningeus, meninkslerin fossa cranii posterior’daki bölümünden duyu alır [12]. Nervus vagus’un r. auricularis’i (Arnold siniri), auricula’nın arka yüzü, meatus acusticus externus’un arka bölümü ve membrana tympani’nin buraya komşu olan bölümünden deri duysunu alır [13]. Daha sonra n. vagus, vagina carotica adı verilen bir kılıf içerisine; vena (v.) jugularis interna, arteria (a.) carotis interna ve a. carotis externa arasından girer [12]. Kılıfta ilerledikçe komşuluğu v. jugularis interna ve a. carotis communis ile devam eder [12]. Daha sonra sağ ve sol nervus vagus çok farklı anatomik yollarla devam eder [12].

Sağdaki n. vagus, a. subclavia önünden ve v. cava superior’ün arkasından geçer [12]. A. subclavia dexter’e yaklaştığı noktada n. laryngeus recurrens dalını verir [14]. Bu dal arterin altından ve arkasından ilerler [15]. Trachea ve oesophagus arasında yükselir [15]. A. thyroidea inferior ile komşu seyrederek [15]. Larynx’in arkasından devam ederek musculus (m.) constrictor inferior’ün derinine iner [15]. Vocal cord’ların seviyesinin altından m.

cricothyroideus kası hariç, diğer tüm larynx kaslarını innerve eder [15]. Sol n. vagus; v. brachiocephalica'nın arkasından, a. subclavia ile a. carotis communis arasından geçerek thorax'a iner [12]. Burada akciğer, kalp ve oesophagus'a dallar verir [12]. Daha sonra arcus aorta'nın sol tarafına geçer [12]. Nervus vagus, cavitas abdominalis'e geçerken, oesophagus'un anterior ve posterior yüzünde truncus vagalis anterior (sağ n. vagus) ve truncus vagalis posterioru (sol n. vagus) oluşturur [16]. Buradan ayrılan lifler, ligamentum (lig.) hepatoduodenale'de karaciğer, pankreas, dalak, böbrek üstü bezi, ince bağırsak ve kalın bağırsakta flexura coli sinistra'ya kadar olan yapıları innerve eder [12] (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Nervus vagus'un temel anatomisi ve işlevleri (Dicks (2023)'den değiştirilerek alınmıştır)

Nervus vagus'un dalları

Ramus (r.) meningeus: Bu dal, birinci ve ikinci cervical spinal siniri içeren ganglion superius'den çıkar [12].

Ramus auricularis: Bu dal, n. glossopharyngeus'dan çıkan bir dala katılarak ganglion superius'den çıkar [12]. Auricula, membrana tympanica ve meatus acusticus externusun tabanının duyusunu alır [12].

Ramus pharyngeus: Plexus pharyngeus'u oluşturmak için dallar verir [12]. Bu plexus, n. glossopharyngeus dalları ve sempatik dallarını içerir [12]. M.constrictor pharyngis kaslarının innervasyonunu sağlar [12]. Palatum molle'nin kaslarını (m. veli palatini dışında) ve pharynx kaslarını (m. stylopharyngeus dışında) innerve eder [12].

Nervus laryngeus superior: Bu dal pharynx ile ilişkilidir ve ikiye ayrılır [12]. N.larygeus superior ramus internus ve ramus externus olmak üzere ikiye ayrılır [12]. N.larygeus superior ramus internus, vocal cord seviyesinin üstündeki epiglottisten mucosaya kadar olan bölümün duyu innervasyonunu alır [18]. N. larygeus recurrens, vocal cord seviyesinin altındaki larynx'in duyusunu alır [18]. N. larygeus superior ramus externus, m. cricothyroideus ve m. constrictor pharyngis inferior kaslarını innerve eder [18].

Nervus laryngeus recurrens: Cartilago thyroidea'nın cornu inferiorü ile cartilago cricoidea arasından larynx'e girer ve m. constrictor pharyngis inferior'ün derininden her iki n. laryngeus recurrens geçer [14].

Rami cardiaci cervicalis: R. cardiaci cervicalis superior ve inferior olmak üzere iki dalı vardır. Bu dalların her ikisi de kalbe giden sempatik dallarla birleşerek plexus cardiacus'a geçer [19].

Ramus oesophagealis: N. vagus'un lifleri akciğer kökünü geçtikten sonra özofagus etrafında bir plexus oluşturur [20]. Sol vagus özofagusun önünde, sağ vagus ise özofagusun arkasında yer alır [20]. Vagus sinirleri özofageal plexusa efferent preganglionik lifler gönderir [20].

Ramus pulmonalis: R. anterior ve r. posterior olarak ayrılan dallardan r. posterior bölümündeki lifler daha fazladır [12]. Bronchus'ları ve ilgili akciğer dokusunun innervasyonunu sağlar [12].

Ramus pulmonalis: R. anterior ve r. posterior olarak ayrılan dallardan r. posterior bölümündeki lifler daha fazladır [12]. Bronchus'ları ve ilgili akciğer dokusunun innervasyonunu sağlar [12].

Ramus gastricus: N. vagus sinister öncelikle midenin anterosuperior kısmının innervasyonunu sağlarken, n. vagus dexter ise midenin posteroinferior kısmının innervasyonunu sağlar [12]. Her iki bölümde dallar omentum minus tabakaları arasında uzanır [12].

Ramus coeliacus: N. vagus'un dalları plexus coeliacus'u oluştururken, karaciğer innervasyonu için plexus hepaticus'a katkıda bulunur [12].

Ramus renalis: N. vagus'tan çıkan r. renalis'ler plexus renalis'i oluşturur [21]. Bu dallar kan damarlarını, glomerülleri ve tübüllerin innervasyonunu sağlar [21].

2.2. Bağırsak Gelişimi

Gastrointestinal (GI) sistem; mezoderm, endoderm ve ektoderm olmak üzere üç tabakadan oluşur [22].

2.2.1. Bağırsak embriyolojisi

Organogenez (organların gelişimi) üç ile sekiz hafta arasında gerçekleşir [23].

Gastrointestinal sistemde meydana gelen embriyolojik değişiklikler haftalara göre şu şekildedir:

3.Hafta: Sindirim tübü farklılaşmaya başlar [22]. Gastrulasyon oluşur. Başlangıçta, ana bağırsak tüpü, mezoderm ile çevrili içi boş bir endodermal hücre silindiri olarak oluşur [22]. Endoderm tabakası uzar, ön ve arka uçlarda ventral olarak katlanır, kapalı bir tüp oluşturmak için yolk kesesinin yakınında buluşur [22].

4.Hafta: Sindirim borusunun kranial ucunu kapatan bukkofarengeal membranın rezorpsiyonu meydana gelir [22].

6-10.Hafta: Umbilical halka yoluyla orta bağırsak fıtığı neredeyse tamamen periton boşluğunun dışında gelişir [22].

7.Hafta: Orta bağırsak lümenini yolk kesesine bağlayan omfalomezenterik kanalın (vitellin kanalı) obliterasyonu gelişir [22].

9.Hafta: Distal kloakal membranın açılması ve villus formasyonu başlar [22].

11.Hafta: Belirgin longitudinal ve sirküler kas tabakaları bağırsaklarda bulunur [22].

12.Hafta: Kript gelişimi başlar [22].

14.Hafta: Muscularis mucosa gelişir [22].

24.Hafta: Fetal bağırsak absorpsiyon fonksiyonu gelişir [22].

32.Hafta: Fetal bağırsak absorpsiyonu yetişkin seviyesine ulaşır [22].

Gastrointestinal kanalın gelişimi ayrıca enterik sinir sisteminin gelişimini de içerir [24]. Enterik sinir sistemi iki ganglion nöron ağı içerir: plexus myentericus'un (Auerbach) yeri iç sirküler ve dış longitudinal kas katmanları arasındadır, plexus submucosus'un (Meissner) mukoza katmanına bitişik olarak yer alır [24]. Bu hücreler nöral krest hücrelerinden köken alır [24]. Enterik sinir sistemi, akson rehberliği ve sinaptogenez gibi enterik sinir sistemi öncüllerinin çoğalmasına, göçüne ve farklılaşmasına yol açan birçok karmaşık mekanizma yoluyla geliştirilir [24]. Bu plexuslar, gastrointestinal sisteminin absorpsiyonu ve sekresyonunu kontrol etmek için düz kas hücreleri ve mukozal villuslarla birlikte çalışır [24]. Düz kas hücreleri mezodermden köken alır ve rostralden caudal'e doğru farklılaşır [24].

Anatomik bölgelerle ilişkili olarak bağırsaklar ön bağırsak, orta bağırsak veya arka bağırsaktan gelişir [25]. Duodenum, ön bağırsağın distal kısmından ve orta bağırsağın proksimal kısmından gelişir [25]. Bu iki parçanın birleşimi karaciğer tomurcuğunun hemen altında bulunur [25]. Duodenum hızla büyür ve ileriye doğru C şeklinde bir eğri oluşturur [25]. Midenin dönmesi sırasında duodenum halkası sağa dönerek retroperitoneal bölgeye girer [25]. Orta bağırsak, ductus choledochus'un açılma noktasından duodenuma, colon transversum'un 2/3 proksimal ve 1/3 distal kısımlarının birleşimine kadar uzanır [25, 26]. Orta bağırsağın orta noktası ileum'un ortası ile çakışır [25, 26]. Duodenum'un distal kısmı, jejunum ve ileum'un proksimal kısmı rostral kısımdan gelişir; ileum'un distal kısmı, caecum, apendiks, colon descendens ve colon transvers'un 2/3 proksimal kısmı kaudal kısımdan gelişir [25, 26]. İnsanlarda 9-12 haftalar arasında ince bağırsaklarda primitif bezler görülür [27, 28]. Duodenum'daki bu kriptlerin alt kısmından Brunner bezleri gelişir [28].

2.2.2. Bağırsak histolojisi

Bağırsak duvarında Tunica mucosa, Tunica submucosa, Tunica muscularis externa, Tunica serosa adı verilen dört tabaka bulunur [29, 30] (Şekil 2.2).

Tunica mucosa

Tunica mucosa, lümeni çevreleyen gastrointestinal sistemin en iç tabakasıdır [29, 30]. Bu tabaka sindirilmiş gıda ile doğrudan temas halindedir [29, 30]. Bu tabaka midede rugae'yi ve ince bağırsakta villus'u oluşturur [29, 30]. Tunica mucosa, sindirim, emici ve salgı süreçlerinden sorumlu en içteki tabaka olan epitelden oluşur. Mukoza ayrıca epitel yüzeyini koruyan mukus üreten goblet hücreleri içerir [29, 30].

Lamina propria

Membrana mucosa'yı kaplayan ince doku tabakasının altında bulunan bağ dokusudur [29, 30]. Bir glikozaminoglikan matriksine gömülü kollajen ve retiküler liflerden oluşur [29, 30]. Bu tabakada bazı fibroblastlar, kan kılcal damarları, lenf damarları ve sinirler görülür [29, 30]. İnce bağırsakta lamina propria her villusun çekirdeğini oluşturur [29, 30]. Glandüler elementleri çevreler ve destekler [29, 30]. Lamina propriada belirgin lenfoid doku kümeleri (ayrıca dağınık lenfositler) bulunur [29, 30]. Bu lenfoid dokunun bir kısmı submukozaya uzanır [29, 30].

Tunica muscularis mucosa

Lamina propria'nın bağ dokusunu submukozadan ayıran ince bir düz kas tabakasıdır [29, 30]. Dışta longitudinal, ortada sirküler ve içte oblig bir tabaka halinde düzenlenmiştir [29, 30]. Muscularis mucosa, mukoza kıvrımlarına uzanır, ancak villuslara yayılmaz [29, 30]. Muscularis mucosa'nın kasılmaları, bağırsak içeriğinin lokal olarak karışması için önemlidir [29, 30].

Tunica submucosa

Bu gevşek areolar doku tabakası, tunica mucosa'yı tunica muscularis externa'ya bağlar [29, 30]. Gevşekliği, mukozanın kas üzerinde bir miktar hareketliliğine izin verir [29, 30]. Çok

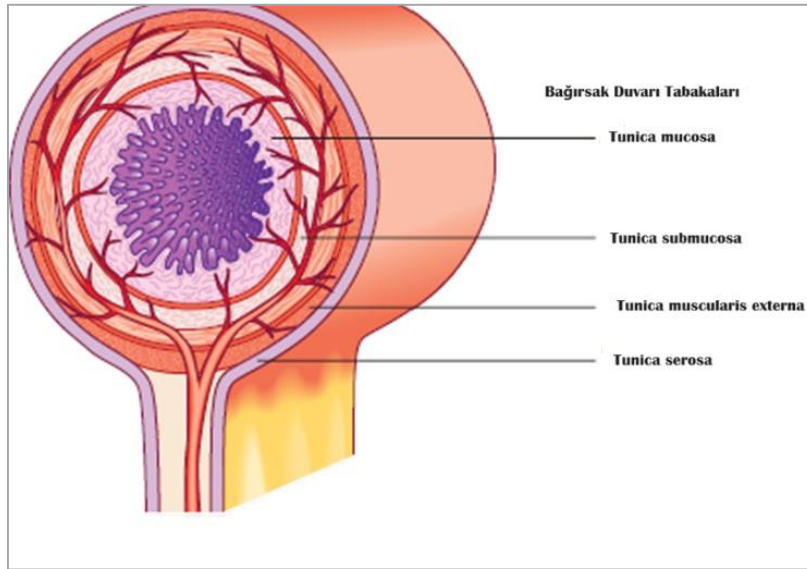
sayıda kan damarı, lenfatikler ve sinir lifleri submukozadan geçer [29, 30]. Onlardan kaynaklanan daha küçük dallar mukoza zarına girer [29, 30].

Tunica muscularis externa

Bu kas tabakası sirküler ve longitudinal kas liflerini içerir [29, 30]. Kas liflerinin dizilimi bölgeden bölgeye bazı farklılıklar gösterir [29, 30]. Sirküler kas lifleri, yiyeceklerin geriye doğru hareket etmesini önler ve longitudinal kas lifleri, yolu kısaltır [29, 30]. Bu tabakaların koordineli kasılmasına peristaltizm (yenilen gıdayı iten dönüşümlü kasılma ve gevşeme) denir [29, 30].

Tunica serosa

Sindirim kanalının en dış tabakasıdır [29, 30]. İnce bir salgı epitel hücre tabakasından oluşur [29, 30]. Epitel tabakası, kayganlaştırıcı seröz sıvıyı üretir [29, 30]. Bu sıvı, ince mukusa benzer bir kıvama sahiptir [29, 30]. Bu hücreler alttaki bağ dokusuna sıkıca bağlıdır [29, 30].



Şekil 2.2. Bağırsak duvarı tabakaları (Standring (2016)'den değiştirilerek alınmıştır)

2.2.3. Bağırsak anatomisi

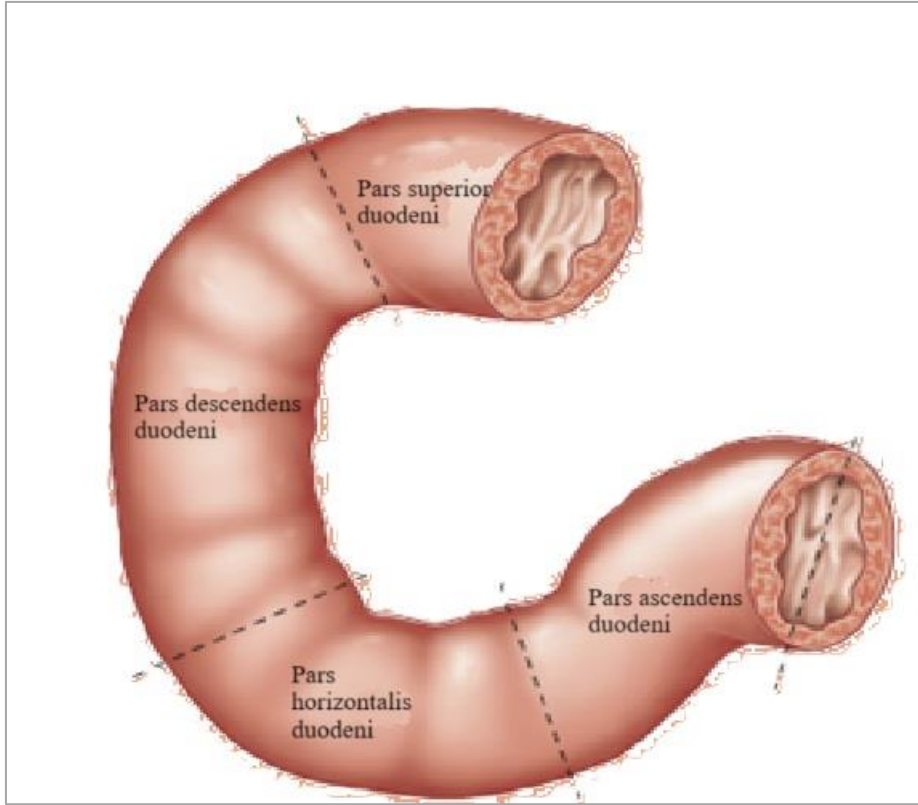
İnce bağırsak

İnce bağırsak doğumda 300-350 cm uzunluğunda ve 1–1,5 cm genişliğindedir [31]. Yetişkinlerde ince bağırsak ortalama 5.5-6m uzunluğundadır [28, 31, 32].

İnce bağırsak duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üçe ayrılır [28, 31, 32]. Uzunluğu altı metre kadardır [31, 32]. Her üç kısım da önde omentum majus ile örtülüdür [31, 32]. Duodenum hem intraperitoneal hem de retroperitoneal kısımlara sahipken jejunum ve ileum tamamen intraperitoneal organlardır [31, 32]. İnce bağırsak, gıda sindiriminin ve emiliminin son aşamaları için merkez olduğundan, makro ve mikro anatomisi bu işleve göre ayarlanır [31, 32].

Duodenum

Duodenum, ince bağırsağın ilk kısmıdır [33]. İnsanlarda duodenum, mideyi jejunum ile birleştiren yaklaşık 25–38 cm (10-15 inç) uzunluğundadır [28, 31-33]. Midenin sphincter pyloris'ine kadar uzanır, pankreas başını C şeklinde sarar ve flexura duodenojejunalis'de biter [31-33]. Karın arka duvarına, ligamentum suspensorium duodeni olarak adlandırılan bir ligament ile bağlanır [31-33]. Duodenum'un; pars superior duodeni, pars ascendens duodeni, pars descendens duodeni, pars horizontalis duodeni olmak üzere dört bölümü vardır [31-33] (Şekil 2.3 ve Resim 2.1).

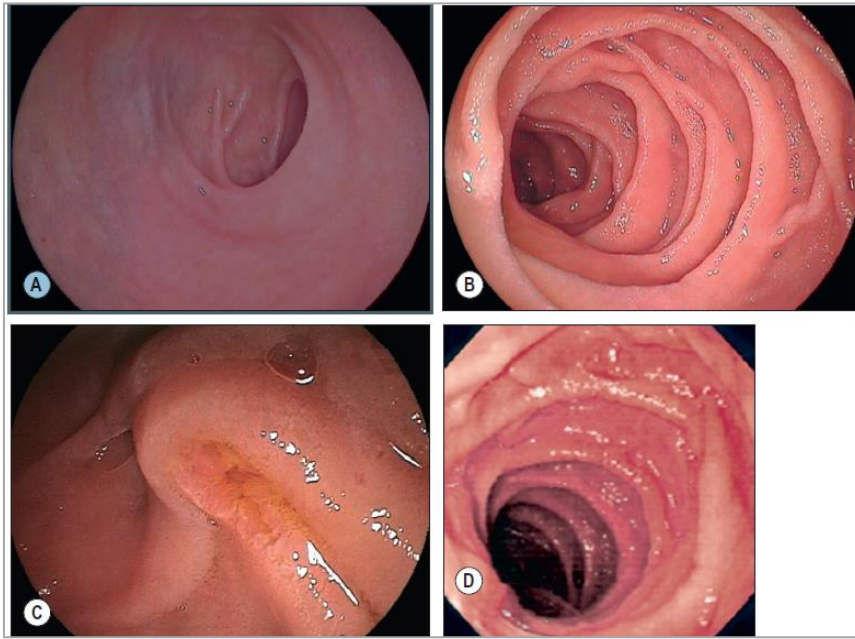


Şekil 2.3. Duodenum'un bölümleri (Standring (2016)'den değiştirilerek alınmıştır)

Pars superior duodeni: İlk ve en hareketli kısmı yaklaşık 5 cm uzunluğundadır [28, 31-34]. Pars superior duodeni'yi, ligamentum hepatoduodenale ve omentum majus bağlandığı için tek intraperitoneal kısımdır [31-33]. Proksimal 2.5cm intraperitoneal, distal 2.5cm ise anterior ve superior yüzeylerinde periton ile kaplıdır ve foramen epiploicum'un alt sınırını oluşturur [31-33]. Duodenum'un ilk 2-3 cm'si nispeten pürüzsüz mukoza ile kaplıdır [31-33]. Flexura duodeni superior'de, duodenumun ilk kısmı, aşağı doğru keskin bir şekilde kıvrılmadan önce 5 cm boyunca superior, posterior ve lateral yönde devam eder [31-33]. Periton sadece ön yüzünü kaplayana kadar, seyrinin bu bölümünde retroperitonealdir [31-33]. Ampulla duodeni'den flexura duodeni superior'e kadar olan bölüm, karaciğerin lobus quadratus hepatis'inin arkasında ve altında yer alır [31-33].

Pars descendens duodeni: Duodenum'un ikinci kısmı olan bu bölüm 8 cm uzunluğundadır [28, 31-34]. Flexura duodeni superior'dan başlar ve aşağı doğru bir eğriyle, columna vertebralis'in sağ tarafında konveks olarak ilerler ve üçüncü lumbal vertebranın korpusunun alt sınırına kadar uzanır [31-33]. Duodenum'un üçüncü kısmı ile birleştiği yer olan flexura duodeni inferior'e doğru mediale döner [31-33]. Sadece üst ön yüzeyinde peritonla kaplıdır [31-33]. Başlangıcında safra kesesinin arkasında ve karaciğerin lobus hepatis dexter'inde

yer alır ve colon transversum tarafından önden çaprazlanır [31-33]. Sağ böbreğin hilusunun, sağ böbrek damarlarının, v. cava inferior'un ve m. psoas major dextra kasının önünde yer alır [31-33]. İç kısmı da belirgin mukozal kıvrımları ile duodenum'un ilk bölümünün distal kısmına benzer [31-33]. Pars descendens duodeni, papilla duodeni major adı verilen bir açıklığa sahiptir [31-34]. Papilla duodeni major, ampulla hepatopancreatica'dan safranın boşalmasını düzenleyen Sphincter Oddii (Oddi sfinkteri, Glissons sfinkteri)'yi içerir [33, 34].



Resim 2.1. Duodenumun endoskopik görünümü [34].

