DÜZCE ÜNİVERSİTESİ | LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

LACTOBACİLLUS RHAMNOSUS UYGULAMASININ SIÇANLARDA PENİSİLİN İLE OLUŞTURULMUŞ EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

MURAT TEKBAŞ

DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. ŞERİF DEMİR

DÜZCE 2023

T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

LACTOBACİLLUS RHAMNOSUS UYGULAMASININ SIÇANLARDA PENİSİLİN İLE OLUŞTURULMUŞ EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Murat TEKBAŞ tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Şerif DEMİR
Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Şerif DEMİR
Düzce Üniversitesi _____

Prof. Dr. Cahit BAĞCI
Sakarya Üniversitesi _____

Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK
Düzce Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Özge BEYAZÇİÇEK
Düzce Üniversitesi _____

Tez Savunma Tarihi: 22/08/2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

22.08.2023

Murat TEKBAŞ

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve bu tezin hazırlanmasında süresince gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Prof. Dr. Şerif DEMİR'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK ve Dr. Öğr. Üyesi Özge BEYAZÇİÇEK'e şükranlarımı sunarım.

Tez İzleme Komitesi Üyesi Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA'ya değerli katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirlen deneysel çalışmalar sırasında yapmış olduğu katkılardan dolayı Öğr. Gör. Ali GÖK'e şükranlarımı sunuyorum.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İhtiyaç duyduğumuz mikroorganizma tedarikinde bize yardımcı oldukları için Chr.Hansen Gıda San Tic. A.Ş. ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi 2020.04.01.1122 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir

Murat TEKBAŞ

İÇİNDEKİLER

ÇİZELGE LİSTESİ ..... **İX**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **Xİ**
RESİMLER LİSTESİ ..... **Xİİ**
KISALTMALAR VE SİMGELER ..... **Xİİİ**
ÖZET ..... **XV**
ABSTRACT ..... **XVİ**
EXTENDED ABSTRACT ..... **XVİİ**
1. GİRİŞ **1**
1.1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
1.2. GENEL BİLGİLER **5**
1.2.1. Epilepsi **5**
1.2.1.1. Epilepsinin Tarihçesi *5*
1.2.1.2. Epilepsinin Epidemiyolojisi *6*
1.2.1.3. Epilepsinin Etiyolojisi *7*
1.2.1.4. Epilepsinin Sınıflandırılması *8*
1.2.1.5. Epilepsinin Patofizyolojisi *9*
1.2.1.6. Epilepsi Gelişiminde Oksidatif Stres ve Antioksidanlar *10*
1.2.2. Beyin Korteksi **14**
1.2.2.1. Elektroensefalogramın Fizyolojik Temeli *14*
1.2.2.2. Elektroensefalogramda elde edilen dalga tipleri *15*
1.2.3. Deneysel Epilepsi Modelleri **17**
1.2.3.1. Basit Parsiyel nöbetlerin Hayvan Modelleri *18*
1.2.3.2. Penisilin Modeli *19*
1.2.3.3. Bikukulin, pikrotoksin ve striknin modelleri *19*
1.2.3.4. Kortikal implante edilen metallerin modelleri *20*
1.2.3.5. Kriyojenik hasarla oluşturulan epilepsi modeli *20*
1.2.3.6. Kompleks parsiyel nöbet modelleri *20*
1.2.3.7. Generalize tonik-klonik nöbet modelleri *20*