Pars horizontalis duodeni: Duodenum'un 10 cm uzunluğunda olan üçüncü kısmıdır [28, 31-34]. Flexura duodeni inferior'den başlar [31-33]. Üçüncü lumbal vertebra'nın alt sınırının sağ tarafından başlayıp sola ve hafifçe yukarıya, v. cava inferior ve aorta abdominalis'in önünden geçerek çıkan Pars ascendens duodeni olarak devam eder [31-33]. Anteroinferior'da, jejunum yer alır [31-33]. Bu bölümün orta kısmı önde a. mesenterica superior ile arkada aorta abdominalis arasındaki açıda yer alır [31-33, 35].

Pars ascendens duodeni: Duodenum'un dördüncü kısmı olup 2,5 cm uzunluğundadır [28, 31-34]. Aorta abdominalis'in hemen solundan başlar, yukarıya ve laterale doğru üst seviyeye doğru ilerler [31-34]. Flexura duodenojejunalis, ligamentum suspensorium duodeni ile diyafragma'ya asılır [36].

Jejunum

Yetişkinlerde jejunum'un uzunluğu 2.5m kadardır [31, 32, 37]. Jejunum ince bağırsağın ikinci kısmıdır [37]. Flexura duodenojejunalis'den başlar ve karnın sol üst kadranında bulunur [37]. Mesenterium onu karın arka duvarına bağladığı için jejunum tamamen intraperitonealdır [37]. Jejunum ve ileum arasında net bir sınır çizgisi yoktur, ancak onları birbirinden ayıran bazı anatomik ve histolojik farklılıklar vardır [37]. Jejunum, duodenumdan sonraki uzunluğun proksimaldeki beşte ikisidir [37]. Jejunum'un duvarı ileum'dan daha kalın ve lümeni daha geniş ve plicae circulares intestini tenuis'leri içerir [37]. Çoğunlukla karnın sol üst kadranındadır ve ileum'a göre daha geniş çapta ve daha kalın bir duvara sahiptir [37].

2.3. Enterik Sinir Sistemi

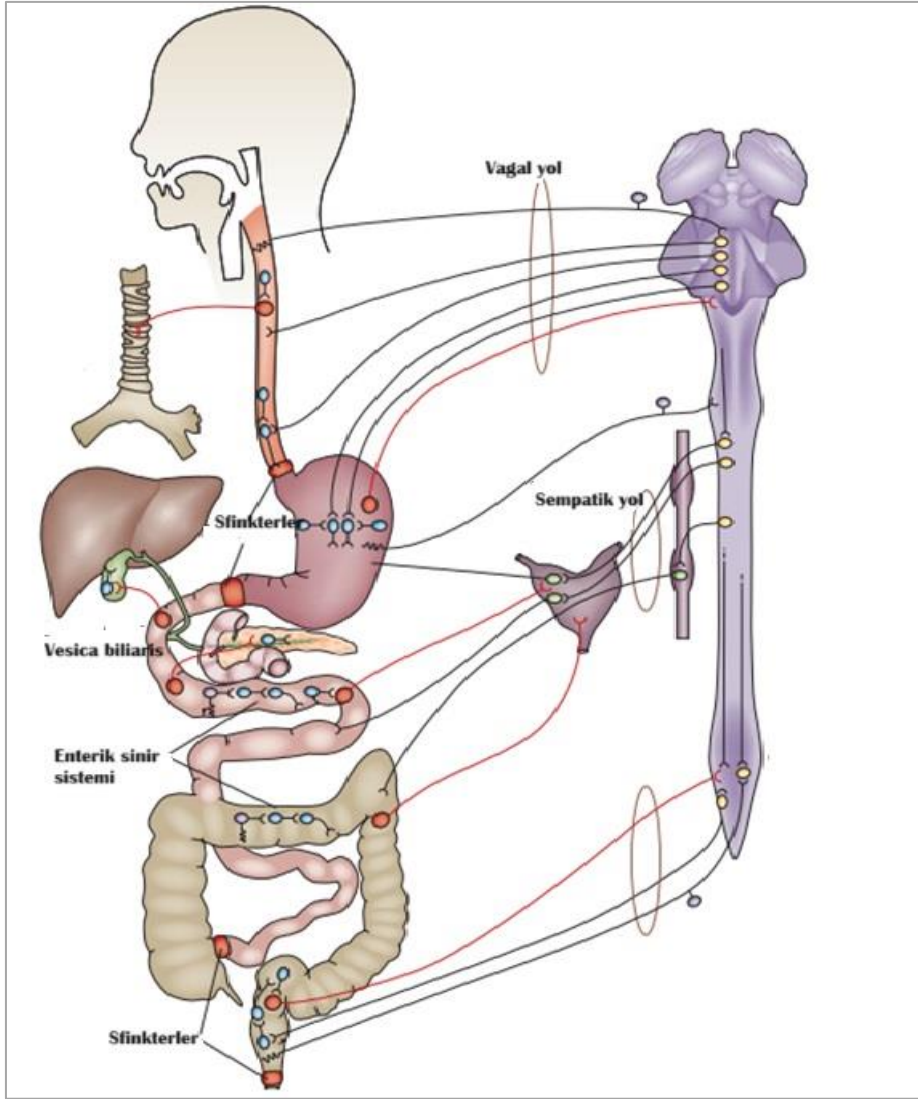
Enterik sinir sistemi yemek borusu, mide, ince ve kalın bağırsaklar, pankreas, safra kesesi duvarları içinde yer alan binlerce küçük gangliyondan, bu gangliyonları birbirine bağlayan sinir liflerinden oluşur [24] (Şekil 2.4). Periferik sinir sisteminin en karmaşık bölümüdür [24]. Memelilerde gastrointestinal yolun sindirim fonksiyonu haricinde önemli birkaç özelliği daha vardır [24]. İçerisinde kendine özel bir sinir ağı bulunur [24]. Bağırsak duvarına gömülü olan bu sinir ağına enterik sinir sistemi denir [24]. Bu sisteme “küçük beyin” veya “ikinci beyin” de denir [24]. Gastrointestinal sistemde sekresyon, motilite, peristaltizm, sıvı dengesi ve kan akımı, enterik nöroendokrin, epitel hücrelerinin salgılanması, bariyer işlevi, bağışıklık tepkileri olmak üzere önemli görevleri bulunan bu sistem uyarıcı veya inhibe edici özellik gösterir [24]. Enterik sinir sistemi her ne kadar ayrı bir sistem olsa da otonom sinir sistemindeki sempatik ve parasempatik sinir sistemiyle de ilişkilidir [24]. Sempatik sinir sistemi mukosal sekresyonunun fazla salınımını inhibe ederken, gastrointestinal kan akımını vasokonstriksiyonla regüle eder. Parasempatik sistemse mide ve bağırsak tonusunu ve motiliteyi uyarıcı ve inhibe edici olarak kontrol eder [38]. İnsanda enterik sinir sisteminde nöron sayısı yaklaşık 200-600 milyon kadardır [39]. Enterik sinir sistemi enterik nöronlar, internöronlar ve enterik glialardan oluşur [40]. Bu hücreler crista neuralis'ten orijin alır ve gastrointestinal yol için göç ederler. Bu hücrelerin göçü, maturasyonu ve organizasyonu gebelik sırasında ve hatta bazı türlerde doğumdan sonra da devam eder [41-44]. Yapılan bir çalışma postnatal dönemdeki enterik sinir sistemi maturasyonunun yanı sıra ortaya çıkan

bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinin, enterik sinir sisteminin gelişimi ve işlevi için önemli olabileceğini göstermektedir [45].

Enterik sinir sistemini oluşturan nöronlar ve enterik glia hücreleri bir araya gelerek gangliyonları oluşturur [40]. Bağı dokusu elemanları içermeyen bu gangliyonlar kan-enterik sinir sistemi bariyeri olmaması dışında, birçok açıdan yapı olarak merkezi sinir sistemine benzer [40, 46].

Gangliyonlar; plexus submucosus (Meissner's) ve plexus myentericus (Auerbach's) olmak üzere iki önemli plexusu oluşturur [2, 3, 24, 41, 43, 47-54]. Bu plexuslardaki gangliyonlar, nöronal sinyallerin hızlı iletilmesi için bağırsak boyunca internodal zincirler sayesinde komşu gangliyonlara bağlanırlar [2, 3, 24, 41, 43, 47-53]. Her plexus kendine özel nörokimyasal kodlamalara, projeksiyonlara ve işlevsel rollere sahip heterojen nöron popülasyonuna sahiptir [55]. Sisteme genel olarak bakıldığında glia hücreleri nöronlardan daha fazladır [24, 49]. Yapılan bir çalışma plexuslardaki nöronların glialara oranlarının plexus submucosus'ta 1:4, plexus myentericus'ta 1:10 ve ortalama 1:7 arasında değiştiğini göstermiştir [56]. Plexus submucosus submukoza tabakasına yerleşmiş, kan akışını ve gastrointestinal sekresyonun kontrolünü sağlar [3, 57]. Plexus submucosus, ince ve kalın bağırsaklarda bulunur, ancak yemek borusunda yoktur ve midede çok az ganglion içerir [2, 3, 24, 41, 43, 47-53, 55]. Plexus submucosus, mukozadan başlayarak; Meissner's, ara tabaka ve Henle tabakası olmak üzere üç tabakadan oluşur [58]. Plexus submucosus, immun hücre migrasyonu, kan akışı ve mukozal fonksiyonu kontrol eden primer afferent nöronlar ve efektör nöronları içermektedir [58]. Ayrıca kolinerjik nöronlar, nöropeptid Y için immunoreaktif (NPY) ve non-kolinerjik nöronlar, vasoaktif intestinal peptid için immunoreaktif (VIP) olmak üzere iki önemli sekretomotor nöronlara da sahiptir [59].

Plexus myentericus ise longitudinal ve sirküler kaslar arasına yerleşmiş, özofagustan rektuma kadar uzanır. Asıl görevi peristaltizmin ve motor aktivitenin kontrolü ile ilgilidir [54, 60, 61]. Burada uyarıcı ve inhibe edici motor nöronlar bulunur [38, 55, 60-70]. Bu nöronlar sayesinde sinyal kontrolü, düz kasların kasılması veya gevşemesini sağlayan nörotransmitterler tarafından başlatılır [38, 55, 60-70]. Bu da besinin gastrointestinal yol boyunca taşınmasını sağlayan peristaltizmi doğurur [38, 55, 60-70]. Bu süreçte dahil olan birçok nörotransmitter vardır. Gevşemeyi sağlayanlardan en önemlileri vasoaktif bağırsak peptidi (VIP), nitrik oksit, hipofiz adenilat siklaz aktive edici peptid ve pürindir [59, 71].



Şekil 2.4. Enterik sinir sistemi şeması (Furness (2012)'den değiştirilerek alınmıştır)

2.3.1. Enterik sinir sistem embriyolojisi

Enterik sinir sistemi hücreleri, crista neuralis'ten göç eden hücrelerden köken alarak, maturasyonu ve organizasyonu gebelik sırasında ve hatta bazı türlerde doğumdan sonra da devam eden hücrelerdir [73]. Yapılan çalışmalar, enterik nöronların nervus vagus boyunca bağırsakların gelişimi sırasında göç ettiğini ortaya çıkarmışlardır [24, 41, 42, 44, 46, 47, 57, 74-76].

Enterik sinir sistemi, crista neuralis'in vagal ve sakral segment hücrelerinden gelişmektedir [73]. Bu sistem, bağırsağın proksimal bölümüne göç eden crista neuralis'in vagal segmentinden köken alır, daha sonra gastrointestinal sistemin tamamına distal yönde dağılır [73]. Yapılan çalışmalar, bağırsak ve beyin fetüsün gelişimi sırasında aynı doku

kümesinden meydana geldiğini göstermektedir [3, 24, 41, 42, 44, 46, 47, 57, 74-76]. Natal dönemin 8. haftasında nörohumoral maddeler belirlenebilmiş (insülin, glukagon, serotonin vb), 24. haftasında ise bu hormonların sayısı daha da artmıştır [77]. Natal dönemin 25. haftasında ilk motilite sinyalleri belirir [77]. Natal dönemin 26.haftasında enterik nöronlarla efektor organlar arasında bağlantı gelişir [77]. Bir yaşına kadar farklılaşır ve gelişim gösterir [77].

2.3.2. Enterik sinir sistemi yapısı

Enterik sinir sisteminde enterik nöronlar yeterli sayıda üretilir [49, 60, 61, 78, 79]. Enterik sinir sistemini oluşturan nöral hücreler, gastrointestinal yolun duvarına yerleşmiştir [24, 41, 43, 47-51]. Enterik sinir sistemi içerisinde enterik nöronlar ve glial hücreler, enterik ganglionlarda gruplandırılır [24, 41, 43, 47-51]. Enterik nöronlar ayrıca gastrointestinal sistemin kapsamlı intrinsik bağışıklık sistemi ile etkileşime girer [24, 41, 43, 47-51].

Enterik sinir sistemi, otonom sinir sisteminin parasempatik ve sempatik sistemleriyle de bağlantılıdır [38]. Ayrıca nervus vagus ve spinal afferent yollarla bol miktarda afferent sinir lifi alır [5]. Böylece enterik sinir sistemi, sempatik prevertebral ganglionlar ve merkezi sinir sistemi arasında her iki yönde de zengin bir etkileşime sahiptir [46]. Bu sistem geniş bir endokrin sinyal sistemi barındırır ve birçok gastrointestinal fonksiyon ikili (nöronal ve endokrin) kontrol altındadır [80].

2.3.3. Enterik nöronlar

Enterik sinir sisteminde yaklaşık 20 tip enterik nöron, işlevlerine göre tanımlanabilir [3, 24, 43, 46, 47, 49-51, 55, 57, 60-62, 74, 77-79, 81-86]. Yirmi tip enterik nöron arasında, üç sınıf tanımlanabilir; internal primer afferent nöronlar (IPAN'lar, internal duyuşal nöronlar olarak da adlandırılır), internöronlar ve motor nöronlar [3, 24, 43, 46, 47, 49-51, 55, 57, 60-62, 74, 77-79, 81-86]. İnternal primer afferent nöronlar organların fiziksel durumunu (örneğin bağırsak duvarındaki gerilim) ve lümen içeriğinin kimyasal özellikleri ile ilgilidir [86].

Hareketlilik, salgı ve kan akımının uygun refleks kontrolünü başlatmak için bu sinyallere tepki verirler [86]. İnternal primer afferent nöronlar birbirleriyle, ara nöronlarla ve doğrudan motor nöronlarla bağlanır [86]. Ara nöronlar, diğer ara nöronlarla ve motor nöronlarla

bağlantı kurar [86]. Motor nöronlar arasında kas motor nöronları, sekretomotor nöronlar, sekretomotor/vazodilatör nöronlar ve vazodilatör nöronlar bulunur [86]. Düzenleyici fonksiyonlarına göre enterik nöronlar eksitator ve inhibitör motor nöronlar olmak üzere ikiye ayrılır [40]. Eksitator motor nöronlar; asetilkolin, P maddesi ve glutamat gibi nörotransmitterler içerir [40]. İnhibitör motor nöronlar ise nitrik oksit (NO), ATP ve vazoaaktif intestinal peptid (VIP) içerir [40].

2.3.4. Enterik nöron sınıflandırılması

Enterik nöronlar; şekillerine göre, fizyolojik özelliklerine göre ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılır [3, 57].

Şekillerine göre enterik nöron sınıflandırılması

Dogiel, enterik nöronları şekillerine göre ilk sınıflandıran Rus histologtur [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. Dogiel; insan, kobay, tavşan, sıçan, köpek ve kedi bağırsağındaki plexus myentericus ve plexus submucosus'ta nöron morfolojisi hakkında kapsamlı bir çalışma yapmıştır [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87] (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Dogiel tarafından sınıflandırılan nöron çeşitleri [3].

<i>Nöron Çeşitleri</i>	<i>Nöron özellikleri</i>
<i>Tip I nöronlar</i>	Bir aksonu ve en fazla 20 tane dendriti bulunmaktadır.
<i>Tip II nöronlar</i>	Bir aksonu ve aksonlara benzeyen en fazla 16 tane uzun dendriti bulunmaktadır. Enterik refleksleri uyandıran fizyolojik uyarılara doğrudan tepki vermeleri nedeniyle enterik refleks yollarının ilk nöronları oldukları sonucuna varılmıştır
<i>Tip III nöronlar</i>	Bir aksonu ve en fazla 10 tane dendriti bulunmaktadır. En yaygın “multipolar” enterik nöronlardır.
<i>Tip IV nöronlar</i>	Bir aksonu kısa dendritleri bulunmaktadır. Miyenterik plexustan mukozaya projekte olurlar. Sekretomotor nöronları temsil edebilirler.
<i>Tip V nöronlar</i>	Uzun dallanmış dendritleri bulunmaktadır. Dikkat çekici kümeler olarak görülürler.
<i>Tip VI nöronlar</i>	Bir aksonu ve ince dendritleri (aksonal dendritler) bulunmaktadır.
<i>Tip VII nöronlar</i>	Nadir olarak bulunmaktadır. İnsan, köpek ve domuzda tanımlanmıştır

Fizyolojik özelliklerine göre enterik nöron sınıflandırılması

Fizyolojik özelliklerine göre nöronlar S ve AH nöronları olarak ikiye ayrılır [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. S nöronları; 20-100ms süreli aksiyon potansiyeli sergileyen nöronlardır [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. AH nöronları ise aksiyon potansiyelleri S nöronlara göre daha uzun olan nöronlardır [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87].

Fonksiyonlarına göre enterik nöron sınıflandırılması

Enterik motor nöronlar

Muscularis mucosa'yı innerve eden sindirim kanalı boyunca kas lifleri arasında yerleşmiş eksitator ve inhibitör nöronlardır [3, 24, 43, 46, 47, 49, 51, 55, 57, 60-62, 74, 77-79, 81-85]. Tek aksona sahip bu nöronlar fizyolojik özelliklerine göre S tipi nöronlardır [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. Şekillerine göre Dogiel tip I özellik gösterirler [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. Eksitator nöronların nörotransmitteri asetilkolin ve taşikinindir [3, 57].

Inhibitör nöronlar, şekillerine göre Dogiel tip I özellik gösterirler [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. Inhibitör nöronların; nitrik oksit, vazodilatör intestinal peptid (VIP) ve adenosin trifosfat (ATP) gibi birden çok nörotransmitterleri bulunmaktadır [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87]. Bunlar sayesinde doğrudan düz kasa veya dolaylı olarak interstisyel hücrelerle çoklu inhibitör iletim mekanizmalarını kullanmaktadırlar [3, 46, 47, 57, 74, 78, 87].

Enterik internöronlar

Gastrointestinal sistemde tanımlanan internöronlar, bölgelerine göre farklılık gösterir [3, 24, 43, 46, 47, 49, 51, 55, 57, 60-62, 74, 77-79, 81-85]. Pleksus myentericus'da bulunan internöronlar oral ve anal bölgede benzerlik gösteren zincirleri oluştururlar [3, 24, 43, 46, 47, 49, 51, 55, 57, 60-62, 74, 77-79, 81-85].

Primer afferent nöronlar

Primer afferent nöronlar (intrinsik primer afferent nöronlar (IPAN)), pleksus myentericus ve pleksus submucosus'da bulunmaktadır [3, 24, 43, 46, 47, 49, 51, 55, 57, 60-62, 74, 77-79, 81-85]. Myenterik nöronların %30'unu ve submukozal nöronların %14'ünü oluşturan

hiperpolarizasyona sahip nöronlardır [3, 46, 47, 57, 74, 78]. Bu nöronlar mukozanın mekanik deformasyonu, radyal gerilme ve kas gerginliği ile ilişkilidir [3, 46, 47, 57, 74, 78]. Bağırsaklardaki peristaltizmi (ince bağırsak ve colon), kan akışı ve sekresyon gibi fizyolojik fonksiyonların kontrolü, refleks yolları, distansiyon ve mukozanın mekanik uyarımı gibi çeşitli uyaranlara yanıt vermede görevlidirler [57].

2.3.5. Neuroligin ve neurexin protein aileleri

Neuroliginler (NLGN) ve Neurexinler (NRXN) sinaptik hücre yapışma molekülleridir [88]. Neurexinler ilk olarak 1992’de kara dul örümceği (*Lactrodectus*) zehirinin bir bileşeni olan α -latrotoksin reseptör olarak keşfedilmiştir [89]. Birkaç yıl sonra, neuroliginler, neurexin bağlayıcı ortaklar olarak tanımlanmıştır [90]. Neuroliginler postsinaptik zarda, neurexinler çoğunlukla presinaptik zarda lokalizedir [88].

Merkezi sinir sisteminin presinaptik nöronal hücre yapışma proteinlerinin bir ailesi olan neurexinler, presinaptik terminallerden sinaptik vezikül ekzositozunu uyararak masif nörotransmitter salınımını tetiklemektedir [91]. Omurgalılarda üç gen tarafından kodlanırlar ve kapsamlı alternatif “splicing” nedeniyle 1000’den fazla izoformları bulunmaktadır [92].

Neurexinlerin prototipik bir etkileşim ortağı olan neuroliginler, neurexinlere bağlanarak fonksiyonel sinapsların oluşumu, farklılaşması, olgunlaşması ve plastisitesine katılmak için transsinaptik kompleksler oluşturur [93]. Her iki protein de fareler ve insanlar dahil olmak üzere çeşitli organizmalarda tanımlanmış ve işlevleri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir [94].

Neuroliginler, nöronal gelişimi ve sinaptik iletimi düzenleyen önemli faktörler olarak ortaya çıkmıştır [94]. İnsanlarda ve diğer primatlarda neuroligin ailesinin beş üyesi bulunmaktadır: neuroligin-1, 2, 3, 4X ve 4Y [93, 94]. Neuroliginler, izoform-spesifik bir lokalizasyona sahiptir: neuroligin-1 uyarıcı sinapslarda, neuroligin-2 inhibitör sinapslarda ve neuroligin-3 her ikisinde de lokalizedir [94]. İnsan neuroligin-4X uyarıcı sinapslarda lokalize olurken, fare neuroligin-4 benzeri glisinerjik sinapslardadır [94]. Yapılan çalışmalar, neuroligin-4Y’deki tek bir amino asit farkının, azalmış yüzey ekspresyonu ve sinaptik fonksiyona yol açan bir açığı ile sonuçlandığını göstermektedir [94]. Neuroliginler posttranslasyonel modifikasyonlar ve protein-protein etkileşimleri yoluyla düzenlenir [95]. Neuroligin-1,

uyarıcı sinapslardaki işlevini düzenlemek için kalsiyum / kalmodulin bağımlı protein kinaz 2, protein kinaz A ve tirozin kinazlar tarafından fosforile edilir [95].

Hem neurexin hem de neuroligin, hücre dışı alanları yoluyla reseptör tipi protein tirozin fosfatazları bağlar [96]. Neurexin/ Neuroligin kompleksi ile uyum içinde olan Reseptör Tipi Tirozin Protein Fosfataz-T, sinaps oluşumunu düzenlemektedir [97].

2.3.6. Enterik pleksuslar

Enterik sinir sisteminde pleksus myentericus ve plexus submucosus olmak üzere iki büyük ve bazı küçük pleksuslardan oluşur [3, 47, 57, 98] (Şekil 2.5).

Pleksus myentericus (Auerbach plexusu)

Bağırsağın sirküler ve longitudinal kas tabakaları arasında bulunan, gastrointestinal yol boyunca uzanan ve çoğunlukla gastrointestinal motilitenin kontrolünden sorumlu olan bir sinir ağıdır [3, 47, 57, 99, 100]. Pleksus myentericus'un primer pleksus, sekonder pleksus ve tersiyer pleksus olmak üzere üç çeşit pleksusu bulunur [47]. Primer pleksus'u ganglion ve internodal iplikçikler oluştururken, myenterik pleksusun ana gövdesini oluşturur [47]. Sekonder pleksus sirküler kaslara paralel seyrederek büyük sinir ağları, birincil internodal iplikçiklerden dallar veya ganglionlardan oluşur [47]. Tersiyer pleksus ise efektör organlara, epitel hücrelerine giden sinir liflerinden oluşur [47].

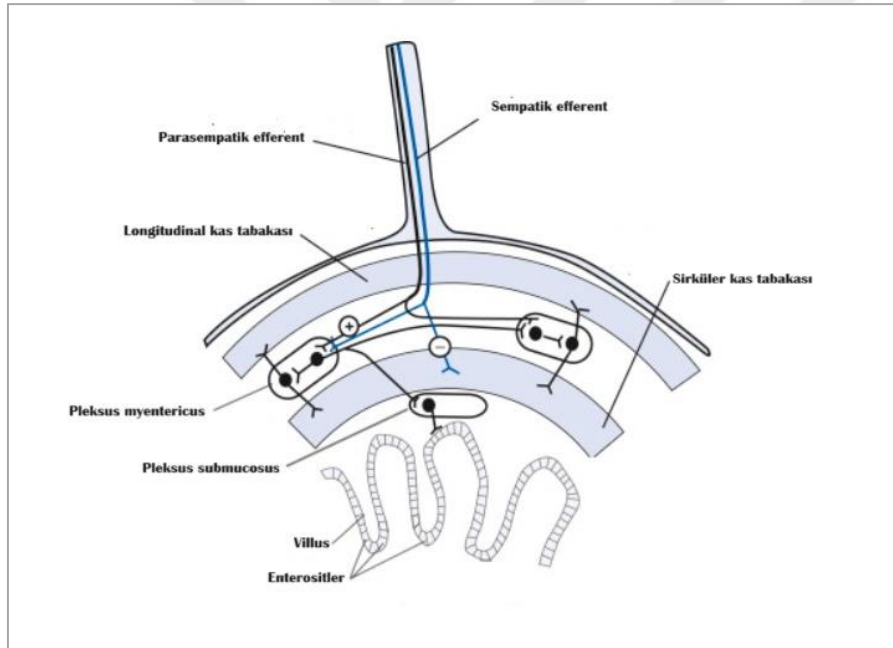
Pleksus submucosus (Meissner plexusu)

Gastrointestinal kanalda submukozada bulunan ve ganglion büyüklüğü ve nöron sayısı pleksus myentericus'a göre daha az olan pleksusdur [3, 46, 47, 57, 101]. Ganglion düzenleri ve fonksiyonel nöron tipleri türler arasında farklılık gösterir [101]. İki veya bazen üç ganglion tabakası ayırt edilmiştir [102]. Farklı derinliklerdeki ganglionlar, farklı nöron popülasyonları içerir [102]. Bu pleksus için en iyi gruplandırma pleksus submucosus interna ve pleksus submucosus externa şeklindedir [102]. Pleksus submucosus interna bağırsak lümenine daha yakinken, pleksus submucosus externa sirküler kas tabakasına daha yakındır [102]. Pleksus submucosus interna, çoğunlukla mukozanın innervasyonunu ve bir kısmı ise kasın innervasyonunu sağlayan nöronlara sahiptir [102]. Pleksus submucosus externa mukozanın innervasyonunu sağlar [102].

Pleksus subserosus

Auerbach tarafından tanımlanan, bağırsağın dış kas tabakası ile cavitas peritonealis'in serozal tabakası arasında yer alan, tüm sindirim organları yüzeylerindeki bağ tabakasında uzanan sinir demetidir [3, 47, 57].

Pleksuslar birbirleriyle çok sayıda sinir lifi aracılığıyla bağlantı kurarlar. Ekstrinsik (vagal ve mezenterik) nöronlar ile pleksus myentericus arasındaki bağlantıları pleksus subserosus gerçekleştirir [46, 47]. Yapılan çalışmalarda pleksus myentericus içindeki bağlantılar, bir nöronun aynı veya komşu ganglionda bulunan başka bir myenterik nörona sonlanmak üzere bağlantıları olduğunu, ayrıca pleksus submucosus'ta da benzer bağlantılar olduğunu göstermiştir [3, 57, 78].



Şekil 2.5. Pleksus myentericus ve pleksus submucosus'un şematik diyagramı (Feher (2017)'den değiştirilerek alınmıştır)

2.3.7. Enterik glia

Enterik glia, sindirim sistemi boyunca enterik nöronların hücre gövdeleri ile ilişkili, yıldız şeklinde geniş bir periferik nöroglia popülasyonudur [3, 46, 47, 49, 50, 57, 104, 105]. “Enterik glia” terimi toplu olarak enterik sinir sistemi ile ilişkili tüm nörogliaları ifade eder [3, 46, 47, 49, 50, 57, 104, 105]. Çalışmalar enterik glia'nın enterik sinir sisteminin en

dinamik sinyalleşme bileşenlerinden biri olduğunu ve pasif hücreler olarak enterik glia kavramını yenilediğini göstermektedir [3, 46, 47, 49, 50, 57, 104, 105]. Enterik glia ve nöronlar arasındaki hızlı, çift yönlü iletişim, enterik refleksleri düzenlemektedir [106, 107]. Ganliyonlarda yaygın olarak bulunan enterik glia hücrelerinin immünohistokimyasal belirteçlerin kullanılmasıyla görüntülendiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır [107, 108]. Enterik glia, nöroinflamasyon, kanser ve enfeksiyon dahil olmak üzere çeşitli hastalık süreçlerine katkıda bulunur [107, 108]. Bu süreçlerde, glial fonksiyonların hem kayıpları hem de kazanımları, değişen enterik sinir sistemi homeostazisi ve gastrointestinal patofizyolojiyle doğrudan ilişkilidir [3, 50, 56, 57, 83, 104-111].

2.4. Otizm Spektrum Bozukluğu

Otizm spektrum bozukluğu, yaşamın erken dönemlerinde ortaya çıkan ve sosyal iletişim zorlukları, kısıtlı tekrarlayan davranışlar ve duyuşal zorluklardan oluşan nörogelişimsel bir bozukluktur [3, 112-119]. Bunlara ek olarak hiperaktivite ve dikkat bozuklukları (dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu (DEHB) gibi), anksiyete, depresyon ve epilepsi de ortaya çıkmaktadır [3, 114, 120-122]. Otizm spektrum bozukluğu, birçok psikiyatrik ve periferik komorbiditenin eşlik ettiği karmaşık ve çeşitli nörogelişimsel bozukluklardır [1]. Merkezi ve enterik sinir sistemi gelişimini ve/veya işlevini etkileyen genetik ve/veya çevresel risk faktörleri, Otizm spektrum bozukluğunda eşlik eden gastrointestinal sorunların patogenezinin ve/veya semptomolojisinin altında yatan nedensel faktörler olarak giderek daha fazla ortaya çıkmaktadır [1].

2.4.1. Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü, otizm spektrum bozukluğunun uluslararası yaygınlığını %0,76 olarak tahmin etmektedir; ancak bu, küresel çocuk nüfusunun yalnızca yaklaşık %16'sını oluşturmaktadır [123]. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri, 8 yaşındaki çocukların (veya 59 çocuktan 1'inin) yaklaşık %1,68'ine otizm spektrum bozukluğu tanısı bildirilmiştir [124, 125]. Danimarka'da yapılan bir çalışma, 1980-1991 yılları arasında otizm spektrum bozukluğu prevalansındaki artışın çoğunluğunun, tanı kriterlerindeki değişikliklere ve ayakta tedavi verilerinin dahil edilmesine dayandığını belirtmiştir [123]. Otizm ve Gelişimsel Yetersizlik İzleme Ağı (ADDM) tahminlerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde otizm spektrum bozukluğunun yaygınlığı 2000–2002 ve

2010–2012 arasında iki katından fazla arttığı, 2014 ile 2016 yılları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmaksızın stabilize devam ettiği bildirilmiştir [125, 126]. Bugün tahmini oran dünya genelinde yaklaşık 1/100 çocuğa otizm spektrum bozukluğu tanısı konulmaktadır ve önümüzdeki yıllarda artması öngörülmektedir [127]. Son on yılda, otizm spektrum bozukluğu genetiği araştırmasının, yalnızca fenotipik heterojenliğini yorumlamak ve açıklamak için değil, aynı zamanda yeni teşhis prosedürleri ve tedavileri keşfetmek için de çok önemli olduğu kanıtlanmıştır [118]. Otizm spektrum bozukluğunda yüzlerce genin dahil olduğu ve bunun da çeşitli ilişkili alt fenotiplerle farklı dil ve sosyal eksiklikler dahil olmak üzere, farklı fenotiplerin birleşik bir spektrumu ile sonuçlandığı tahmin edilmektedir [128]. Otizm spektrum bozukluğu ırksal, etnik ve sosyoekonomik gruplarda görülmekle birlikte Kafkasyalı çocuklarda, siyahi veya Hispanik çocuklara göre daha sık tanımlanır [125].

2.5. Otizm Spektrum Bozukluğu ve Enterik Sinir Sistem İlişkisi

Enterik sinir sistemi disfonksiyonu genellikle sindirim bozuklukları ile bağlantılıdır [1, 43, 66, 68, 70, 81, 85, 129-144]. Bağırsak duvarındaki konumu nedeniyle enterik sinir sisteminin, lümen içeriğinden epitelyal bariyer, mukoza tabakası ve iyon-sıvı salgılanması ile korunduğu kabul edilmektedir [43, 56, 145, 146]. Enterik sinir sistemi ayrıca bağırsak lümeni ile bağırsak duvarı içindeki hücreler ve dokular arasındaki epitelyal bariyerin bütünlüğünün korunmasına glial hücrelerle birlikte katkıda bulunmaktadır [27, 43, 56, 59, 111, 145, 146]. Enterik nöronlar, dört seviyede sinir düzenlemesi gösterirler [147]. İlk seviye, enterik sinir sistemi bölgesel regülasyonudur [147]. İkinci seviye hem enterik sinir sistemi hem de merkezi sinir sistemi sinirlerinden iletilen bilgileri alan prevertebral ganglionlarda bulunur [147]. Üçüncü seviye merkezi sinir sistemidir [147]. İç veya dış çevresel değişikliklerle ilgili sinyaller aldıklarında, beynin ve omuriliğin çeşitli merkezlerinden çeşitli bilgi parçalarını entegre ettikten sonra, merkezi sinir sistemi düzenleyici bilgilerini enterik sinir sistemine iletir veya otonom sinir sistemi ve nöroendokrin yoluyla gastrointestinal efektör hücreler (Düz kas, bezler ve kan damarlarını düzenleyen sistem) üzerinde doğrudan hareket eder [147]. Dördüncü seviye, gelişmiş beyin merkezlerinden oluşur; korteksten ve subkortikal bölgeden gelen bilgiler, aşağı doğru bazal gangliyonlardan, spesifik beyin sapı çekirdeklerine doğru birleşir [147]. Gastrointestinal sistemi farklı seviyelerde merkezi sinir sistemi ile bağlayan bu tip nöroendokrin ağ, mikrobiyota bağırsak-beyin ekseninin işlevinin yapısal temelidir [147]. Herhangi bir

düzeyde meydana gelen nörolojik bozukluklar, bağırsak ve beyin işlevini etkiler [147]. Bağırsak, nervus vagus aracılığıyla beyinle doğrudan sinirsel bir bağlantıya sahiptir ve bakteriler enterik sinir sisteminin afferent nöronlarını uyarır [3, 114, 147-149]. Bağırsaktan gelen vagus sinyali, mikroorganizmaların neden olduğu sepsise karşı bir anti-inflamatuar yanıtı tetikleyebilir [147]. Bağırsak mikroorganizmaları nervus vagus yoluyla beyin fonksiyonlarını etkileyebilir bu nedenle vagotomiden sonra mikroorganizmaların davranışları düzenleyemediği gözlenmiştir [147].

Enterik sinir sistemi nörolojik bozukluklarda bir portal veya katılımcı olarak önemli rol oynamaktadır [150]. Enterik sinir sistemi yapısı ve nörokimyası, merkezi sinir sistemine benzer, bu nedenle, merkezi sinir sistemi bozukluklarına yol açan patojenik mekanizmalar, enterik sinir sistemi işlev bozukluğuna da yol açmaktadır [150]. Otizm spektrum bozukluğu, Alzheimer, amiotrofik lateral skleroz, bulaşıcı süngerimsi ensefalopatiler, Parkinson hastalığının etiopatolojisinde enterik sinir sistemi disfonksiyonu görülmektedir [150]. Hayvan modellerinin, ortak patofizyolojik mekanizmaları bu koşullarda gastrointestinal komorbidite sıklığını açıkladığı öne sürülmektedir [150]. Nörogelişimsel bozukluklara sahip çocuklar sıklıkla gastroözofageal reflü, kusma, gastrointestinal ağrı, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH), kabızlık ve hipomotilite dahil olmak üzere kronik gastrointestinal semptomları yaşarlar [71, 129, 130, 151, 152]. Bu semptomlar, yaşam kalitesini etkileyen belirteçlerdir [74, 91, 94, 115, 125, 128, 153-158].

Araştırmacılar, gastrointestinal reflü hastalarında yüksek oranda anksiyete ve depresyonun görüldüğünü bildirmiştir [159]. Merkezi sinir sistemi ve kronik gastrointestinal semptomları ile ilgili yüksek orandaki bozukluk, hücresel sistemi değiştiren ortak bir paydaya işaret etmektedir. Bağırsak ve beyin arasındaki çift-yönlü iletişim, nöronal, endokrin ve immünolojik seviyelerle düzenlenir [160]. Bağırsak beyin ile iki nöroanatomik yoldan etkileşime girmektedir. Bunlardan biri omurilikteki otonom sinir sistemi ve nervus vagus tarafından doğrudan bağırsak ve beyin arasında karşılıklı bilgi alışverişidir. Diğer bağırsaktaki enterik sinir sistemi ile omurilik içindeki otonom sinir sistemi ve nervus vagus arasındaki iletişim yoluyla bağırsak ve beyin arasındaki çift yönlü bir iletişimidir [161]. Bu çift yönlü iletişim, bağırsak-beyin eksenini (BBE) olarak bilinir ve homeostaz ile gastro-nöronal iletişimin temel düzenleyicisidir [162]. Nöroendokrin, nöroimmün, enterik sinir sistemi ve gastrointestinal mikrobiyotaya gibi diğer sistemler de bağırsak beyin aksını etkiler [163]. Bu karşılıklı ilişki, nörogelişimsel bozuklukta kronik gastrointestinal

semptomlarına ilişkin birçok hipotezin merkezinde yer alır, öyle ki bağırsak beyin aksının çerçevesinin oluşturulması, hangi değişikliklerin her iki sistemde de bozulmalara neden olabileceği ile ilgili yardım edebileceğini göstermektedir [164].

Otizm spektrum bozukluğu teşhisi konan bireylerin yaklaşık %50-70’inde hipomotilite dahil olmak üzere kronik gastrointestinal semptomlar mevcuttur. Bu durum, kronik gastrointestinal semptomları bildiren tipik olarak gelişen çocuklardan yaklaşık %26-28’inden önemli ölçüde daha yüksektir [164, 165]. Bu oranlar cinsiyetler arasında farklılık göstermez, ancak otizm spektrum bozukluğunun şiddetine göre değişir. Şiddetli otizm spektrum bozukluğu, daha aşırı kronik gastrointestinal semptomları ile ilişkilendirilmiştir [164, 166]. Otizmlı çocuklarda en sık bildirilen gastrointestinal semptomlar kabızlık, bulantı, kusma, gaz ve ishaldir [71, 129, 130, 151, 152]. Yüksek komorbidite oranı, beyin dışındaki organlarda önemli bir düzensizlik olduğunu düşündürmektedir. Gastrointestinal inflamasyonunun bir ölçüsü olarak fekal kalprotektin kullanan bir çalışmada, bağırsağın geçirgenliğini düzenleyen bağırsak epitel bariyeri, otizmlı bireylerin %36,7’sinde işlevsizken, nörogelişimsel bozukluk olmayan birinci derece akrabaların sadece %4,8’inde görülmüştür [166, 167]. Bağırsak geçirgenliğinin değişmesi, toksik maddelerin ve besinlerin bariyeri geçmesine, bölgesel veya sistemik inflamasyona neden olur. Farklı faktörlerin bu komorbiditeyi nasıl etkilediğini incelemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2.6. Nervus vagus stimülasyonu

Nervus vagus, metabolik homeostazın düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır [168]. Nervus vagus manuel veya elektrikli olmak üzere stimülasyonla uyarılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır [168]. Yapılan çalışmalarla, depresyon morbiditesi ve mortalitesi ile ilişkili kardiyovasküler, serebrovasküler, nörodejeneratif bozukluklar, metabolik ve diğer fizyolojik biyobelirteçler üzerinde potansiyel olumlu etkiler olduğu gözlenmiştir [168].

James Leonard Corning (1855-1923), 1880’li yılların başında epilepsi nöbetlerini tedavisinde arteria carotis communis’in sıkıştırılması için çeşitli aletler geliştirmiştir [169]. Bunlar arasında çatal benzeri “karotis çatalı” ile boynu çevreleyen “karotis makası” olarak adlandırılan kemer benzeri aletler bulunmaktadır [169]. Aynı araştırmacı, serebral kan

akışını azaltmak için karotid arter kompresyon aletleri ile elektrikli transkutanöz nervus vagus ve servikal sempatik stimülasyon aletlerini birlikte kullanmıştır [169].

Otonom sinir sisteminin beyin aktivitesi üzerindeki etkisini anlamak için elektriksel nervus vagus stimülasyonu çalışmaları 1930 ve 1940 yılları arasında yapılmıştır [170]. Kedi ve maymunlarda yapılan çalışmalar nervus vagus stimülasyonunun beyin elektriksel aktivitesini etkilediğini göstermiştir [170]. Nervus vagus stimülasyonunun köpeklerde deneysel olarak oluşturulan epilepsi nöbetleri üzerinde antikonvülsan etkileri olduğu belirlenmiştir [170]. 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), antiepileptik ilaçlara dirençli nöbetleri olan 12 yaş üstü hastalarda nöbet sıklığını azaltmak için nervus vagus stimülasyonunu ek tedavi olarak onaylamıştır [171].

Nervus vagus stimülasyonu ile ilgili çalışmalar hem sıçanlarda hem de insanlarda hafıza ve bilişsel fonksiyonların performansını, nöronal plastisiteyi önemli ölçüde artırdığı ve karar verme mekanizmasını geliştirdiğini göstermiştir [172-174]. Amerika Birleşik Devletleri'nde Hava kuvvetleri personeline nervus vagus stimülasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda görsel hedef tanıma için öğrenmenin hızlandığı ve dikkatlerini ve uyarılarının arttığı bildirilmiştir [175].

2.6.1. Nervus vagus stimülasyon yöntemleri

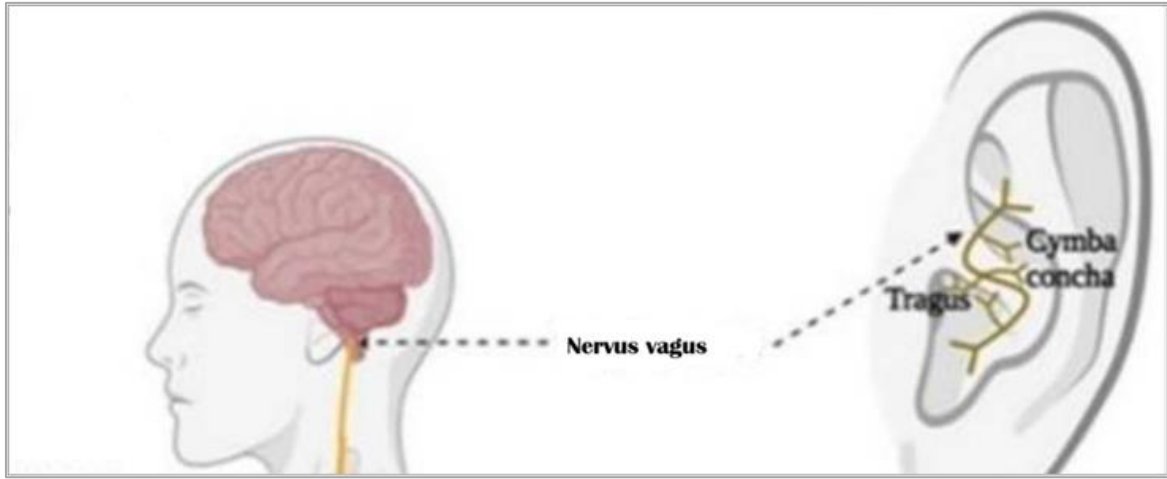
Sağ ve sol servikal nervus vagus stimülasyonu

Cerrahi olarak implante edilen nervus vagus stimülasyon aleti (NCP Sistemi; Cyberonics, Inc.; Houston, TX) klinikte yaygın olarak kullanılmıştır [176]. Ancak daha sonra kullanılan non-invaziv servikal transkutanöz nervus vagus stimülasyon aleti bilişsel performans, duygudurumu ve dikkat üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmalarla uyarılma ve çoklu görevleri önemli ölçüde iyileştirdiği ve insanlarda yorgunluk, baş ağrısı- migren için alternatif bir tedaviyi oluşturabileceğini önermişlerdir [175].

Trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu

Trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu (tVNS), elektrotların Alderman ya da Arnold siniri olarak da bilinen nervus vagusun ramus auricularis'ini uyarmak için uygulanan non-invaziv bir stimülasyon tekniğidir [177]. Ramus auricularis'in yeri, insan kadavralarından

disekte edilerek kulak bölgelerinin haritalanması ile ortaya çıkarılmıştır [177]. Stimulasyon cihazında bulunan elektrotlar kulak derisi, tragus veya cymba conchae'ları üzerine yerleştirilmektedir [13, 177-180]. Bu elektrotlar aracılığıyla iletilen impuls, nervus vagus tarafından innerve edilen çeşitli supradiafragmatik ve subdiafragmatik alanları uyarmaktadır [181]. Nervus vagus'un afferent lifleri gelen impulsu nucleus dorsalis nervi vagi bağlantılarına, nucleus spinalis nervi trigemini ve nucleus tractus solitarii'ye göndermektedir [181]. Buradan duyuusal bilginin bileşenleri daha üst düzey beyin bölgelerine (amigdala, thalamus ve neokorteks) iletilirken beynin subkortikal ve kortikal bölgelerindeki aktiviteyi modüle edebildiği bildirilmektedir [181] (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyon cihazının elektrotlarının uygulandığı kulak bölgeleri (Ruiz (2024)'den değiştirilerek alınmıştır)

Gelişmekte olan bir nöromodülasyon tedavisi olarak trans-aurikular nervus vagus stimülasyonunun temel ve klinik çalışmalar için güvenli olduğu bildirilmektedir [178, 180, 182, 183]. Kim ve arkadaşlarının (2022) stimülasyonla ilgili tüm çalışmaları göz önüne aldıklarında, “Yan etki Olaylar için Ortak Terminoloji Kriterleri” sınıflandırmasına göre güvenli bir yöntem olduğu ve ciddi bir yan etkisinin olmadığını belirtmişlerdir [180]. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyon cihazları epilepsi, majör depresif bozukluk, uykusuzluk, glikoz metabolik bozuklukları, ağrı, inme, inme rehabilitasyonu, anksiyete, korku, bilişsel bozukluk, kardiyovasküler bozukluklar, otizm spektrum bozukluğu, Parkinson hastalığı, tinnitus, Prader-Willi sendromu ve covid-19 için kullanılmaktadır [177]. Stimulasyon parametreleri akım yoğunluğu (mA), darbe genişliği (μ s), frekans (Hz), görev döngüsü (s) ve seans süresi (dk) bakımından değişiklik gösterebilmektedir [178]. Badran ve arkadaşları

(2018), stimölasyon cihazlarına uygun güvenlik değeriyle mA, μ s ve Hz. Parametrelerinin yapılandırıldığını bildirmektedir [178].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarından Otizm Modeli Oluşturulması

Bu çalışmada, C57BL/6 cinsi fareler kullanılmıştır. Dişi C57BL/6 fareler; 8-10 haftalıkken, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GÜDAM) laboratuvarlarından satın alınmıştır. Otizm benzeri fare modeli oluşturmak için valproik asit verilen hayvan modeli kullanılmıştır. Bu model ile otizmlili bireylerde görülebilecek birçok yapısal ve davranışsal özellik oluşturulmaktadır. Otizm benzeri davranışlar gösteren fareleri oluşturabilmek için; gebe farelere gebeliğin 12.5 gününde valproik asit uygulaması yapılmıştır. İçinde valproik asit bulunan Depakine 400mg/4ml flakon alınarak izotonik %0,9 NaCl çözeltisi içinde hazırlanmıştır. Bu çözelti enjeksiyon hacmi 10 ml/kg hesaplanmış şekilde gavaj yöntemi kullanılarak oral yolla verilmiştir. Tüm hayvanlar uygulamadan hemen sonra kafeslerine geri götürülmüştür. Farelerin doğum yapmaları beklenmiş ve doğumdan sonra yavrular sütten kesilinceye kadar annenin yanında kafeste bırakılmıştır. Yavrular sütten kesildikten sonra cinsiyetlerine göre dişi ve erkek olarak ayrı kafeslere alınmıştır.

Çalışmamız için 3 adet grup oluşturulmuştur.

1. grup: Kontrol grubu (K):

8 adet C57BL/6 erkek sağlıklı yavru fare grubundan oluşmuştur.

2. grup: Otizm Grubu (O):

8 adet erkek C57BL/6 yavru fare grubundan oluşmuştur. Bu fareleri otizm grubu olarak tanımlayabilmek için davranış deneyleri yaptırılmıştır. Davranış deneyleri için mirror chamber testi ve open field testi uygulanmıştır.

3. grup: Trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulanan otizm grubu (tVNS):

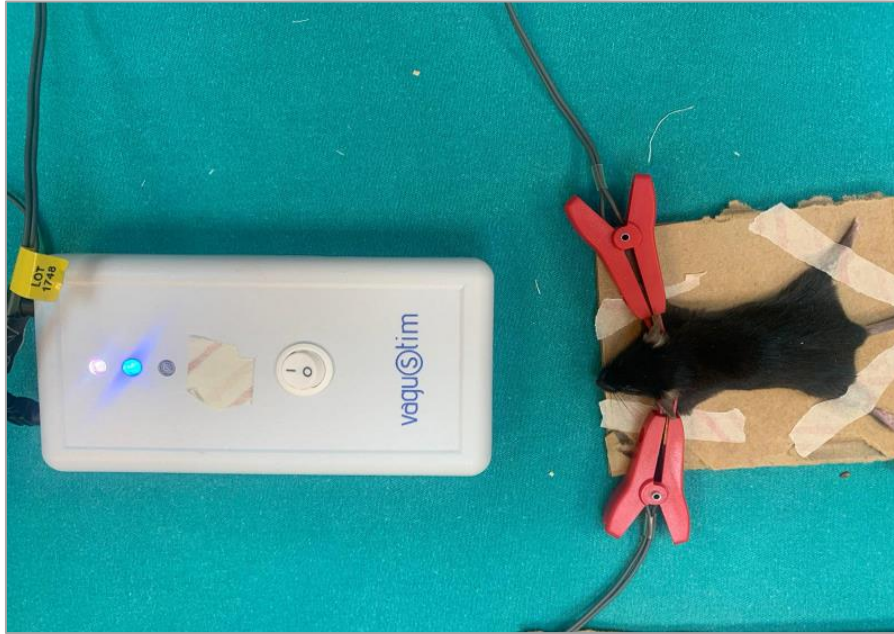
8 adet otizmlili erkek C57BL/6 yavru fare grubundan oluşmuştur. Bu farelere trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu yapılmıştır. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyon cihazının izolatörleri ile farelerin her iki kulağının konkalarına takılmış ve aynı anda her iki kulağa trans-aurikular stimülasyon uygulanmıştır. Stimülasyon 9-10-11. haftalarda haftada 2 gün

olacak şekilde trans-aurikular nervus vagus stimülasyon parametreleri 5 V, 1 mA, 10 Hz, 500 μ s atımlı darbe stimülatörü (Vagus Tim, Türkiye) 30snON/30snOFF şeklinde 30 dk olarak uygulanmıştır (Resim 3.1). Farelere trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulamaları yapıldıktan 1 hafta sonra sakrifiye edilmişlerdir (Resim 3.2).

Çalışma gruplarımız, gruplara yapılan işlemler ve süreleri çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. C57BL/6 fareleriyle oluşturulan deney grupları

Grup No	Gruplar	Gruptaki yavru sayıları	Gruba yapılan işlemler	Farelerin sakrifiye zamanı doğumdan sonra
1	Kontrol Grubu	8 adet erkek	H&E boyama ve immunohistokimyasal çalışmalar	12.hafta
2	Otizm Grubu	8 adet erkek	H&E boyama ve immunohistokimyasal çalışmalar	12.hafta
3	Trans-aurikular Nervus Vagus Stimülasyonu Uygulanmış Otizm Grubu	8 adet erkek	H&E boyama ve immunohistokimyasal çalışmalar	12.hafta



Resim 3.1. C57BL/6 cinsi farede trans-aurikular nervus vagus stimülasyonunun uygulanması



Resim 3.2. C57BL/6 cinsi fare disseksiyonu

3.2. Histolojik İncelemeler

Histolojik incelemeler için farelerden alınan duodenum ve jejunum doku örnekleri %4'lük paraformaldehit (PFA) (pH 7.4) solüsyonu içerisinde fikse edildikten sonra parafin doku takip işlemleri uygulanmıştır. Daha sonra;

- Dokular %4'lük paraformaldehit temizlenebilmesi için akarsu altında yıkanmıştır. Bu işlemten sonra dokular sırasıyla %70, %80, %90, %96, %100 şeklindeki artan dereceli etil alkol serisinden geçirilerek dehidrate edilmişlerdir.
- Ardından dokular ksilolde şeffaflandırıldıktan sonra 59°C sıcaklıktaki etüvde sıvı parafin içerisinde infiltre edilmişlerdir. İnfiltrasyonu takiben dokular parafine gömülerek parafin doku blokları elde edilmiştir.
- Parafin doku bloklarından HistoCore MULTICUT (Leica, Almanya) model döner mikrotom bıçak kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır.
- Alınan kesitler 12 saat bekletilmek üzere 59°C'lik etüv içerisine bırakılmıştır.

- e. Ksilol içerisinde deparafinize edildikten sonra %100, %96 ve %75 azalan dereceli etil alkollerden geçirilerek rehidrate edilen dokular, hematoksilin&eoizin (H&E) ve immünohistokimyasal boyama prosedürleri için hazır hale getirilmiştir.

3.2.1. Hematoksilin ve Eozin (H&E) boyama yöntemi ve boyalı doku kesitlerinin histomorfometrik analizleri

Hematoksilin ve Eozin boyama için hazır hale getirilen parafin kesitlerin boyama protokolü aşağıda yer almaktadır [184].

- a. Parafin doku kesitleri 11 dakika hemotoksilende inkübasyonu takiben musluk suyunda yıkanmıştır.
- b. Ardından eozinde 12 dakika bekletilen dokular tekrar musluk suyunda yıkandıktan sonra sırasıyla %75, %96 ve %100 artan dereceli etil alkol serisinden geçirilerek dehidrate edilmiştir.
- c. Ksilolde 45 dakika bekletilen doku kesitleri entellan ile kapatılmıştır.

Boyalı doku kesitlerinin histomorfometrik analizleri için uygulanan işlemler sırasıyla aşağıda yer almaktadır [184].

- a. H&E boyalı doku örnekleri bilgisayar destekli ışık mikroskopunda (Leica DM 4000B, Almanya) 100×, 200× ve 400× büyültmelerde incelenmiştir.
- b. Leica LAS V4.12 programı kullanılarak kesitlere ait görüntüler alınmıştır.
- c. İnce bağırsağın duodenum, jejunum ve ileum bölgelerine ait elde edilen bu görüntülerde ImageJ programı (1.54g; National Institutes of Health) (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012) kullanılmıştır.
- d. Bağırsak duvarının mukoza, submukoza tabakalarına ait ve ayrıca muskularis mukozanın iç sirküler ve dış longitudinal kas tabakalarına ait kalınlıklar ve toplam duvar kalınlığı farklı bölgelerden ölçülerek her bir kesit için beş parametreye ait ortalama bir değer hesaplanmıştır (Ekelund, Ekelund, Qader, Hallén, & Ekblad, 2005).
- e. Hesaplanan bu değerler gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

3.2.2. İmmünohistokimyasal yöntem ve immünohistokimyasal bulguların değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyamalar için parafin bloklardan pozitif şarjlı lamlara alınan 5 µm kalınlığında kesitler ile ilgili uygulanan protokol aşağıda yer almaktadır [184].

- a. Kesitler ksilolde deparafinizasyonun ardından %100, %96 ve %75'lik alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilmiş ve distile su içerisine alınmıştır.
- b. Sitrat tamponu (pH 6.0) içerisine alınan doku kesitleri 85°C su banyosunda 2 saat bekletilerek ısı ile antijen dönüştürme işlemi uygulanmıştır.
- c. Ardından doku endojen peroksidaz etkinliğini bloke etmek için kesitler %3 H₂O₂ ile 30 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- d. Fosfat tamponlu salin (Phosphate Buffer Saline; PBS) (pH 7.4) ile 3 kere 5'er dakika yıkamanın ardından hidrofobik kalemle dokuların etrafı çizilmiştir.
- e. Fosfat tamponlu salin ile yıkanan dokular özgün olmayan antikor bağlanmasını önlemek için UltraV block (TA-125-UB, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) solüsyonu ile 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- f. Bloklama aşaması tamamlanınca bloklama solüsyonu uzaklaştırılıp kesitler yıkanmadan, uygun dilüsyonda anti-neurologin-1 (1:100 dilüsyon, Bioss, bs-4212R, Birleşik Devletler) ve anti-neurexin-2 (1:100 dilüsyon, Bioss, bs-11104R, Birleşik Devletler) primer antikorlarıyla +4 °C de gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
- g. Primer antikorlar ile inkübasyonun ardından fosfat tamponlu salin ile 3 kez 5'er dakika yıkanan kesitlere 2 saat biotinli sekonder antikor (TP-125-BN, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) uygulanmıştır.
- h. Fosfat tamponlu salin ile 3 kez 5'er dakika yıkanan kesitler 30 dakika süreyle streptavidin-peroksidaz enzim kompleksine (TS-125-HR, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) bırakılmıştır.
- i. Fosfat tamponlu salin ile tekrar 3 kez 5'er dakika yıkamanın ardından kesitlere diaminobenzedin (DAB) kromojen-substrat kompleksi (TA-125-HDX, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) uygulanarak gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlanmıştır.
- j. Zemin boyası olarak Mayer'in hematoksileni uygulandıktan sonra musluk suyunda yıkanan dokular %75, %96 ve %100 artan dereceli alkollerden geçirilmiştir.
- k. Ksilolde 45 dakika bekletildikten sonra kesitler entellan ile kapatılmıştır.

İmmunohistokimyasal bulguların değerlendirilmesi için uygulanan işlemler şunlardır [184]:

- a. Protokol sonunda hazırlanan boyalı kesitler bilgisayar destekli ışık mikroskopunda (Leica DM 4000B, Almanya) incelenmiş ve Leica LAS V4.12 programı kullanılarak pleksus myentericus'a ait ganglionların 400× büyütme görüntüleri elde edilmiştir.
- b. İnce bağırsağın duodenum, jejunum ve ileum bölgelerinden elde edilen bu büyük büyütme görüntüleri pleksus myentericus'a ganglionlarında neurologin-1 ve neurexin-2 immünoreaktivitesi H-score yöntemiyle belirlenmiştir.
- c. ImageJ programı (1.54g; National Institutes of Health) (Schneider et al., 2012) ile yapılan değerlendirmede, ilgili belirteç için boyanma yoğunluğunun (i),
 - -negatif (boyanma yok) =0,
 - -zayıf pozitiflik=1,
 - -belirgin pozitiflik=2,
 - -güçlü pozitiflik=3 şeklinde ifade edilmiştir.

Boyanma yoğunluk düzeylerinin %0-100 arasında değişen piksel düzeyleri (P_i) ile belirlenmiş ve $H\text{-Score} = \sum P_i (i+1)$ formülasyonu ile hesaplanmıştır [187,188].

- d. Elde edilen ortalama H-score değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmada kullanılan verilerin analizinde Statistical Package for Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, Illinois) programının 26.0 sürümü kullanılmıştır. Çalışma 50'den az örneği içerdiğinden, sürekli değişkenlerin dağılımını incelemek için Shapiro-Wilk Testi kullanılmıştır. Test sonucunda verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. α düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir. Gruplar arası farklılıkları incelemek için Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) kullanılmıştır. Anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hemotoksilen&Eozin Boyalı Kesitlerde Yapılan Morfometrik Ölçümlerin Sonuçları

Gruplara ait H&E boyalı duodenum ve jejunum doku kesitlerinin farklı büyültmelerde alınan görüntülerinde ImageJ programına kullanılarak yapılan ölçümler sonucu elde edilen değerler gruplar arasında karşılaştırıldı. Duodenum ve jejunum örneklerinin görüntülerinden elde edilen tüm duvar kalınlığı, mukoza tabakası kalınlığı, submukoza tabakası kalınlığı, iç sirküler kas tabakası kalınlığı ve dış longitudinal kas tabakası kalınlığına ait ölçümlerin istatistiksel değerlendirme sonuçları çizelge 4.1’de sunuldu.

Çizelge 4.1. Kontrol, otizm ve tVNS gruplarında duodenum ve jejunum dokularının morfometrik değerlendirme sonuçları

	N=24	Kontrol Grubu n=8	Otizm Grubu n=8	tVNS Grubu n=8
Duodenum	Tüm duvar kalınlığı (µm)	436,7 ± 29,4	253,8 ± 20	456,6 ± 53,4
	Mukoza tabakası kalınlığı (µm)	376,2 ± 25,6	190,3 ± 17,6	397,9 ± 57,7
	Submukoza tabakası kalınlığı (µm)	37,2 ± 9,4	12,6 ± 1,4	37,5 ± 4
	İç sirküler kas tabakası kalınlığı (µm)	29,1 ± 4,9	11,8 ± 1,1	19,7 ± 4,9
	Dış longitudinal kas tabakası kalınlığı (µm)	22,3 ± 5	10,2 ± 2	17 ± 1,3
Jejunum	Tüm duvar kalınlığı (µm)	460,2 ± 25,4	252,8 ± 13,8	380,8 ± 58
	Mukoza tabakası kalınlığı (µm)	368,9 ± 22,7	149,9 ± 22,5	307,6 ± 64,4
	Submukoza tabakası kalınlığı (µm)	36,6 ± 3,9	13,8 ± 2,6	30,9 ± 4,2
	İç sirküler kas tabakası kalınlığı (µm)	26,8 ± 1,7	13,5 ± 1,2	23,2 ± 2,4
	Dış longitudinal kas tabakası kalınlığı (µm)	25,2 ± 1	11,4 ± 2,5	21,4 ± 0,7

Veriler “ortalama±standart sapma” şeklinde sunulmuştur.

4.1.1. Duodenum’un morfometrik ölçümleri

Tüm duvar kalınlığı

Kontrol grubunda ortalama 436,7 ± 29,4 µm bulunan duodenum tüm duvar kalınlığı, otizm grubunda 253,8 ± 20 µm olarak ölçülmüş ve bu verilere göre otizm grubunda duodenum tüm duvar kalınlığının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha az olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubuyla yakın bir değere sahip olan tVNS grubunun tüm duvar kalınlığı $456,6 \pm 53,4$ μm olup duvar kalınlığının, otizm grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve resim 4.1).

Mukoza tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $376,2 \pm 25,6$ μm olan mukoza tabakası kalınlığı, otizm grubunda $190,3 \pm 17,6$ μm olup bu kalınlık kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşüktür. Mukoza tabakası kalınlığı tVNS grubunda $397,9 \pm 57,7$ μm olup, mukoza tabakası kalınlığı, otizm grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1 ve resim 4.1).

Submukoza tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $37,2 \pm 9,4$ μm olan submukoza tabakası kalınlığı, otizm grubunda $12,6 \pm 1,4$ μm olup, iki grup karşılaştırmasında otizm grubunun submukoza tabakası kalınlığının istatistiksel olarak daha düşük olduğu görülmüştür. tVNS grubunda submukoza tabakası kalınlığı $37,5 \pm 4$ μm olup, kontrol grubuyla benzer bir olan bu değer, otizm grubuyla karşılaştırıldığında ise anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1 ve resim 4.1).

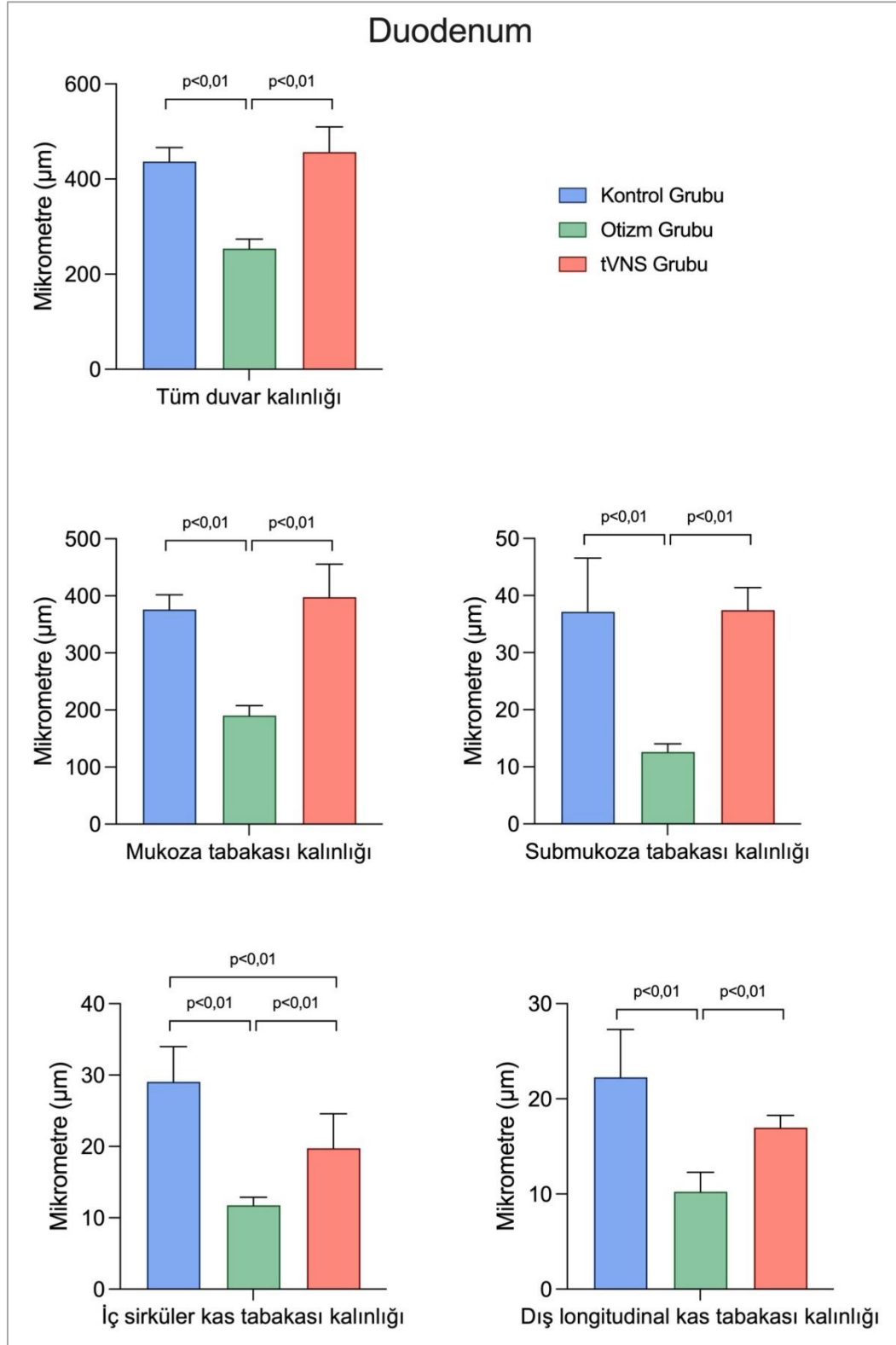
İç sirküler kas tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $29,1 \pm 4,9$ μm olan iç sirküler kas tabakası kalınlığı, otizm grubunda $11,8 \pm 1,1$ μm olup iç sirküler kas tabakası kalınlığının kontrole grubuna göre anlamlı düzeyde az olduğu görüldü. tVNS grubunda ise iç sirküler kas tabakası kalınlığı $19,7 \pm 4,9$ μm olup otizm grubuyla karşılaştırıldığında iç sirküler kas tabakası kalınlığı anlamlı düzeyde yüksek iken, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise anlamlı düzeyde düşük bulundu (Şekil 4.1 ve resim 4.1).