1.2.3.8. Generalize-absens nöbet modelleri 21

1.2.3.9. Status epileptikus modelleri 22

1.2.3.10. Epilepsi modellerinden elde edilen sonuçlar 22

1.2.4. İntestinal Sistem Florası 23

1.2.4.1. İntestinal Sistem Florası Kolonizasyonu 23

1.2.4.2. İntestinal Sistem Florası Fonksiyonları 24

1.2.4.3. Fonksiyonel Gıdalar 25

1.2.4.3.1. Probiyotikler 25

1.2.4.3.2. Probiyotiklerin mikrobiyolojik özellikleri 25

1.2.4.3.3. Mide asidi ve Safra tuzlarına direnç 26

1.2.4.3.4. Bağırsak hücrelerine tutunma ve sindirim sisteminde kolonizasyon 26

1.2.4.3.5. Antimikrobiyal aktivite 27

1.2.4.3.6. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları 27

1.2.4.3.7. Probiyotiklerin tüketici sağlığına etkileri 27

1.2.5. Lactobacillus rhamnousus 28

1.2.5.1. Klinik Etkileri 29

1.2.5.2. Kullanım Alanları 29

1.2.5.3. Sindirim Sistemine Etkileri 30

1.2.5.4. Sinir Sistemine Etkileri 31

1.2.5.5. Gastrointestinal mikrobiyotanın ürettiği nöroaktif maddeler 31

1.2.6. Bağırsak-beyin Ekseni 35

1.2.6.1. Bağırsak Mikrobiyotası- Beyin Sinyal Mekanizmaları 38

1.2.6.2. Nöroendokrin ve Enteroendokrin Sinyal Yolları 40

1.2.6.3. Direk nöral sinyaller ve nöroimmün Sinyaller 40

1.2.6.4. Bağırsak mikrobiyotasından beyne sinyal iletiminde bariyerler 42

1.2.6.5. Mikrobiyota ve postbiyotiklerin, konak davranışı ve sinir sistemi işlevlerine etkisi 43

2. MATERYAL METOD 44

2.1. HAYVANLAR 44

2.2. GRUPLAR, MADDELER VE DOZLARI 44
2.3. DENEY GRUPLARI, MADDELER VE VERİLİŞ YOLLARI 44
2.4. ELEKTROFİZYOLOJİK ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ 46
2.4.1. Cerrahi Prosedür 46
2.4.2. Epileptiform Aktivitenin Oluşturulması 46
2.4.3. Elektrofizyolojik Kayıtlar 46
2.5. DOKU HOMEJENATLARINDA VE SERUMDA PARAMETRELERİN ELISA YÖNTEMİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ 47
2.5.1. Doku Lizatı Hazırlama 47
2.5.2. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi 47
2.5.3. İstatistiksel Analiz 48
3. BULGULAR VE TARTIŞMA 49
3.1. BULGULAR 49
3.1.1. Elektrokortikografik Bulgular 49
3.1.1.1. Sham gruplarında ve penisilinle uyarılmayan hayvanlarda L. rhamnosus uygulamasının etkisi 49
3.1.1.2. Penisilin kaynaklı epileptiform aktivitenin incelenmesi 49
3.1.1.3. L. rhamnosus uygulamasının ilk epileptiform aktivitenin Latens üzerine etkisi 50
3.1.1.4. L. rhamnosus uygulamasının zamana bağlı epileptiform aktivitenin diken dalga sıklığı üzerine etkisi 52
3.1.1.5. L. rhamnosus uygulamasının toplam epileptiform aktivite diken dalga sıklığına etkisi 63
3.1.1.6. L. rhamnosus uygulamasının diken dalga genliği üzerine etkisi 64
3.1.2. L. rhamnosus Uygulamasının Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi 75
3.1.2.1. L. rhamnosus uygulamasının serum süperoksit dismutaz seviyesine etkisi 75
3.1.2.2. L. rhamnosus uygulamasının beyin süperoksit dismutaz seviyesine etkisi 77
3.1.2.3. L. rhamnosus uygulamasının serum katalaz seviyesine etkisi 78

3.1.2.4. L. rhamnosus uygulamasının beyin katalaz seviyesine etkisi 79

3.1.2.5. L. rhamnosus uygulamasının serum glutatyon peroksidaz seviyesine etkisi 80

3.1.2.6. L. rhamnosus uygulamasının beyin glutatyon peroksidaz seviyesine etkisi 81

3.1.3. L. rhamnosus Uygulamasının GABA Düzeyi Üzerine Etkisi 82

3.1.3.1. L. rhamnosus uygulamasının serum GABA düzeyi üzerine etkisi..... 82

3.1.3.2. L. rhamnosus uygulamasının beyin GABA düzeyi üzerine etkisi..... 84

4. TARTIŞMA 86

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 89

6. KAYNAKLAR 90

ÖZGEÇMİŞ 102

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. EEG'lerde kaydedilen beyindeki temel 5 dalga 15
Çizelge 1.2. Epilepsi Nöbet tipleri [51] 18
Çizelge 1.3.Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar [85] 26
Çizelge 1.4. GABA üreten bakteriler [114] 32
Çizelge 1.5.Seratonin üreten bakteriler [114] 33
Çizelge 1.6. Dopamin üreten bakteriler [114] 34
Çizelge 1.7. Histamin üreten bakteriler [114] 34
Çizelge 1.8. Nörepinefrin üreten bakteriler[114] 35
Çizelge 2.1. Deney grupları, maddeler ve veriliş yolları 45
Çizelge 3.1. Grupların zamana bağımlı ilk epileptiform aktivitenin başlama zamanı yönünden karşılaştırılmasından elde edilen istatistiksel değerler. 51
Çizelge 3.2. Penisilin sonrası 0-20. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler . 53
Çizelge 3.3. Penisilin sonrası 21-40. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler . 54
Çizelge 3.4. Penisilin sonrası 41-60. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler . 56
Çizelge 3.5. Penisilin sonrası 61-80. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler . 58
Çizelge 3.6. Penisilin sonrası 81-100. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler . 59
Çizelge 3.7. Penisilin sonrası 101-120. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler . 61
Çizelge 3.8. Tüm gruplarda penisilin sonrası 120 dakikalık kayıtlardan elde edilen toplam epileptiform aktivite diken-dalga sayıları ortalamalarına ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 63
Çizelge 3.9. Tüm gruplarda penisilin sonrası 0-20. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 66
Çizelge 3.10. Tüm gruplarda penisilin sonrası 21-40. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 67
Çizelge 3.11. Tüm gruplarda penisilin sonrası 41-60. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 69
Çizelge 3.12. Tüm gruplarda penisilin sonrası 61-80. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 71
Çizelge 3.13. Tüm gruplarda penisilin sonrası 81-100. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 72
Çizelge 3.14. 101-120. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri. 74
Çizelge 3.15. *L. rhamnosus*'un serum SOD düzeyi üzerine etkisi 76
Çizelge 3.16. *Lactobacillus rhamnosus*'un beyin SOD düzeyi üzerine etkisi..... 77
Çizelge 3.17. *L. rhamnosus*'un serum CAT düzeyi üzerine etkisi 78

Çizelge 3.18. *L. rhamnosus*'un beyin CAT düzeyi üzerine etkisi 79
Çizelge 3.19. *L. rhamnosus*'un serum GPx düzeyi üzerine etkisi 80
Çizelge 3.20. *L. rhamnosus*'un beyi CAT düzeyi üzerine etkisi 81
Çizelge 3.21. *L. rhamnosus*'un serum GABA düzeyi üzerine etkisi 83
Çizelge 3.22. *L. rhamnosus*'un beyin GABA düzeyi üzerine etkisi 84