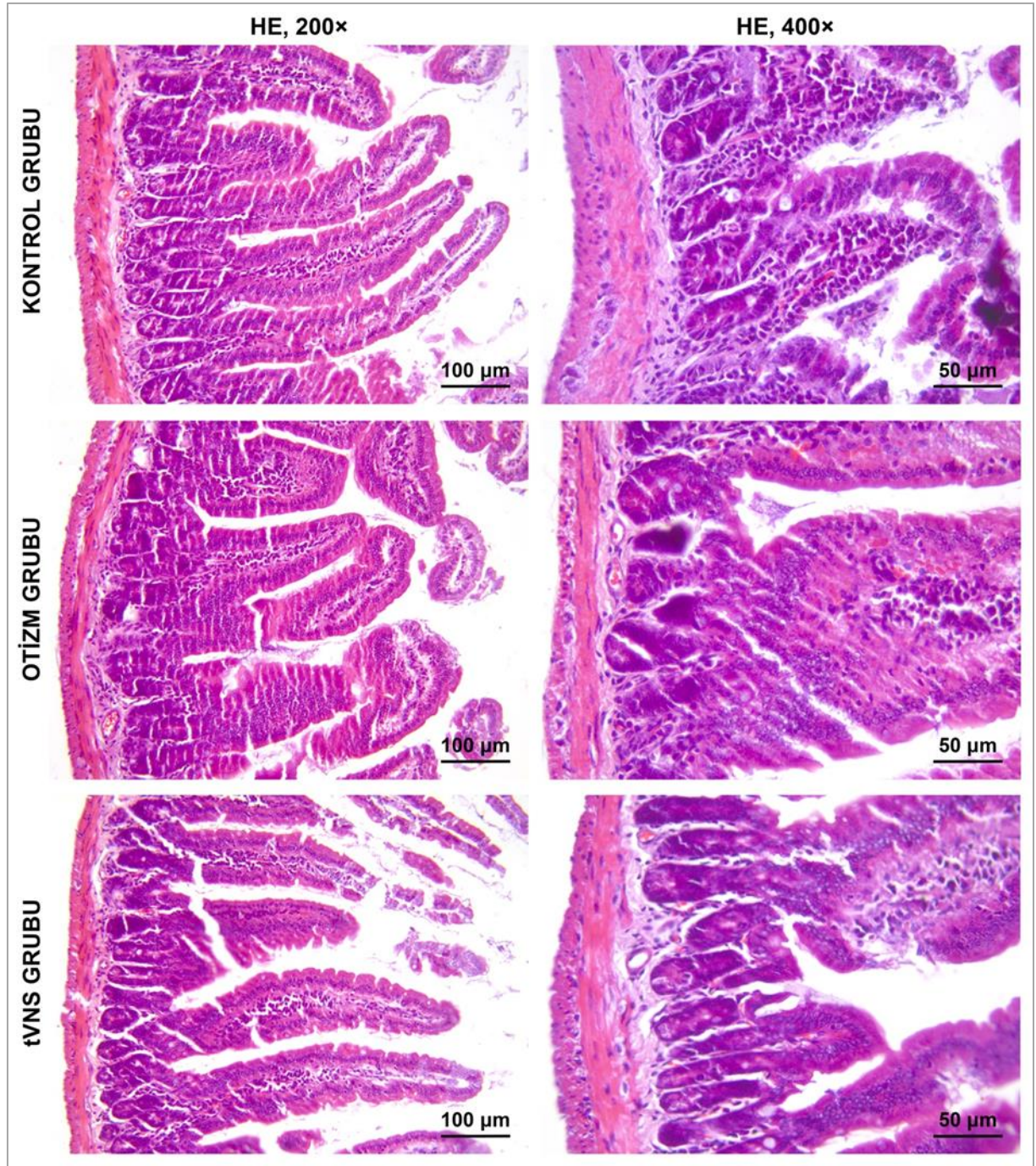
Dış longitudinal kas tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $22,3 \pm 5$ μm olan dış longitudinal kas tabakası kalınlığı, otizm grubunda $10,2 \pm 2$ μm olup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında dış longitudinal kas tabakası kalınlığı anlamlı düzeyde düşük bulundu. tVNS grubunda dış longitudinal kas tabakası kalınlığı $17 \pm$

1,3 μm olup, otizm grubuyla karşılaştırıldığında bu değerin istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve resim 4.1).



Şekil 4.1. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubunda duodenum'un morfometrik değerlendirilmesi



Resim 4.1. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların, H&E boyalı duodenum kesitlerine ait görüntüler

4.1.2. Jejunum'un morfolometrik ölçümleri

Tüm duvar kalınlığı

Kontrol grubunda $460,2 \pm 25,4$ μm olan jejunum tüm duvar kalınlığı, otizm grubunda $252,8 \pm 13,8$ μm olarak ölçülmüş ve iki grup karşılaştırıldığında otizm grubunun jejunum örneklerinde tüm duvar kalınlığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. tVNS grubunda tüm duvar kalınlığı $380,8 \pm 58$ μm olarak ölçülmüş ve bu değer kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük bulunmakla beraber, otizm grubuyla karşılaştırıldığında tüm duvar kalınlığının anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2 ve resim 4.2).

Mukoza tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $368,9 \pm 22,7$ μm olan mukoza tabakası kalınlığı, otizm grubunda $149,9 \pm 22,5$ μm olup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında otizm grubunun mukoza tabakası kalınlığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. tVNS grubunda $307,6 \pm 64,4$ μm olan mukoza tabakası kalınlığının, otizm grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2 ve resim 4.2).

Submukoza tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $36,6 \pm 3,9$ μm olan submukoza tabakası kalınlığı, otizm grubunda $13,8 \pm 2,6$ μm olup, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında otizm grubunun submukoza tabakası kalınlığı belirgin düzeyde düşük bulunmuştur. tVNS grubunda $30,9 \pm 4,2$ μm olan submukoza tabakası kalınlığının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük iken, otizm grubuyla karşılaştırıldığında ise belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.2 ve resim 4.2).

İç sirküler kas tabakası kalınlığı

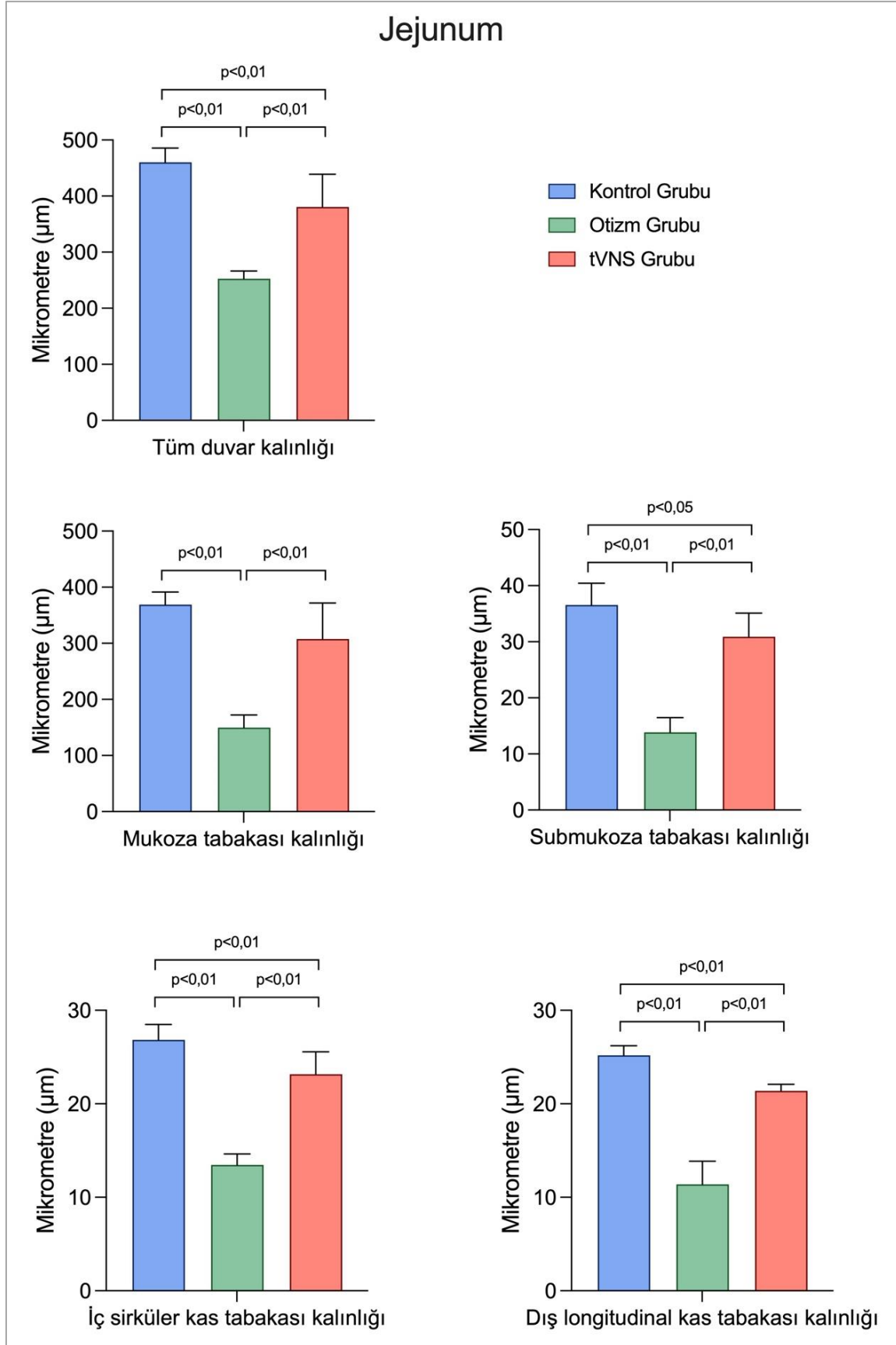
Kontrol grubunda $26,8 \pm 1,7$ μm olan iç sirküler kas tabakası kalınlığı, otizm grubunda $13,5 \pm 1,2$ μm olup, otizm grubunun iç sirküler kas tabakası kalınlığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. tVNS grubunda $23,2 \pm 2,4$ μm olan iç sirküler kas tabakası kalınlığının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin düzeyde

düşük olduğu, otizm grubuyla karşılaştırıldığında ise belirgin olarak yüksek olduğu izlenmiştir (Şekil 4.2 ve resim 4.2).

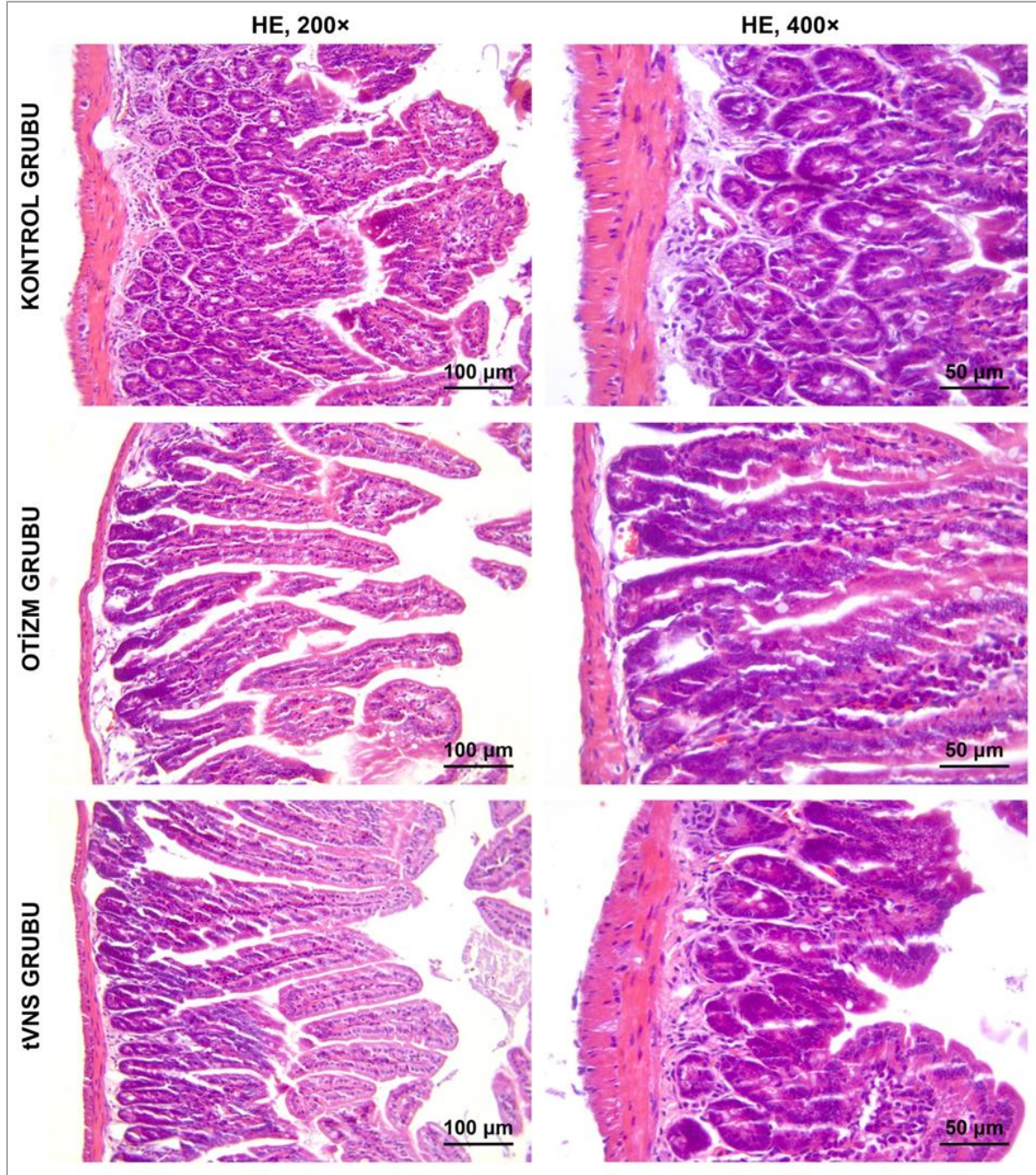
Dış longitudinal kas tabakası kalınlığı

Kontrol grubunda $25,2 \pm 1$ μm olan dış longitudinal kas tabakası kalınlığı, otizm grubunda $11,4 \pm 2,5$ μm olup kontrol grubuna göre belirgin düzeyde düşük olduğu görülmüştür. tVNS grubunda $21,4 \pm 0,7$ μm olan dış longitudinal kas tabakası kalınlığının, kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük iken, otizm grubuyla karşılaştırıldığında ise anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2 ve resim 4.2).





Şekil 4.2. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubunda jejunum'un morfolometrik değerdendirilmesi



Resim 4.2. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların, H&E boyalı jejunum kesitlerine ait görüntüler

4.2. Neuroligin-1 ve Neurexin-2 Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Değerlendirme Sonuçları

Tüm hayvanlardan toplanan duodenum ve jejunum dokularının parafin bloklarından elde edilen kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildi. Her bir belirteç için immünopozitif boyanma yoğunluğunu ifade eden H-skoru değerleri gruplar arasında karşılaştırıldı ve istatistiksel veriler çizelge 4.2’de sunuldu.

Çizelge 4.2. Kontrol, Otizm ve tVNS gruplarında duodenum ve jejunum dokularının Neuroligin-1 ve Neurexin-2 ile boyanmış hücrelerin yüzdesini içeren histokimyasal skorlama (H-skoru) değerlendirmesi

	N=20	Kontrol Grubu n=7	Otizm Grubu n=7	tVNS Grubu n=6
Duodenum	Neuroligin-1 (H-skoru)	243,7 ± 24,7	108,2 ± 2,1	193,3 ± 3,3
	Neurexin-2 (H-skoru)	197,9 ± 6,6	107,8 ± 1,3	190,1 ± 2,8
Jejunum	Neuroligin-1 (H-skoru)	203,1 ± 19,8	107,1 ± 2,1	190,4 ± 9,7
	Neurexin-2 (H-skoru)	210,2 ± 38,9	106,5 ± 2,6	189,8 ± 8,5

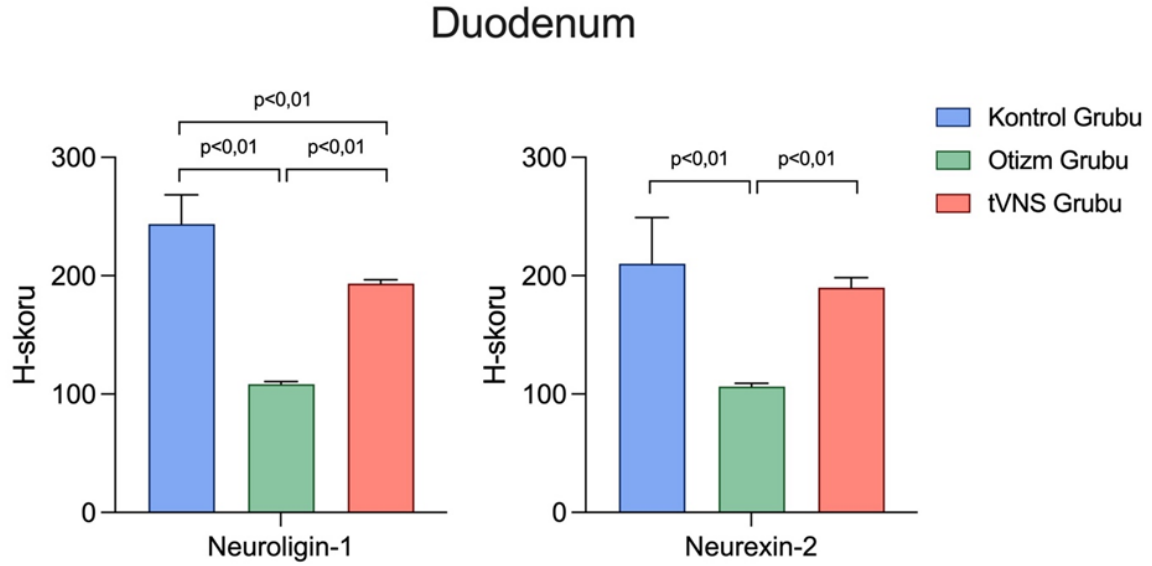
Veriler “ortalama±standart sapma” şeklinde sunulmuştur.

4.2.1. Duodenum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünopozitif boyanma yoğunluğunun değerlendirmesi

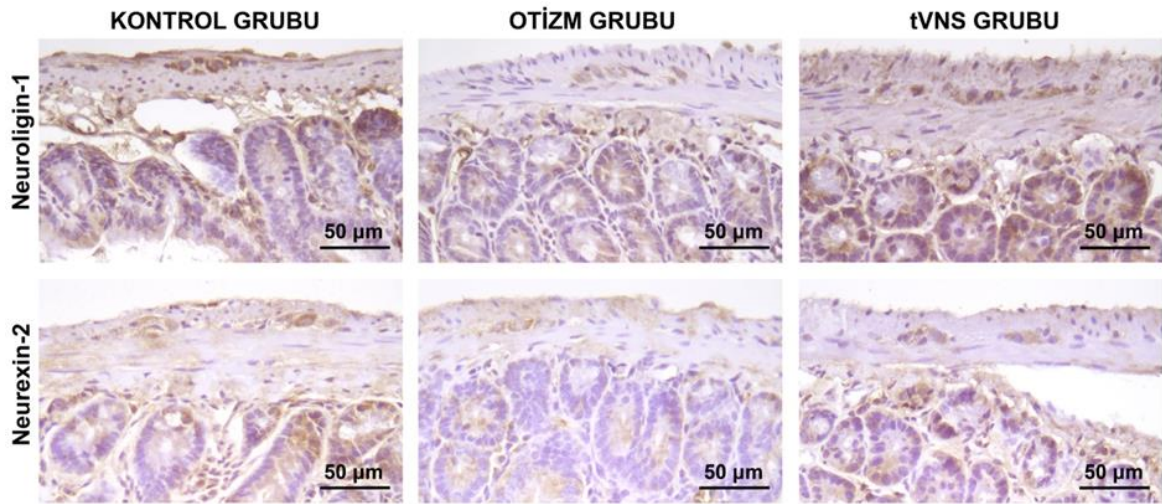
Neuroligin-1 ekspresyonunu değerlendirmek üzere elde edilen H-skoru değeri otizm grubunda $108,2 \pm 2,1$ olup, kontrol grubunun H-skoru ($243,7 \pm 24,7$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. tVNS grubunun H-skoru değerinin ($193,3 \pm 3,3$) ise kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu bulunmuşken, otizm grubuyla karşılaştırıldığında ise anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.3 ve resim 4.3).

Duodenum kesitlerine ait görüntülerin analiziyle, neurexin-2 ekspresyonunu değerlendirmek üzere elde edilen H-skoru değeri, otizm grubunda $107,8 \pm 1,3$ olup, kontrol grubunun H-skoru ($197,9 \pm 6,6$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu

görülmüştür. tVNS grubunun H-skoru ($190,1 \pm 2,8$) değeri ise otizm grubuyla karşılaştırıldığında belirgin düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.3 ve resim 4.3).



Şekil 4.3. Kontrol, otizm ve tVNS gruplarında duodenum dokusunun Neuroligin-1 ve Neurexin-2 ile boyanmış hücrelerin yüzdesini içeren histokimyasal skorlamanın (H-skoru) şematik analizi

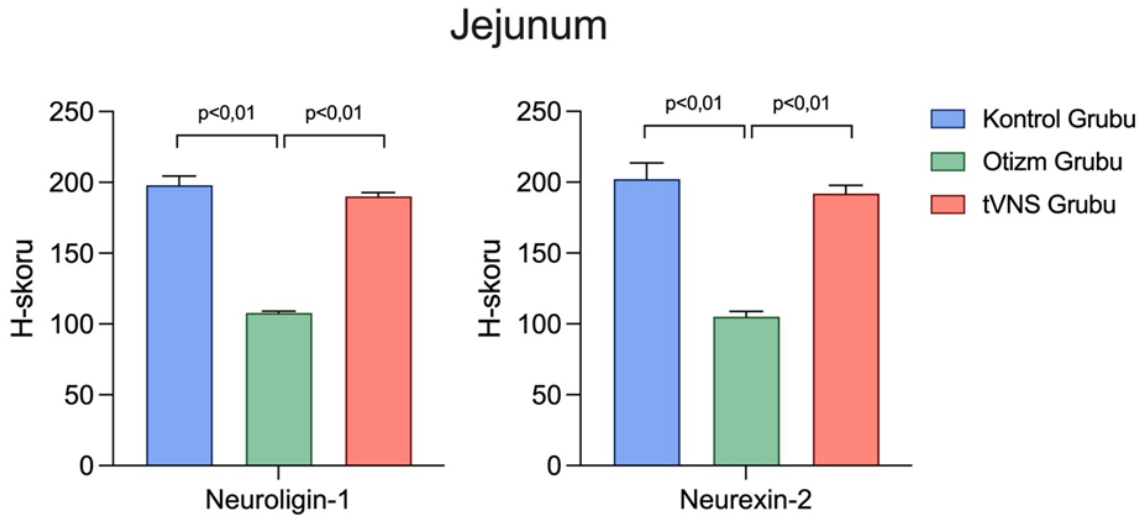


Resim 4.3. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların duodenum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünoreaktivitesini gösteren mikrograflar

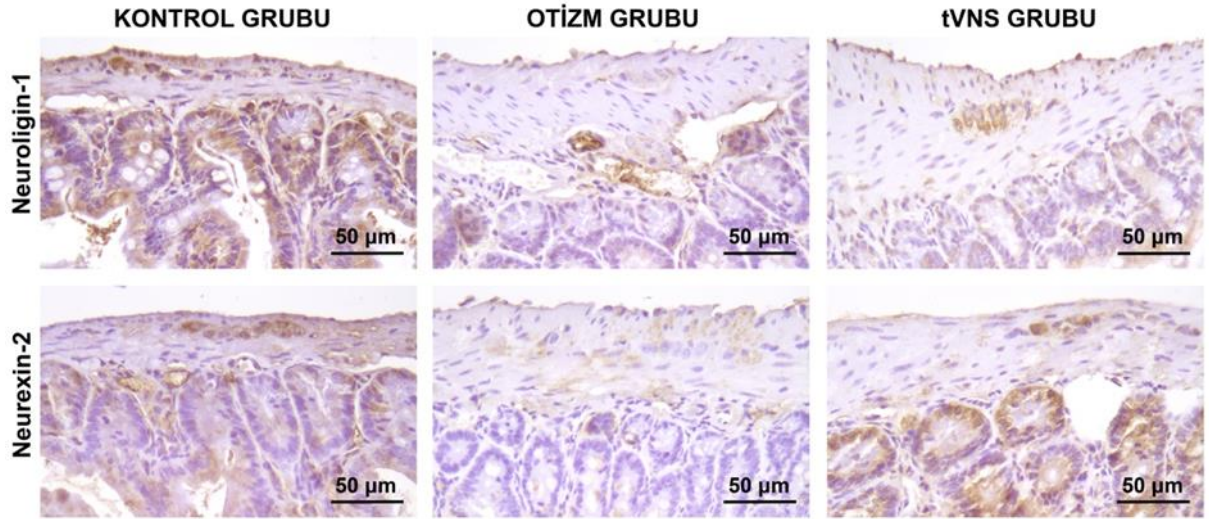
4.2.2. Jejunum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünopozitif boyanma yoğunluğunun değerlendirilmesi

Jejunum doku kesitlerinde neuroligin-1 ekspresyonunu değerlendirmek üzere yapılan analizlerde elde edilen H-skoru değeri kontrol grubunda $203,1 \pm 19,8$ iken, otizm grubunda bu değer $107,1 \pm 2,1$ olarak hesaplanmıştır. İki grup karşılaştırıldığında, otizm grubunu H-skor değerinin kontrol grubuna göre belirgin düzeyde düşük olduğu görülmüştür. tVNS grubunun H-skor değeri ($190,4 \pm 9,7$) ise otizm grubununkiyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4 ve resim 4.4).

Jejunum doku kesitlerinde neurexin-2 ekspresyonunu değerlendirmek üzere yapılan analizlerde, otizm grubunun H-skor değeri $106,5 \pm 2,6$ olarak hesaplanmıştır. Bu değer kontrol grubunun H-skor değeri ($210,2 \pm 38,9$) ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük bulunmuştur. tVNS grubunun H-skor değerinin ($189,8 \pm 8,5$) ise otizm grubununkiyle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4 ve resim 4.4).



Şekil 4.4. Kontrol, otizm ve tVNS gruplarında duodenum dokusunun Neuroligin-1 ve Neurexin-2 ile boyanmış hücrelerin yüzdesini içeren histokimyasal skorlamanın (H-skoru) şematik analizi



Resim 4.4. Kontrol grubu, otizm grubu ve tVNS grubundan hayvanların, jejunum kesitlerinde neuroligin-1 ve neurexin-2 immünoaktivitesini gösteren mikrograflar

5. TARTIŞMA

Otizm spektrum bozukluğu ile ilgili deneysel çalışmalarda genellikle enterik nöron sayılarında, caecum'un boyutunda ve mikrobiyomda değişiklikler nedeniyle bağırsak disfonksiyonu gözlenmektedir [66, 67, 134, 189]. Hosie S. ve arkadaşları (2024), beynin nöral devresini etkileyen mutasyonlara sahip farelerin ince bağırsak boyunda ve iç sirküler kas tonusunda azalma olduğunu saptamışlardır [66]. Varley A.N. ve Browning K.N. (2024) valproik asit uyguladıkları rat yavrularında corpus gastricus, jejunum, ileum, colon ascendens ve colon descendens'te kas tabakası kalınlığı ve mukoza kalınlığının azaldığını bildirmişlerdir [85]. Mukoza kalınlığında meydana gelen azalmanın, bağırsak bariyer geçirgenliğinin değişmesine neden olarak gastrointestinal hareketliliği ve bağırsak geçişini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir [85]. Bağırsak geçişindeki değişikliklerin, gastrointestinal sistemin hem ekstrinsik (sempatik ve parasempatik) hem de intrinsik innervasyonunun modülasyonundan, bağırsak düz kas tonusundaki değişikliklerden, Cajal'ın interstisyel hücrelerindeki morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerden ve nöromusküler iletimden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir [66]. Ayrıca mideden besinin boşalması ve/veya genel gastrointestinal kanaldan besinin geçişinde meydana gelen gecikme ile bağırsak kas kalınlığında ortaya çıkan incelmanın kas kasılması ve kasılma kuvvetini etkilediği sonucuna varılmıştır [85]. Kim J.W. ve arkadaşları (2013), in utero dönemde valproik asit maruziyeti ile ilgili yaptıkları çalışmada mide ve ileum'da mukoza tabakası ve kas tabakasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdiğini ancak duodenum, jejunum ve kolon gibi diğer bölgeler anlamlı bir farklılık göstermediğini bildirmişlerdir [190]. Bu çalışmada da otizm spektrum bozukluğu olan farelerin duodenum ve jejunum morfometrik ölçümlerinde tüm duvar, mukoza tabakası, submukoza tabakası, iç sirküler ve dış longitudinal kas kalınlıklarının azaldığı belirlenmiştir. Çalışmamızın bulguları, Kim J.W. ve arkadaşlarının (2013) bulgularıyla uyum göstermemiştir. Ancak Varley & Browning (2024) ve Hosie S. ve arkadaşlarının (2024) bulgularıyla uyum göstermektedir. Çalışmamızda duodenum ve jejunum morfometrik incelemelerinde; otizm grubunda duvar kalınlığında azalma bağırsak bariyer bütünlüğünde zayıflama ve bağırsak işlevlerinin olumsuz etkilenebileceğini göstermiştir. Aynı grupta; mukoza kalınlığı bağırsak emilimi ve koruma işlevini yöneten mukoza kalınlığının azalması bağırsak geçirgenliğinin artmasına ve olası inflamasyonlara yol açabileceği savını düşündürmüştür. Otizm grubundaki submukoza kalınlığındaki azalma bağ dokusu desteği ve damar yapılarının bozulması nedeniyle bağırsak içindeki mikro dolaşımın da bozulabileceğini ön görmemize yol açmıştır. Otizm grubundaki

iç sirküler ve dış longitudinal kas tabakalarındaki inceltme bağırsak hareketlerinin yavaşlaması ve peristaltik hareketlerin yavaşlaması sonucunu öne çıkarmıştır.

Otizm spektrum bozukluğunun patogeneğinde gastrointestinal disfonksiyonun yanında sinaptik işlev bozukluğu da (sinaptopati) gözlenebilmektedir [191]. Sinaptik işlev bozukluğu, sinaptik bileşenlerin yapısını ve işlevini değiştiren mutasyonlar veya sinaptik bir proteinin anormal ekspresyon seviyeleri nedeniyle ortaya çıkmaktadır [191]. Bağırsakta neuroligin-1, neuroligin-3 ve neurexin-2'nin rolü hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır [192]. Neuroligin- neurexin etkileşiminin uzun zamandır otizm spektrum bozukluğu patolojisinin altında yatan önemli bir bileşen olduğu varsayılmaktadır, ancak her iki bağlanma proteininde de mutasyon olan bir vakayı ilk kez Krumm N. ve arkadaşları (2015) tanımlamıştır [193]. Neurexin-3'ün iki eksonlu intragenik delesyonunu ve neuroligin-2'nin de novo kayıp mutasyonunu belirlemişlerdir [193]. Ayrıca otizm spektrum bozukluğu olan hastalarda neuroligin -1'in işlevini kaybetmiş varyantlarının bulunduğu bildirilmiştir [192]. Neurexinlerin ve ortak bağlanma partnerleri olan neuroliginlerin varyantları otizm spektrum bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir [191]. Gerik-Celebi H.B. ve arkadaşları (2023), neurexin-2'nin gen varyantını aynı tanıya sahip iki akraba olmayan vakada düşük allellik frekansla tespit ettiklerini ve bu durumu otizm spektrum bozukluğu ile ilişkilendirdiklerini bildirmişlerdir [91].

Çalışmamızda; duodenum'da otizm grubunda neuroligin-1 ekspresyonunun immunopozitivite yoğunluklarının H-skoru düşük olduğu saptanmıştır. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyonundan sonra duodenum'da neuroligin-1 ekspresyonunun immunopozitivite yoğunluklarının H-skorunda belirgin bir artış görülmüştür. Duodenum'da neurexin-2 ekspresyonunun immunopozitivite yoğunluklarının H-skoru değerlendirildiğinde otizm grubunda belirgin bir azalma izlenirken trans-aurikular nervus vagus stimülasyonundan sonra H-skorunda anlamlı bir şekilde artış olduğu görülmüştür. Aynı şekilde jejunumda yapılan neuroligin-1 ekspresyonunun immunopozitivite yoğunluklarının H-skoru değeri, otizm grubunda belirgin olarak azalmışken, tVNS uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Ayrıca jejunum'da neurexin-2 ekspresyonunun immunopozitivite yoğunluklarının H-skoru hesaplandığında otizm grubunda düşük olduğu, tVNS grubunda ise yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmamızın bulguları Zheng Y. ve arkadaşlarının (2020) bulgularıyla uyum göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda otizmlili farelerin duodenum ve jejunum'daki enterik sinir

sisteminde yer alan neuroligin-1 ve neurexin-2 ekspresyonlarındaki azalma, sinaptik organizasyondaki bozulmanın trans-aurikular nervus vagus stimölasyon uygulamasıyla düzelebileceğini göstermiştir.

Otizm spektrum bozukluğunda tedavi yöntemleri semptomatik olsa da bazen ilaca karşı gelişen direnç nedeniyle bu semptomlar için non-invaziv yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemlerden biri de nervus vagus stimölasyonu'dur [179, 194]. Çok çeşitli olan nervus vagus stimölasyonlarından biri de trans-aurikular nervus vagus stimölasyonudur [195]. Yapılan bir çalışma, nervus vagus'un bağırsak hareketliliğini artırmada ve sepsis modellerinde enflamatuvar yanıtı azaltmada önemli bir rol oynadığını; bu nedenle, tVNS uygulamasının hem insanlarda hem de atlarda abdominal cerrahi sonrası bağırsak hareketliliğini ve immün yanıtı modüle etmek için kullanıldığı bildirilmiştir [196]. Nervus vagus stimölasyonu, bağırsak glial fibriler asidik protein ekspresyonunu artırarak bağırsak geçirgenliğini ve bağırsak histolojik hasarını azaltmaktadır [109]. Nervus vagus stimölasyonunun bağırsak bariyerinin bozulmasını ve ardından gelen bağırsak iltihabını önleyebildiği saptanmıştır [109] Bu çalışmada da otizm grubunda duodenum ve jejunum'un duvarındaki histolojik tabakalarda ve morfometrik ölçümlerde bozulmalar-incelmeler olduğu görülmüştür. Ayrıca enterik sinir sisteminin sinaps yapılaşmasında da bozulmalar ve hasarlar olduğu saptanmıştır. Bu değişiklikler Constantini T.W. ve arkadaşları (2010) ve Vitale V. ve arkadaşlarının (2024) bulgularıyla uyum göstermiştir. Trans-aurikular nervus vagus stimölasyon uygulanan gruplarda ise tüm dokularda ve sinaps oluşumunda belirgin bir artış ve iyileşme olduğu incelenmiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda; deneysel olarak oluşturulan otizmli farelere trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu yapılarak enterik sinir sistemindeki sinaps gelişimi ve duodenum ile jejunum'da oluşan morfometrik değişiklikler incelenmiştir. Morfometrik değişiklikler; kontrol, otizmli ve trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulanan farelerin duodenum ve jejunum dokularında tüm duvar, mukoza, submukoza kalınlığı ve iç sirküler-dış longitudinal kas kalınlıkları ölçülerek değerlendirilmiştir. İmmunohistokimyasal çalışma ile de neuroligin-1 ve neurexin-2 ekspresyonlarının immunopozitif yoğunluklarının H-skoru belirlenerek enterik sinir sistemindeki sinaptik değişiklikler ve yapılar incelenmiştir. Gruplar birbiriyle karşılaştırılarak yorum yapılmıştır.

Sonuç olarak; morfometrik ölçümlerde duodenum'un tüm duvar kalınlığı, otizm grubunda kontrol grubuna göre yaklaşık %40 oranında azalmış iken trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanmış grupta duvar kalınlığı kontrol grubuna yakın bir artış göstererek kalınlık artışının olduğu ölçülmüştür. Duodenum'un mukoza kalınlığı incelendiğinde otizm grubunun mukoza kalınlığı azalmış ancak trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanan grupta mukoza kalınlığının anlamlı bir şekilde arttığı izlenmiştir. Submukoza kalınlığı incelendiğinde ise yine aynı şekilde otizm grubunda kontrol grubuna göre azalma, trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanan grupta ise artış görülmüştür. İç sirküler ve dış longitudinal kas kalınlığı otizm grubunun kontrol grubuna göre yarı yarıya azaldığı ancak trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanan grupta kas kalınlıklarında belirgin bir artışın olduğu dikkat çekmiştir.

Jejunum'un morfometrik ölçümleri değerlendirildiğinde; otizm grubunun kontrol grubuna göre tüm duvar kalınlığının yaklaşık %45 oranında azaldığı, trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanan grupta duvar kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Mukoza kalınlığı otizm grubunda kontrol grubuna göre yaklaşık %50 azalma gösterirken trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulanan grupta mukoza kalınlığının belirgin olarak arttığı ölçülmüştür. Submukoza kalınlığı otizm grubunda kontrol grubuna göre ince olarak saptanırken trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulaması yapılmış hayvanlarda submukoza kalınlığında artış olduğu ilgiyi çekmiştir. Jejunum'un iç sirküler ve dış longitudinal kas kalınlığı otizm grubunda kontrol grubuna göre incelmış ölçülmüşken

trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulanan grupta kas kalınlıklarının artış gösterdiği belirlenmiştir.

İmmunohistokimyasal çalışmada; duodenum'daki neuroligin-1 ekspresyonunun immunopozitivitesinin H-skoru otizm grubunda kontrol grubuna göre düşük, trans-aurikular nervus vagus stimülasyonundan sonra H-skorunun yüksek olduğu izlenmiştir. Aynı grupta neurexin-2 ekspresyonunun H-skoru değerlendirilmesinde otizm grubunda kontrol grubuna göre düşük, trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulandıktan sonra H-skorunun istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Jejunum ile ilgili H-skorlama analizinde ise; neuroligin-1 ekspresyonu otizm grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük, trans-aurikular nervus vagus stimülasyonu uygulandıktan sonra H-skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu dikkatimizi çekmiştir. Neurexin-2 ekspresyonunun immunopozitivitesinin H-skoru jejunum'da değerlendirilirken; otizm grubunun düşük, trans-aurikular nervus vagus stimülasyon grubunun ise H-skorunun yüksek olduğu hesaplanmıştır.

Elde edilen sonuçlar, trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulamasının otizmlili farelerde duodenum ve jejunum'un histolojik tabakalarında iyileşmeler olduğunu göstermiştir. Uygulanan trans-aurikular nervus vagus stimülasyonun enterik sinir sisteminde sinaps gelişimini artırdığı görülmüştür. Bunun da bağırsak-beyin eksenini üzerinde olumlu bir etkisi olduğu düşünülmüştür. Trans-aurikular nervus vagus stimülasyon uygulamasının otizmlili bireylerde semptomatik tedavi için etkili bir alternatif olabileceği non-invaziv bir uygulama olmasından dolayı da bireylerin yaşam kalitesini artırabileceği öngörülmüştür. Ancak bu uygulamanın klinikte sürekliliğinin sağlanabilmesi için daha geniş perspektifli çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Hung, L. Y. and Margolis, K. G. (2024). Autism spectrum disorders and the gastrointestinal tract: Insights into mechanisms and clinical relevance. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 21(3), 142-163.
2. Wang, X., Tang, R., Wei, Z., Zhan, Y., Lu, J. and Li, Z. (2023). The enteric nervous system deficits in autism spectrum disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 24, 1101071.
3. Gozil, R., Barc, E. D. ve Bahcelioglu, M. (2024). Otizm Spektrum Bozukluğunun Enterik Sinir Sistemi ile İlişkisi. *YIU Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 31-41.
4. Majd, H., Richter, M. N., Samuel, R. M., Kalantari, A., Ramirez, J. T. and Fattahi, F. (2024). Differentiation of enteric nervous system lineages from human pluripotent stem cells. *Journal of Visualized Experiments*, 17(207).
5. Breit, S., Kupferberg, A., Rogler, G. and Hasler, G. (2018). Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 9, 44.
6. Bonaz, B. (2024). Enteric neuropathy and the vagus nerve: Therapeutic implications. *Neurogastroenterology & Motility*. <https://doi.org/10.1111/nmo.14842>
7. Sahn, B., Pascuma, K., Kohn, N., Tracey, K. J. and Markowitz, J. F. (2023). Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation attenuates inflammatory bowel disease in children: A proof-of-concept clinical trial. *Bioelectronic Medicine*, 9(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s42234-023-00124-3>
8. Steidel, K., Krause, K., Menzler, K., Strzelczyk, A., Immisch, I., Fuest, S., Gorny, I., Mross, P., Hakel, L., Schmidt, L., Timmermann, L., Rosenow, F., Bauer, S. and Knake, S. (2021). Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation influences gastric motility: A randomized, double-blind trial in healthy individuals. *Brain Stimulation*, 14(5), 1126-1132. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.06.006>
9. Rong, P., Liu, J., Wang, L., Liu, R., Fang, J., Zhao, J., Zhao, Y., Wang, H., Vangel, M., Sun, S., Ben, H., Park, J., Li, S., Meng, H., Zhu, B. and Kong, J. (2016). Effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on major depressive disorder: A nonrandomized controlled pilot study. *Journal of Affective Disorders*, 195, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.02.031>
10. Berthoud, H. R. and Neuhuber, W. L. (2000). Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Autonomic Neuroscience*, 85(1-3), 1-17. [https://doi.org/10.1016/S1566-0702\(00\)00215-0](https://doi.org/10.1016/S1566-0702(00)00215-0)

11. Wu, H., Zhang, Y., Yu, J. and Shi, M. (2023). Editorial: Gut-liver-brain axis: A complex network influences human health and diseases. *Frontiers in Neuroscience*, 17, 1241069. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1241069>
12. İnternet: Kenny, B. J. and Bordoni, B. (November, 2022). Neuroanatomy, cranial nerve 10 (vagus nerve). Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537171/> adresinden 10 Ağustos 2023'te alınmıştır.
13. Butt, M. F., Albusoda, A., Farmer, A. D. and Aziz, Q. (2020). The anatomical basis for transcutaneous auricular vagus nerve stimulation. *Journal of Anatomy*, 236(4), 588-611. <https://doi.org/10.1111/joa.13122>
14. İnternet: Allen, E., Minutello, K. and Murcek, B. W. (July, 2023). Anatomy, head and neck, larynx recurrent laryngeal nerve. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470179/> adresinden 30 Temmuz 2023'te alınmıştır.
15. Babu, R. D. and Paul, D. (2022). Laryngeal nerves and voice change in thyroid surgery. *The Indian Journal of Surgical Oncology*, 13(1), 99-108. <https://doi.org/10.1007/s13193-021-01318-4>
16. İnternet: Baquiran, M. and Bordoni, B. (August, 2023). Anatomy, head and neck: Anterior vagus nerve. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK31613476/> adresinden 13 Ekim 2023'te alınmıştır.
17. Dicks, L. M. T. (2023). Our mental health is determined by an intrinsic interplay between the central nervous system, enteric nerves, and gut microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 38. <https://doi.org/10.3390/ijms25010038>
18. İnternet: Soriano, R. M., Winters, R., Fakoya, A. O. and Gupta, V. (April, 2024). Anatomy, head and neck: Laryngeal nerves. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557742/> adresinden 9 Mayıs 2024'te alınmıştır.
19. Zandstra, T. E., Notenboom, R. G. E., Wink, J., Kiès, P., Vliegen, H. W., Egorova, A. D., Schali, M. J., De Ruiter, M. C. and Jongbloed, M. R. M. (2021). Asymmetry and heterogeneity: Part and parcel in cardiac autonomic innervation and function. *Frontiers in Physiology*, 12, 665298. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.665298>
20. Câmara, R. and Griessenauer, C. J. (2015). Chapter 27—Anatomy of the vagus nerve. In Tubbs, R. S., Rizk, E., Shoja, M. M., Loukas, M., Barbaro, N. and Spinner, R. (Eds.), *Nerves and nerve injuries* (pp. 385–397). Academic Press.
21. İnternet: Sharabi, A. F. and Carey, F. J. (March, 2024). Anatomy, abdomen and pelvis, splanchnic nerves. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560504/> adresinden 10 Eylül 2024'te alınmıştır.