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Epilepsi etiyolojisinde sık görülen sebepler 7
Şekil 1.2. Günümüzde epilepsinin nedenleri 7
Şekil 1.3. ILAE 2017 işlevsel nöbet sınıflaması genişletilmiş sürüm [39]..... 8
Şekil 1.4. Oksijen suya indirgenirken oluşan reaktif oksijen türleri..... 11
Şekil 1.5. Temel 5 dalganın EEG görünümü[2] 16
Şekil 1.6. Beyinden kaydedilen EEG de spike, keskin dalga ve diken-dalga kompleksi [1]..... 17
Şekil 1.7. İntestinal Mikrobiyotanın Dağılımı [81] 23
Şekil 1.8. Beyin-bağırsak-mikrobiyom etkileşimlerinin sistem biyolojik modeli [135]. 36
Şekil 1.9. Beyin-bağırsak ekseninde iletişim yolları [144]..... 39
Şekil 1.10. Mikrobiyota, bağışıklık sistemi ve MSS arasındaki moleküler etkileşim. ... 41
Şekil 3.1. Üretan anestezisi altındaki Wistar sıçanda sol hemisferin somatomotor alanına ait tipik bir bazal aktivite kaydı..... 49
Şekil 3.2. Penisilin G enjeksiyon sonrası ECoG dalgalarındaki değişimler. 50
Şekil 3.3. Latens süresi (*Kontrol grubuna göre anlamlı, #DZM-4 grubuna göre anlamlı). 51
Şekil 3.4. 0-120 dakikaları arasındaki zamana bağlı diken-dalga sıklığı (sayı/dakika) değerleri (*kontrol grubuna göre anlamlı). 62
Şekil 3.5. Penisilin sonrası 120 dakikalık kayıtlardan elde edilen toplam diken-dalga sayısı ortalamalarının gösterimi (*KONT grubuna göre anlamlı, $^{\#}$LBR-4 grubuna göre anlamlı, $^{\Delta}$DZM-10 grubuna göre anlamlı, ^{o}LBR-DZM-10). 64
Şekil 3.6. 0-120 dakikaları arasındaki zamana bağlı diken-dalga genliği (mV) değerleri. 65
Şekil 3.7. *L. rhamnosus*'un serum SOD seviyesi üzerine etkisi. 76
Şekil 3.8. L. rhamnosus'un beyin SOD seviyesi üzerine etkisi. 77
Şekil 3.9. *L. rhamnosus*'un serum CAT seviyesi üzerine etkisi (*LBR-10 grubuna göre anlamlı; $^{\#}$LBR-4 grubuna göre anlamlı; $^{\Delta}$ LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı; $^{+}$LBR-DZM-10 grubuna göre anlamlı) 78
Şekil 3.10. *L. rhamnosus*'un beyin CAT seviyesi üzerine etkisi (*SLBR-10 grubuna göre anlamlı). 80
Şekil 3.11. *L. rhamnosus*'un serum GPx seviyesi üzerine etkisi (*LBR-10 grubuna göre anlamlı; $^{\#}$LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı) 81
Şekil 3.12. *L. rhamnosus*'un beyin Gpx seviyesi üzerine etkisi. 82
Şekil 3.13. *L. rhamnosus*'un serum GABA düzeyi üzerine etkisi 83
Şekil 3.14. *L. rhamnosus*'un beyin GABA düzeyi üzerine etkisi (*KONT grubuna göre anlamlı). 85

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Sıçanlara günlük gavajla *L. rhamnosus* verilmesi 45

KISALTMALAR VE SİMGELER

Simge	Açılımı
Ca^{++}	: Kalsiyum
cm^2	: Santimetrekare
cm^3	: Santimetreküp
Da	: Dalton
dak	: Dakika
dB	: Desibel
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ECoG	: Elektrokortigogram, electrocorticographic
EEG	: Elektroensefalogram
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ENS	: Enterik sinir sistemi
EPSP	: Eksitatör postsinaptik potansiyel
FMT	: Fekal mikrobiyota transplantasyonu
g/kg	: Gram/kilogram
GABA:	: Gama-aminobutirik asit
GSH	: Glutatyon
HPA	: Hipotalamik-hipofiz-adrenal aks
Hz	: Hertz
IBE	: International Bureau for Epilepsy, Uluslararası epilepsi bürosu
IL	: İnterlökin
ILAE	: International League Against Epilepsy, Epilepsiye karşı uluslararası ligi
ISAPP	: Uluslararası Probiyotikve Prebiyotik Derneği
IU	: Uluslararası birim, international unit
i.c.	: Beyin içine, İntrakortikal, İntracortical
i.p.	: Periton içi, intraperitoneal, intraperitoneal
İPAN	: İntrinsik primer afferent nöron
K^+	: Potasyum
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
LBR	: *Lactobacillus rhamnosus*