22. İnternet: Bhatia, A., Shatanof, R. A. and Bordoni, B. (May, 2023). Embryology, gastrointestinal. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537172/> adresinden 12 Eylül 2024'te alınmıştır.
23. Williams, M. L. and Bhatia, S. K. (2014). Engineering the extracellular matrix for clinical applications: Endoderm, mesoderm, and ectoderm. *Biotechnology Journal*, 9(3), 337-347.
24. Hao, M. M., Foong, J. P., Bornstein, J. C., Li, Z. L., Vanden Berghe, P. and Boesmans, W. (2016). Enteric nervous system assembly: Functional integration within the developing gut. *Developmental Biology*, 417(2), 168-181. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.05.030>
25. Sadler, T. W. (1988). *Langman's medical embryology. Plastic and Reconstructive Surgery*, 81(1), 131.
26. Yu, Q., Liu, L., Du, M., Müller, D., Gu, Y., Gao, Z., Xin, X., Gu, Y., He, M., Marquardt, T. and Wang, L. (2024). Sacral neural crest-independent origin of the enteric nervous system in mouse. *Gastroenterology*, 166(6), 1085-1099. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2024.02.034>
27. Tamiolakis, D., Venizelos, J., Lambropoulou, M., Nikolaidou, S., Bolioti, S., Tsiapali, M., Verettas, D., Tsikouras, P., Chatzimichail, A. and Papadopoulos, N. (2005). Human embryonal epithelial cells of the developing small intestinal crypts can express the Hodgkin-cell associated antigen Ki-1 (CD30) in spontaneous abortions during the first trimester of gestation. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 2, 1. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-2-1>
28. Esrefoglu, M. and Cetin, A. (2017). Development of small and large intestine. *Bezmialem Science*, 5, 36-40.
29. Sandborn, W. J., Nguyen, D. D., Beattie, D. T., Brassil, P., Krey, W., Woo, J., Situ, E., Sana, R., Sandvik, E., Pulido-Rios, M. T., Bhandari, R., Leighton, J. A., Ganeshappa, R., Boyle, D. L., Abhyankar, B., Kleinschek, M. A., Graham, R. A. and Panes, J. (2020). Development of gut-selective pan-Janus kinase inhibitor TD-1473 for ulcerative colitis: A translational medicine programme. *Journal of Crohn's and Colitis*, 14(9), 1202-1213. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjaa049>
30. Dudas, B. (2023). Chapter 6 - Digestive system II: Lower alimentary tract. In *Human Histology* (pp. 118-174). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91891-6.50006-4>
31. Gray's Anatomy (2005). Gray's anatomy, 39th edition: The anatomical basis of clinical practice. *American Journal of Neuroradiology*, 26(10), 2703–2704.
32. Parson, S. H. (2009). Clinically oriented anatomy (6th ed.). *Journal of Anatomy*, 215(4), 474. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2009.01136.x>

33. İnternet: Lopez, P. P., Gogna, S. and Khorasani-Zadeh, A. (July, 2023). Anatomy, abdomen and pelvis: Duodenum. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482390/> adresinden 17 Kasım 2024'te alınmıştır.
34. Mather Cordiner, G. R. and Calthrop, G. T. (2005). The radiography of the duodenal cap. *British Journal of Surgery*, 92(3), 700-715.
35. Merrett, N. D., Wilson, R. B., Cosman, P. and Biankin, A. V. (2009). Superior mesenteric artery syndrome: Diagnosis and treatment strategies. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 13(2), 287-292. <https://doi.org/10.1007/s11605-008-0695-4>
36. Kim, S. K., Cho, C. D. and Wojtowycz, A. R. (2008). The ligament of Treitz (the suspensory ligament of the duodenum): Anatomic and radiographic correlation. *Abdominal Imaging*, 33(4), 395-397. <https://doi.org/10.1007/s00261-007-9284-3>
37. İnternet: Collins, J. T., Nguyen, A. and Badireddy, M. (April, 2024). Anatomy, abdomen and pelvis, small intestine. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459366/> adresinden 31 Ağustos 2024'te alınmıştır.
38. Browning, K. N. and Travagli, R. A. (2014). Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. *Comprehensive Physiology*, 4(4), 1339-1368. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130055>
39. Furness, J. B., Callaghan, B. P., Rivera, L. R. and Cho, H. J. (2014). The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: Integrated local and central control. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 817, 39-71. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_3
40. Sharkey, K. A. and Mawe, G. M. (2023). The enteric nervous system. *Physiological Reviews*, 103(2), 1487-1564. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2022>
41. Lake, J. I. and Heuckeroth, R. O. (2013). Enteric nervous system development: Migration, differentiation, and disease. *The American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 305(1), G1-G24. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00452.2012>
42. Nagy, N. and Goldstein, A. M. (2017). Enteric nervous system development: A crest cell's journey from neural tube to colon. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 66, 94-106. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.01.006>
43. Pellegrini, C., Fornai, M., D'Antongiovanni, V., Antonioli, L., Bernardini, N. and Derkinderen, P. (2023). The intestinal barrier in disorders of the central nervous system. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 8(1), 66-80. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(22\)00241-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(22)00241-2)

44. Jiang, Y., Liu, M. T. and Gershon, M. D. (2003). Netrins and DCC in the guidance of migrating neural crest-derived cells in the developing bowel and pancreas. *Developmental Biology*, 258(2), 364-384. [https://doi.org/10.1016/s0012-1606\(03\)00136-2](https://doi.org/10.1016/s0012-1606(03)00136-2)
45. Joly, A., Leulier, F. and De Vadder, F. (2021). Microbial modulation of the development and physiology of the enteric nervous system. *Trends in Microbiology*, 29(8), 686-699. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.11.007>
46. Furness, J. B. (2008). The enteric nervous system: Normal functions and enteric neuropathies. *Neurogastroenterology and Motility*, 20(Suppl 1), 32-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2008.01094.x>
47. Fatu, A. M., C. D., Magda-Ecaterina, A., Cristina, I., Ancuta, C. and Bogdan Vâscu, M. (2023). Neuronal and synaptic organization of enteric nervous system-The premises of the multidisciplinary therapeutic approach. *Romanian Journal of Oral Rehabilitation*, 15, 544-558.
48. Furness, J. B. and Stebbing, M. J. (2018). The first brain: Species comparisons and evolutionary implications for the enteric and central nervous systems. *Neurogastroenterology & Motility*, 30(2). <https://doi.org/10.1111/nmo.13234>
49. Hao, M. M. and Young, H. M. (2009). Development of enteric neuron diversity. *The Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(7), 1193-1210. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00813.x>
50. Valès, S., Touvron, M. and Van Landeghem, L. (2018). Enteric glia: Diversity or plasticity? *Brain Research*, 1693(Pt B), 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.02.001>
51. Sharna, S. S., Balasuriya, G. K., Hosie, S., Nithianantharajah, J., Franks, A. E. and Hill-Yardin, E. L. (2020). Altered caecal neuroimmune interactions in the Neuroligin-3R451C mouse model of autism. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 85. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00085>
52. Fu, M., Tam, P. K., Sham, M. H. and Lui, V. C. (2004). Embryonic development of the ganglion plexuses and the concentric layer structure of human gut: A topographical study. *Journal of Anatomy and Embryology (Berl)*, 208(1), 33-41. <https://doi.org/10.1007/s00429-003-0371-0>
53. İnternet: Shahrestani, J. and Das, J. M. (May, 2023). Neuroanatomy, Auerbach plexus. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551559/> adresinden 1 Ocak 2024'te alınmıştır.
54. Fleming, M. A., Ehsan, L., Moore, S. R. and Levin, D. E. (2020). The enteric nervous system and its emerging role as a therapeutic target. *Gastroenterology Research and Practice*, 2020, 8024171. <https://doi.org/10.1155/2020/8024171>

55. Spencer, N. J. and Hu, H. (2020). Enteric nervous system: Sensory transduction, neural circuits and gastrointestinal motility. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 17(6), 338-351. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0271-2>
56. Vergnolle, N. and Cirillo, C. (2018). Neurons and glia in the enteric nervous system and epithelial barrier function. *Physiology (Bethesda)*, 33(4), 269-280. <https://doi.org/10.1152/physiol.00009.2018>
57. Alim, E. (2020). *Ratlarda Perinatal Stresin Enterik Sinir Sistemi Üzerine Olan Etkilerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-29.
58. Timmermans, J. P., Adriaensen, D., Cornelissen, W. and Scheuermann, D. W. (1997). Structural organization and neuropeptide distribution in the mammalian enteric nervous system, with special attention to those components involved in mucosal reflexes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 118(2), 331-340. [https://doi.org/10.1016/s0300-9629\(96\)00314-3](https://doi.org/10.1016/s0300-9629(96)00314-3)
59. Keast, J. R., Furness, J. B. and Costa, M. (1985). Different substance P receptors are found on mucosal epithelial cells and submucous neurons of the guinea-pig small intestine. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 329(4), 382-387. <https://doi.org/10.1007/BF00496372>.
60. Gombash, S. E., Cowley, C. J., Fitzgerald, J. A., Hall, J. C., Mueller, C., Christofi, F. L. and Foust, K. D. (2014). Intravenous AAV9 efficiently transduces myenteric neurons in neonate and juvenile mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 7, 81. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2014.00081>
61. Kunze, W. A., Furness, J. B. and Bornstein, J. C. (1993). Simultaneous intracellular recordings from enteric neurons reveal that myenteric AH neurons transmit via slow excitatory postsynaptic potentials. *Neuroscience*, 55(3), 685-694. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90434-h](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90434-h)
62. Costa, M., Spencer, N. J. and Brookes, S. J. H. (2021). The role of enteric inhibitory neurons in intestinal motility. *Autonomic Neuroscience*, 235, 102854. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2021.102854>
63. Qu, Z. D., Thacker, M., Castelucci, P., Bagyánszki, M., Epstein, M. L. and Furness, J. B. (2008). Immunohistochemical analysis of neuron types in the mouse small intestine. *Cell and Tissue Research*, 334(2), 147-161. <https://doi.org/10.1007/s00441-008-0684-7>
64. Browning, K. N. and Travagli, R. A. (2019). Central control of gastrointestinal motility. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 26(1), 11-16. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000449>

65. Furness, J. B., Johnson, P. J., Pompolo, S. and Bornstein, J. C. (1995). Evidence that enteric motility reflexes can be initiated through entirely intrinsic mechanisms in the guinea-pig small intestine. *Neurogastroenterology & Motility*, 7(2), 89-96. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.1995.tb00213.x>
66. Hosie, S., Abo-Shaban, T., Mou, K., Balasuriya, G. K., Mohsenipour, M., Alamoudi, M. U., Filippone, R. T., Belz, G. T., Franks, A. E., Bornstein, J. C., Nurgali, K. and Hill-Yardin, E. L. (2024). Faster gastrointestinal transit, reduced small intestinal smooth muscle tone and dysmotility in the Nlgn3R451C mouse model of autism. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 832. <https://doi.org/10.3390/ijms25020832>
67. Lee, C. Y. Q., Balasuriya, G. K., Herath, M., Franks, A. E. and Hill-Yardin, E. L. (2023). Impaired cecal motility and secretion alongside expansion of gut-associated lymphoid tissue in the Nlgn3R451C mouse model of autism. *Scientific Reports*, 13(1), 12687. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39555-y>
68. Ma, W., Drew, D. A. and Staller, K. (2022). The gut microbiome and colonic motility disorders: A practical framework for the gastroenterologist. *Current Gastroenterology Reports*, 24(10), 115-126. <https://doi.org/10.1007/s11894-022-00847-4>
69. Wood, J. D. (2008). Enteric nervous system: Reflexes, pattern generators and motility. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(2), 149-158. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e3282f56125>
70. Zheng, Z., Tang, J., Hu, Y. and Zhang, W. (2022). Role of gut microbiota-derived signals in the regulation of gastrointestinal motility. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, 9, 961703. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.961703>
71. Camilleri, M., Chedid, V., Ford, A. C., Haruma, K., Horowitz, M., Jones, K. L., Low, P. A., Park, S. Y., Parkman, H. P. and Stanghellini, V. (2018). Gastroparesis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 41. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0038-z>
72. Furness, J. B. (2012). The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 9(5), 286-294. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.32>
73. Jacobs-Li, J., Tang, W., Li, C. and Bronner, M. E. (2023). Single-cell profiling coupled with lineage analysis reveals vagal and sacral neural crest contributions to the developing enteric nervous system. *eLife*, 12, e79156. <https://doi.org/10.7554/eLife.79156>
74. Dharshika, C. and Gulbransen, B. D. (2023). Enteric neuromics: How high-throughput "omics" deepens our understanding of enteric nervous system genetic architecture. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 15(2), 487-504. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2022.10.019>

75. Fu, M., Lui, V. C., Sham, M. H., Cheung, A. N. and Tam, P. K. (2003). HOXB5 expression is spatially and temporarily regulated in human embryonic gut during neural crest cell colonization and differentiation of enteric neuroblasts. *Developmental Dynamics*, 228(1), 1-10. <https://doi.org/10.1002/dvdy.10350>
76. Parizadeh, M. and Arrieta, M. C. (2023). The global human gut microbiome: Genes, lifestyles, and diet. *Trends in Molecular Medicine*, 29(10), 789-801. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2023.07.002>
77. Goldstein, A. M., Hofstra, R. M. and Burns, A. J. (2013). Building a brain in the gut: Development of the enteric nervous system. *Clinical Genetics*, 83(4), 307-316. <https://doi.org/10.1111/cge.12054>
78. Brehmer, A. (2021). Classification of human enteric neurons. *Histochemistry and Cell Biology*, 156(2), 95-108. <https://doi.org/10.1007/s00418-021-02002-y>
79. Timmermans, J. P., Adriaensen, D., Cornelissen, W. and Scheuermann, D. W. (1997). Structural organization and neuropeptide distribution in the mammalian enteric nervous system, with special attention to those components involved in mucosal reflexes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 118(2), 331-340. [https://doi.org/10.1016/s0300-9629\(96\)00314-3](https://doi.org/10.1016/s0300-9629(96)00314-3)
80. Furness, J. B., Kunze, W. A. and Clerc, N. (1999). Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut. II. The intestine as a sensory organ: Neural, endocrine, and immune responses. *American Physiological Society Journal*, 277(5), G922-G928. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.277.5.G922>
81. Phillips, R. J. and Powley, T. L. (2007). Innervation of the gastrointestinal tract: Patterns of aging. *Autonomic Neuroscience*, 136(1-2), 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2007.04.005>
82. Bronner, M. E. and LeDouarin, N. M. (2012). Development and evolution of the neural crest: An overview. *Developmental Biology*, 366(1), 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.12.042>
83. Herath, M., Cho, E., Marklund, U., Franks, A. E., Bornstein, J. C. and Hill-Yardin, E. L. (2023). Quantitative spatial analysis of Neuroligin-3 mRNA expression in the enteric nervous system reveals a potential role in neuronal-glial synapses and reduced expression in Nlgn3R451C mice. *Biomolecules*, 13(7), 1063. <https://doi.org/10.3390/biom13071063>
84. Million, M. and Larauche, M. (2016). Stress, sex, and the enteric nervous system. *Neurogastroenterology and Motility*, 28(9), 1283-1289. <https://doi.org/10.1111/nmo.12937>

85. Varley, A. N. and Browning, K. N. (2024). Gastrointestinal dysfunction in the valproic acid induced model of social deficit in rats. *Autonomic Neuroscience*, 253, 103161. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2024.103161>
86. Furness, J. B. (2022). Comparative and evolutionary aspects of the digestive system and its enteric nervous system control. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1383, 165-177. https://doi.org/10.1007/978-3-031-05843-1_16
87. Furness, J. B., Robbins, H. L., Xiao, J., Stebbing, M. J. and Nurgali, K. (2004). Projections and chemistry of Dogiel type II neurons in the mouse colon. *Cell and Tissue Research*, 317(1), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0895-5>
88. Südhof, T. C. (2008). Neuroligins and neurexins link synaptic function to cognitive disease. *Nature*, 455(7215), 903-911. <https://doi.org/10.1038/nature07456>
89. Ushkaryov, Y. A., Petrenko, A. G., Geppert, M. and Südhof, T. C. (1992). Neurexins: Synaptic cell surface proteins related to the alpha-latrotoxin receptor and laminin. *Science*, 257(5066), 50-56. <https://doi.org/10.1126/science.1621094>
90. Ichtchenko, K., Hata, Y., Nguyen, T., Ullrich, B., Missler, M., Moomaw, C. and Südhof, T. C. (1995). Neuroligin 1: A splice site-specific ligand for beta-neurexins. *Cell*, 81(3), 435-443. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90396-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90396-8)
91. Gerik-Celebi, H. B., Bolat, H. and Unsel-Bolat, G. (2024). Rare heterozygous genetic variants of NRXN and NLGN gene families involved in synaptic function and their association with neurodevelopmental disorders. *Developmental Neurobiology*, 84(3), 158-168. <https://doi.org/10.1002/dneu.22941>
92. Lin, P. Y., Chen, L. Y., Zhou, P., Lee, S. J., Trotter, J. H. and Südhof, T. C. (2023). Neurexin-2 restricts synapse numbers and restrains the presynaptic release probability by an alternative splicing-dependent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(13), e2300363120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2300363120>
93. Wang, D., Pan, J., Song, G., Gao, N., Zheng, Y., Zhang, Q. and Li, A. (2017). Abundance and significance of Neuroligin-1 and Neurexin II in the enteric nervous system of embryonic rats. *BioMed Research International*, 2017, 1209360. <https://doi.org/10.1155/2017/1209360>
94. Nguyen, T. A., Lehr, A. W. and Roche, K. W. (2020). Neuroligins and neurodevelopmental disorders: X-linked genetics. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 12, 33. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2020.00033>
95. Bemben, M. A., Shipman, S. L., Hirai, T., Herring, B. E., Li, Y., Badger, J. D. 2nd, Nicoll, R. A., Diamond, J. S. and Roche, K. W. (2014). CaMKII phosphorylation of neuroligin-1 regulates excitatory synapses. *Nature Neuroscience*, 17(1), 56-64. <https://doi.org/10.1038/nn.3601>

96. Lim, S. H., Kwon, S. K., Lee, M. K., Moon, J., Jeong, D. G., Park, E., Kim, S. J., Park, B. C., Lee, S. C., Ryu, S. E., Yu, D. Y., Chung, B. H., Kim, E., Myung, P. K. and Lee, J. R. (2009). Synapse formation regulated by protein tyrosine phosphatase receptor T through interaction with cell adhesion molecules and Fyn. *European Molecular Biology Organization Journal*, 28(22), 3564-3578. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.289>
97. Bang, M. L. and Owczarek, S. (2013). A matter of balance: Role of neurexin and neuroligin at the synapse. *Neurochemistry Research*, 38(6), 1174-1189. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1029-9>
98. Furness, J. B., Jones, C., Nurgali, K. and Clerc, N. (2004). Intrinsic primary afferent neurons and nerve circuits within the intestine. *Progress in Neurobiology*, 72(2), 143-164. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2003.12.004>
99. Stach, W. (1981). Zur neuronalen Organisation des Plexus myentericus (Auerbach) im Schweinedünndarm. II. Typ II-Neurone [The neuronal organization of the plexus myentericus (Auerbach) in the small intestine of the pig. II. Typ II-neurone (author's transl)]. *Zeitschrift für Mikroskopisch-Anatomische Forschung*, 95(2), 161-182.
100. İnternet: Patel, K. S. and Thavamani, A. (March, 2023). Physiology, peristalsis. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556137/> adresinden 23 Nisan 2023'te alınmıştır.
101. Neckel, P. H. (2023). Annotated translation of Georg Meissner's first description of the submucosal plexus. *Neurogastroenterology and Motility*, 35(3), e14480. <https://doi.org/10.1111/nmo.14480>
102. Brehmer, A., Rupprecht, H. and Neuhuber, W. (2010). Two submucosal nerve plexus in human intestines. *Histochemistry and Cell Biology*, 133(2), 149-161. <https://doi.org/10.1007/s00418-009-0657-2>
103. Niesler, B., Kuerten, S., Demir, I. E. and Schäfer, K. H. (2021). Disorders of the enteric nervous system - A holistic view. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(6), 393-410. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00385-2>
104. Gulbransen, B. D. and Sharkey, K. A. (2012). Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 9(11), 625-632. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.138>
105. López-Gómez, L., Szymaszkiewicz, A., Zielińska, M. and Abalo, R. (2021). Nutraceuticals and enteric glial cells. *Molecules*, 26(12), 3762. <https://doi.org/10.3390/molecules26123762>

106. Delvalle, N. M., Fried, D. E., Rivera-Lopez, G., Gaudette, L. and Gulbransen, B. D. (2018). Cholinergic activation of enteric glia is a physiological mechanism that contributes to the regulation of gastrointestinal motility. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 315(4), G473-G483. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00155.2018>
107. Jessen, K. R. and Mirsky, R. (1983). Astrocyte-like glia in the peripheral nervous system: An immunohistochemical study of enteric glia. *Journal of Neuroscience*, 3(11), 2206-2218. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.03-11-02206.1983>
108. Seguela, L. and Gulbransen, B. D. (2021). Enteric glial biology, intercellular signalling and roles in gastrointestinal disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(8), 571-587. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00423-7>
109. Costantini, T. W., Bansal, V., Krzyzaniak, M., Putnam, J. G., Peterson, C. Y., Loomis, W. H., Wolf, P., Baird, A., Eliceiri, B. P. and Coimbra, R. (2010). Vagal nerve stimulation protects against burn-induced intestinal injury through activation of enteric glia cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 299(6), G1308-G1318. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00156.2010>
110. Eltokhi, A., Janmaat, I. E., Genedi, M., Haarman, B. C. M. and Sommer, I. E. C. (2020). Dysregulation of synaptic pruning as a possible link between intestinal microbiota dysbiosis and neuropsychiatric disorders. *Journal of Neuroscience Research*, 98(7), 1335-1369. <https://doi.org/10.1002/jnr.24616>
111. Neunlist, M., Van Landeghem, L., Mahé, M. M., Derkinderen, P., des Varannes, S. B. and Rolli-Derkinderen, M. (2013). The digestive neuronal-glial-epithelial unit: A new actor in gut health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 10(2), 90-100. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.221>
112. Doenyas, C., Ekici, B., Unay, Ö. S., Gönen, İ. and Tatlı, B. (2021). Autism in Turkey: Demographics, behavior problems, and accompanying medical conditions in a sample of Turkish youth with autism spectrum disorder. *International Journal of Developmental Disabilities*, 69(2), 179-189. <https://doi.org/10.1080/20473869.2021.1937001>
113. Donovan, A. P. and Basson, M. A. (2017). The neuroanatomy of autism - A developmental perspective. *Journal of Anatomy*, 230(1), 4-15. <https://doi.org/10.1111/joa.12542>
114. Yitik, G. (2019). *Otizm Spektrum Bozukluğunun Bağırsak Bakteri Florası (Mikrobiyota) ile İlişisinin Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, 46-59.

115. Genovese, A. and Butler, M. G. (2023). The autism spectrum: Behavioral, psychiatric and genetic associations. *Genes (Basel)*, 14(3), 677. <https://doi.org/10.3390/genes14030677>
116. Hirota, T. and King, B. H. (2023). Autism spectrum disorder: A review. *Journal of the American Medical Association*, 329(2), 157-168. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.23661>
117. Marotta, R., Risoleo, M. C., Messina, G., Parisi, L., Carotenuto, M., Vetri, L. and Roccella, M. (2020). The neurochemistry of autism. *Brain Sciences*, 10(3), 163. <https://doi.org/10.3390/brainsci10030163>
118. Wang, L., Wang, B., Wu, C., Wang, J. and Sun, M. (2023). Autism spectrum disorder: Neurodevelopmental risk factors, biological mechanism, and precision therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1819. <https://doi.org/10.3390/ijms24031819>
119. Warrier, V., Zhang, X., Reed, P., Havdahl, A., Moore, T. M., Cliquet, F., Leblond, C. S., Rolland, T., Rosengren, A.; EU-AIMS LEAP; iPSYCH-Autism Working Group; Spectrum 10K and APEX Consortia; Rowitch, D. H., Hurles, M. E., Geschwind, D. H., Børglum, A. D., Robinson, E. B., Grove, J., Martin, H. C., Bourgeron, T. and Baron-Cohen, S. (2022). Genetic correlates of phenotypic heterogeneity in autism. *Nature Genetics*, 54(9), 1293-1304. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01072-5>
120. Günay, Ç. (2019). *Otizm Spektrum Bozukluğu Tanısı Almış Çocuklarda Fonksiyonel Kabızlık Sıklığı*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, 2-13.
121. Kerns, C. M. and Kendall, P. C. (2012). The presentation and classification of anxiety in autism spectrum disorder. *Clinical Psychology: Science and Practice*, 19(4), 323–347. <https://doi.org/10.1111/cpsp.12009>
122. Murray, M. J. (2010). Attention-deficit/hyperactivity disorder in the context of autism spectrum disorders. *Current Psychiatry Reports*, 12(5), 382-388. <https://doi.org/10.1007/s11920-010-0145-3>
123. Hodges, H., Fealko, C. and Soares, N. (2020). Autism spectrum disorder: Definition, epidemiology, causes, and clinical evaluation. *Translational Pediatrics*, 9(Suppl 1), S55-S65. <https://doi.org/10.21037/tp.2019.09.09>
124. Salari, N., Rasoulpoor, S., Rasoulpoor, S., Shohaimi, S., Jafarpour, S., Abdoli, N., Khaledi-Paveh, B. and Mohammadi, M. (2022). The global prevalence of autism spectrum disorder: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Italian Journal of Pediatrics*, 48(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s13052-022-01310-w>

125. Baio, J., Wiggins, L., Christensen, D. L., Maenner, M. J., Daniels, J., Warren, Z., Kurzius-Spencer, M., Zahorodny, W., Robinson Rosenberg, C., White, T., Durkin, M. S., Imm, P., Nikolaou, L., Yeargin-Allsopp, M., Lee, L. C., Harrington, R., Lopez, M., Fitzgerald, R. T., Hewitt, A., Pettygrove, S., Constantino, J. N., Vehorn, A., Shenouda, J., Hall-Lande, J., Van Naarden Braun, K. 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. *Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries*, 67(6), 1–23. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6706a1>
126. Xu, G., Strathearn, L., Liu, B. and Bao, W. (2018). Prevalence of autism spectrum disorder among US children and adolescents, 2014-2016. *Journal of the American Medical Association*, 319(1), 81-82. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.17812>
127. Zeidan, J., Fombonne, E., Scolah, J., Ibrahim, A., Durkin, M. S., Saxena, S., Yusuf, A., Shih, A. and Elsabbagh, M. (2022). Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism Research*, 15(5), 778-790. <https://doi.org/10.1002/aur.2696>
128. Masini, E., Loi, E., Vega-Benedetti, A. F., Carta, M., Doneddu, G., Fadda, R. and Zavattari, P. (2020). An overview of the main genetic, epigenetic and environmental factors involved in autism spectrum disorder focusing on synaptic activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8290. <https://doi.org/10.3390/ijms21218290>
129. Al-Beltagi, M., Saeed, N. K., Bediwy, A. S., Elbeltagi, R. and Alhawamdeh, R. (2023). Role of gastrointestinal health in managing children with autism spectrum disorder. *World Journal of Clinical Pediatrics*, 12(4), 171-196. <https://doi.org/10.5409/wjcp.v12.i4.171>
130. Buie, T., Campbell, D. B., Fuchs, G. J. 3rd, Furuta, G. T., Levy, J., Vandewater, J., Whitaker, A. H., Atkins, D., Bauman, M. L., Beaudet, A. L., Carr, E. G., Gershon, M. D., Hyman, S. L., Jirapinyo, P., Jyonouchi, H., Kooros, K., Kushak, R., Levitt, P., Levy, S. E., Lewis, J. D., Murray, K. F., Natowicz, M. R., Sabra, A., Wershil, B. K., Weston, S. C., Zeltzer, L. and Winter, H. (2010). Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: A consensus report. *Pediatrics*, 125(Suppl 1), S1-S18. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-1878C>
131. Frye, R. E. (2020). Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder: Unique abnormalities and targeted treatments. *Seminars in Pediatric Neurology*, 35, 100829. <https://doi.org/10.1016/j.spn.2020.100829>
132. Gorrindo, P., Williams, K. C., Lee, E. B., Walker, L. S., McGrew, S. G. and Levitt, P. (2012). Gastrointestinal dysfunction in autism: Parental report, clinical evaluation, and associated factors. *Autism Research*, 5(2), 101-108. <https://doi.org/10.1002/aur.237>
133. Horvath, K. and Perman, J. A. (2002). Autistic disorder and gastrointestinal disease. *Current Opinion in Pediatrics*, 14(5), 583-587.

134. Hosie, S., Ellis, M., Swaminathan, M., Ramalhosa, F., Seger, G. O., Balasuriya, G. K., Gillberg, C., Råstam, M., Churilov, L., McKeown, S. J., Yalcinkaya, N., Urvil, P., Savidge, T., Bell, C. A., Bodin, O., Wood, J., Franks, A. E., Bornstein, J. C. and Hill-Yardin, E. L. (2019). Gastrointestinal dysfunction in patients and mice expressing the autism-associated R451C mutation in neuroligin-3. *Autism Research*, 12(7), 1043-1056. <https://doi.org/10.1002/aur.2127>
135. Kang, V., Wagner, G. C. and Ming, X. (2014). Gastrointestinal dysfunction in children with autism spectrum disorders. *Autism Research*, 7(4), 501-506. <https://doi.org/10.1002/aur.1386>
136. Lefter, R., Ciobica, A., Timofte, D., Stanciu, C. and Trifan, A. (2019). A descriptive review on the prevalence of gastrointestinal disturbances and their multiple associations in autism spectrum disorder. *Medicina (Kaunas)*, 56(1), 11. <https://doi.org/10.3390/medicina56010011>
137. Liu, F., Horton-Sparks, K., Hull, V., Li, R. W. and Martínez-Cerdeño, V. (2018). The valproic acid rat model of autism presents with gut bacterial dysbiosis similar to that in human autism. *Molecular Autism*, 9, 61. <https://doi.org/10.1186/s13229-018-0251-3>
138. Margolis, K. G., Buie, T. M., Turner, J. B., Silberman, A. E., Feldman, J. F., Murray, K. F., McSwiggan-Hardin, M., Levy, J., Bauman, M. L., Veenstra-VanderWeele, J., Whitaker, A. H. and Winter, H. S. (2019). Development of a brief parent-report screen for common gastrointestinal disorders in autism spectrum disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 49(1), 349-362. <https://doi.org/10.1007/s10803-018-3767-7>
139. Parekh, P. J., Balart, L. A. and Johnson, D. A. (2015). The influence of the gut microbiome on obesity, metabolic syndrome and gastrointestinal disease. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 6(6), e91. <https://doi.org/10.1038/ctg.2015.16>
140. Ristori, M. V., Quagliariello, A., Reddel, S., Ianiro, G., Vicari, S., Gasbarrini, A. and Putignani, L. (2019). Autism, gastrointestinal symptoms and modulation of gut microbiota by nutritional interventions. *Nutrients*, 11(11), 2812. <https://doi.org/10.3390/nu11112812>
141. Rose, S., Niyazov, D. M., Rossignol, D. A., Goldenthal, M., Kahler, S. G. and Frye, R. E. (2018). Clinical and molecular characteristics of mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 22(5), 571-593. <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0352-x>
142. 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>

143. Sanctuary, M. R., Kain, J. N., Chen, S. Y., Kalanetra, K., Lemay, D. G., Rose, D. R., Yang, H. T., Tancredi, D. J., German, J. B., Slupsky, C. M., Ashwood, P., Mills, D. A., Smilowitz, J. T. and Angkustsiri, K. (2019). Pilot study of probiotic/colostrum supplementation on gut function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *PLOS ONE*, 14(1), e0210064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210064>
144. Tabouy, L., Getselter, D., Ziv, O., Karpuj, M., Tabouy, T., Lukic, I., Maayouf, R., Werbner, N., Ben-Amram, H., Nuriel-Ohayon, M., Koren, O. and Elliott, E. (2018). Dysbiosis of microbiome and probiotic treatment in a genetic model of autism spectrum disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*, 73, 310-319. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.05.015>
145. Gieryńska, M., Szulc-Dąbrowska, L., Struzik, J., Mielcarska, M. B. and Gregorczyk-Zboroch, K. P. (2022). Integrity of the intestinal barrier: The involvement of epithelial cells and microbiota—a mutual relationship. *Animals (Basel)*, 12(2), 145. <https://doi.org/10.3390/ani12020145>
146. Gonzales, J., Marchix, J., Aymeric, L., Le Berre-Scoul, C., Zoppi, J., Bordron, P., Burel, M., Davidovic, L., Richard, J. R., Gaman, A., Lejuste, F., Brouillet, J. Z., Le Vacon, F., Chaffron, S., Leboyer, M., Boudin, H. and Neunlist, M. (2021). Fecal supernatant from adults with autism spectrum disorder alters digestive functions, intestinal epithelial barrier, and enteric nervous system. *Microorganisms*, 9(8), 1723. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081723>
147. Zhu, X., Han, Y., Du, J., Liu, R., Jin, K. and Yi, W. (2017). Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. *Oncotarget*, 8(32), 53829-53838. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17754>
148. Hull, M. M., Madhavan, D. and Zaroff, C. M. (2015). Autistic spectrum disorder, epilepsy, and vagus nerve stimulation. *Child's Nervous System*, 31(8), 1377-1385. <https://doi.org/10.1007/s00381-015-2720-8>
149. Wang, Z., Yuan, X., Zhang, Q., Wen, J., Cheng, T., Qin, X., Ji, T., Shu, X., Jiang, Y., Liao, J., Hao, H., Li, L. and Wu, Y. (2022). Effects of stable vagus nerve stimulation efficacy on autistic behaviors in ten pediatric patients with drug resistant epilepsy: An observational study. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 846301. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.846301>
150. Rao, M. and Gershon, M. D. (2016). The bowel and beyond: The enteric nervous system in neurological disorders. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(9), 517-528. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.107>
151. Barbier, A., Chen, J. H. and Huizinga, J. D. (2022). Autism spectrum disorder in children is not associated with abnormal autonomic nervous system function: Hypothesis and theory. *Frontiers in Psychiatry*, 13, 830234. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.830234>

152. Campbell, D. B., Buie, T. M., Winter, H., Bauman, M., Sutcliffe, J. S., Perrin, J. M. and Levitt, P. (2009). Distinct genetic risk based on association of MET in families with co-occurring autism and gastrointestinal conditions. *Pediatrics*, 123(3), 1018-1024. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-0819>
153. 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>
154. Cheng, B., Zhu, J., Yang, T., Wang, S., Liu, H., Wu, Q., Zhang, X. and Chen, J. (2020). Vitamin A deficiency exacerbates autism-like behaviors and abnormalities of the enteric nervous system in a valproic acid-induced rat model of autism. *Neurotoxicology*, 79, 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.06.004>
155. Deng, W., Zou, X., Deng, H., Li, J., Tang, C., Wang, X. and Guo, X. (2015). The relationship among genetic heritability, environmental effects, and autism spectrum disorders: 37 pairs of ascertained twin study. *Journal of Child Neurology*, 30(13), 1794-1799. <https://doi.org/10.1177/0883073815580645>
156. Edelson, L. R. and Saudino, K. J. (2009). Genetic and environmental influences on autistic-like behaviors in 2-year-old twins. *Behavior Genetics*, 39(3), 255-264. <https://doi.org/10.1007/s10519-009-9270-3>
157. Gaugler, T., Klei, L., Sanders, S. J., Bodea, C. A., Goldberg, A. P., Lee, A. B., Mahajan, M., Manaa, D., Pawitan, Y., Reichert, J., Ripke, S., Sandin, S., Sklar, P., Svantesson, O., Reichenberg, A., Hultman, C. M., Devlin, B., Roeder, K. and Buxbaum, J. D. (2014). Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nature Genetics*, 46(8), 881-885. <https://doi.org/10.1038/ng.3039>
158. Zhang, Y., Liu, X., Guo, R., Xu, W., Guo, Q., Hao, C., Ni, X. and Li, W. (2021). Biological implications of genetic variations in autism spectrum disorders from genomics studies. *Bioscience Reports*, 41(7), BSR20210593. <https://doi.org/10.1042/BSR20210593>
159. Jansson, C., Nordenstedt, H., Wallander, M. A., Johansson, S., Johnsen, R., Hveem, K. and Lagergren, J. (2007). Severe gastro-oesophageal reflux symptoms in relation to anxiety, depression and coping in a population-based study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 26(5), 683-691. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03411.x>
160. Lerner, A. and Matthias, T. (2016). GUT-the Trojan horse in remote organs' autoimmunity. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*, 7, 401.
161. Wang, H. X. and Wang, Y. P. (2016). Gut microbiota-brain axis. *Chinese Medical Journal (Engl)*, 129(19), 2373-2380. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667>

162. Collins, S. M. and Bercik, P. (2009). The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology*, 136(6), 2003-2014. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.01.075>
163. Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F. and Dinan, T. G. (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Frontiers in Physiology*, 2, 94. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00094>
164. Smith, K. (2012). Neurogastroenterology: New view of enteric nervous system development. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 9(10), 559. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.171>
165. Frye, R. E. (2015). Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder. *Epilepsy and Behavior*, 47, 147-157. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.08.134>
166. 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, 120. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00120>
167. De Magistris, L., Familiari, V., Pascotto, A., Sapone, A., Froli, A., Iardino, P., Carteni, M., De Rosa, M., Francavilla, R., Riegler, G., Militeri, 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 and Nutrition*, 51(4), 418-424. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181dcc4a5>
168. Howland, R. H. (2014). Vagus nerve stimulation. *Current Behavioral Neuroscience Reports*, 1(2), 64-73. <https://doi.org/10.1007/s40473-014-0010-5>
169. Lanska, D. J. (2002). J.L. Corning and vagal nerve stimulation for seizures in the 1880s. *Neurology*, 58(3), 452-459. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.3.452>
170. Zabara, J. (1992). Inhibition of experimental seizures in canines by repetitive vagal stimulation. *Epilepsia*, 33(6), 1005-1012. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1992.tb01751.x>
171. Morris, G. L. 3rd, Gloss, D., Buchhalter, J., Mack, K. J., Nickels, K. and Harden, C. (2013). Evidence-based guideline update: Vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 81(16), 1453-1459. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a393d1>
172. Pihlaja, M., Failla, L., Peräkylä, J. and Hartikainen, K. M. (2020). Reduced frontal Nogo-N2 with uncompromised response inhibition during transcutaneous vagus nerve stimulation—More efficient cognitive control? *Frontiers in Human Neuroscience*, 14, 561780. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.561780>

173. Dorr, A. E. and Debonnel, G. (2006). Effect of vagus nerve stimulation on serotonergic and noradrenergic transmission. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(2), 890-898. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.104166>
174. Ogbonnaya, S. and Kaliaperumal, C. (2013). Vagal nerve stimulator: Evolving trends. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 4(1), 8-13. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.107254>
175. McIntire, L. K., McKinley, R. A., Goodyear, C., McIntire, J. P. and Brown, R. D. (2021). Cervical transcutaneous vagal nerve stimulation (ctVNS) improves human cognitive performance under sleep deprivation stress. *Communications Biology*, 4(1), 634. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02145-7>
176. Terry, R. S., Tarver, W. B. and Zabara, J. (1991). The implantable neurocybernetic prosthesis system. *Pacing and Clinical Electrophysiology*, 14(1), 86-93. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8159.1991.tb04052.x>
177. Aranberri Ruiz, A. (2024). Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation to improve emotional state. *Biomedicines*, 12(2), 407. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12020407>
178. Badran, B. W., Mithoefer, O. J., Summer, C. E., LaBate, N. T., Glusman, C. E., Badran, A. W., DeVries, W. H., Summers, P. M., Austelle, C. W., McTeague, L. M., Borckardt, J. J. and George, M. S. (2018). Short trains of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) have parameter-specific effects on heart rate. *Brain Stimulation*, 11(4), 699-708. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.04.004>
179. Briand, M. M., Gosseries, O., Staumont, B., Laureys, S. and Thibaut, A. (2020). Transcutaneous auricular vagal nerve stimulation and disorders of consciousness: A hypothesis for mechanisms of action. *Frontiers in Neurology*, 11, 933. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00933>
180. Kim, A. Y., Marduy, A., de Melo, P. S., Gianlorenco, A. C., Kim, C. K., Choi, H., Song, J. J. and Fregni, F. (2022). Safety of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS): A systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 12(1), 22055. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25864-1>
181. Bonaz, B., Picq, C., Sinniger, V., Mayol, J. F. and Clarençon, D. (2013). Vagus nerve stimulation: From epilepsy to the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Neurogastroenterology and Motility*, 25(3), 208-221. <https://doi.org/10.1111/nmo.12076>
182. Barbella, G., Cocco, I., Freri, E., Marotta, G., Visani, E., Franceschetti, S. and Casazza, M. (2018). Transcutaneous vagal nerve stimulation (t-VNS): An adjunctive treatment option for refractory epilepsy. *Seizure*, 60, 115-119. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2018.06.016>

183. Bauer, S., Baier, H., Baumgartner, C., Bohlmann, K., Fauser, S., Graf, W., Hillenbrand, B., Hirsch, M., Last, C., Lerche, H., Mayer, T., Schulze-Bonhage, A., Steinhoff, B. J., Weber, Y., Hartlep, A., Rosenow, F. and Hamer, H. M. (2016). Transcutaneous vagus nerve stimulation (tVNS) for treatment of drug-resistant epilepsy: A randomized, double-blind clinical trial (cMPsE02). *Brain Stimulation*, 9(3), 356-363. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.11.003>
184. Demir, R. (2007). *Histolojik boyama teknikleri*. Palme Yayıncılık.
185. Schneider, C. A., Rasband, W. S. and Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
186. Ekelund, M., Ekelund, M., Qader, S. S., Hallén, M. and Ekblad, E. (2005). Effects of total parenteral nutrition on rat enteric nervous system, intestinal morphology, and motility. *Journal of Surgical Research*, 124(2), 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2004.10.008>
187. Bacus, S., Flowers, J. L., Press, M. F., Bacus, J. W. and McCarty, K. S. Jr. (1988). The evaluation of estrogen receptor in primary breast carcinoma by computer-assisted image analysis. *American Journal of Clinical Pathology*, 90(3), 233-239. <https://doi.org/10.1093/ajcp/90.3.233>
188. Bayram, P. (2018). *Metabolik sendromlu sıçanlarda hipokampusun nörogenezine etkili faktörlerin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 12-17.
189. James, D. M., Davidson, E. A., Yanes, J., Moshiree, B. and Dallman, J. E. (2021). The gut-brain-microbiome axis and its link to autism: Emerging insights and the potential of zebrafish models. *Frontiers in Cellular and Developmental Biology*, 9, 662916. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.662916>
190. Kim, J. W., Choi, C. S., Kim, K. C., Park, J. H., Seung, H., Joo, S. H., Yang, S. M., Shin, C. Y. and Park, S. H. (2013). Gastrointestinal tract abnormalities induced by prenatal valproic acid exposure in rat offspring. *Toxicological Research*, 29(3), 173-179. <https://doi.org/10.5487/TR.2013.29.3.173>
191. Cuttler, K., Hassan, M., Carr, J., Cloete, R. and Bardien, S. (2021). Emerging evidence implicating a role for neurexins in neurodegenerative and neuropsychiatric disorders. *Open Biology*, 11(10), 210091. <https://doi.org/10.1098/rsob.210091>
192. Zheng, Y., Verhoeff, T. A., Perez Pardo, P., Garssen, J. and Kraneveld, A. D. (2020). The gut-brain axis in autism spectrum disorder: A focus on the metalloproteases ADAM10 and ADAM17. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 118. <https://doi.org/10.3390/ijms22010118>

193. Krumm, N., Turner, T. N., Baker, C., Vives, L., Mohajeri, K., Witherspoon, K., Raja, A., Coe, B. P., Stessman, H. A., He, Z. X., Leal, S. M., Bernier, R. and Eichler, E. E. (2015). Excess of rare, inherited truncating mutations in autism. *Nature Genetics*, 47(6), 582-588. <https://doi.org/10.1038/ng.3303>
194. Shiozawa, P., Silva, M. E., Carvalho, T. C., Cordeiro, Q., Brunoni, A. R. and Fregni, F. (2014). Transcutaneous vagus and trigeminal nerve stimulation for neuropsychiatric disorders: A systematic review. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 72(7), 542-547. <https://doi.org/10.1590/0004-282x20140061>
195. Ma, Y., Xu, P., Bai, Z. and Fang, J. (2024). Microbiome-gut-brain axis as a novel hotspot in depression. *Brain-X*, 2, 43.
196. Vitale, V., Bindi, F., Velloso Alvarez, A., de la Cuesta-Torrado, M., Sala, G. and Sgorbini, M. (2024). Transcutaneous auricular vagal nerve stimulation in healthy non-sedated horses: A feasibility study. *Veterinary Sciences*, 11(6), 241. <https://doi.org/10.3390/vetsci11060241>



EKLER

EK-1. Etil Kurul Onayı



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



Sayı :
Konu : Değerlendirme ve Onay

05.12.2023

Sayın Prof. Dr. Meltem BAHÇELİOĞLU
Anatomi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Meltem BAHÇELİOĞLU, Rabet GÖZİL, Kerem ATALAR, Zeynep YIĞMAN, E.Deniz BARÇ ve Ayşen ÇALIKUŞU'ndan oluşan, G.Ü.ET-23.110 kod numaralı ve "*Deneyisel Otistik Fare Modelinde Trans-auriküler Nervus Vagus Stimulasyonunun Enterik Sinir Sistemi Sinaps Gelişimi ve Bağırsak Morfolojisi Üzerine Olan Etkilerinin İncelenmesi*" 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-23.110 and entitled "*Investigation of the Transauricular Vagal Nerve Stimulation Effects, in Experimental Autistic Mice Model, on Enteric Nervous System Synaptic Development and Intestine Morphology*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

NOT : Daha önce onay alan G.Ü.ET-20.029 kod numaralı çalışmada kullanılan 48 adet yavru erkek farenin bağırsak dokuları kullanılacaktır.

Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

EK-1. (devam) Etil Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 05.12.2023-2.317/214
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 17/11/2023		TOPLANTI SAYISI : 11	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)			
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.İlker ŞEN			
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Serkan YAVUZ			
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN			
Prof.Dr.Elvan ANADOL			
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ			
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN			
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ			
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YİĞMAN			
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : BARÇ, Esmâ Deniz
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri :
 Medeni hali :
 Telefon :
 E-mail :

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Anatomi Anabilim Dalı	2025
Yüksek Lisans	Çukurova Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2017
Yüksek Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Anatomi Anabilim Dalı	2008
Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Fen-Edebiyat Fakültesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017 - Devam ediyor	Yüksek İhtisas Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dili

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