mg/kg : Miligram/kilogram

Mg^{++} : Magnezyum

mm : Milimetre

MRG : Manyetik rezonans görüntüleme

msn : Milisaniye

MSS : Merkezi sinir sistemi

Na^{+} : Sodyum

NMDA : N-Metil-D-Aspartat

NO : Nitro oksit

PASW : Predictive Analytics software

pg : Pikogram

PTZ : Pentilentetrazol

ROS : Reactive Oxijen spaces

SE : Status epileptikus

sn : Saniye

WHO : Worth health organization

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

µl : Mikrolitre

µV : Mikrovolt

ÖZET

LACTOBACİLLUS RHAMNOSUS UYGULAMASININ SIÇANLARDA PENİSİLİN İLE OLUŞTURULMUŞ EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

MURAT TEKBAŞ
Düzce. Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora tezi
Danışman: Prof.Dr. Şerif DEMİR
Ağustos 2023, 101 Sayfa

Epilepsi, her yüz insandan birinde görülebilecek kadar yüksek prevalansa sahip, henüz tam tedavisi mümkün olmayan ve yaşam kalitesini bozan nörolojik bir hastalıktır. Epilepsi tedavisi kullanılan antiepileptik ilaçların yanında mekanizmayı anlamak ve tedavide yeni ilaçlar geliştirmek için birçok yeni çalışmalar yapılmaktadır. Epilepsi oluş mekanizmaları içerisinde mikrobiyotanın da etkili olabileceği görüşü önem kazanmıştır. Epilepsi tedavisinde ana mekanizma GABAerjik sistemi güçlendirmektir. Mikrobiyotada bulunan, probiyotik bir bakteri olan *Lactobacillus rhamnosus* kolonda gama-aminobütrik asit (GABA) üretettiği çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda mikrobiyotanın doğal üyesi *L. rhamnosus* bakterisinin sıçanlarda deneysel epilepsi ve serbest radikal oluşumuna etkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada 70 adet Wistar türü ergin sıçan kullanıldı. Deney hayvanları; sham, kontrol (penisilin) ve *L. rhamnosus* (LBR) olarak temel gruplara ayrıldı. LBR gruplarına ise 4 ve 10 hafta boyunca gavajla günlük 1 mL $1x10^{10}$ cfu/mL *L. rhamnosus* verildi. Sıçanları intraperitonal üretan enjeksiyonla anestezi altına alıp kafatasının sol korteks üstündeki kısmı kaldırdıktan sonra somatomotor alana elektrotlar yerleştirildi. Penisilin intrakortikal olarak uygulanıp sonrasında 120 dakika ECoG kaydı alındı ve veriye dönüştürülerek yazılım programı ile analizi yapıldı. Bu analizler epileptiform aktivitenin latensi, diken dalga sıklığı ve genliği açısından değerlendirildi. Ayrıca *L. rhamnosus* probiyotik takviyesinin GABA seviyesi ve antioksidan mekanizmalar üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacı ile deney gruplarından serum ve beyin dokusu örnekleri alınıp ELİSA testi yapıldı. ELİSA testi ile serum ve beyin dokusu örneklerindeki GABA, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) değerleri ölçüldü. LBR ve DZM'nin birlikte uygulandığı gruplarda epileptiform aktivite başlama latensinin uzadığı görülmüştür. LBR'nin toplam epileptiform aktivite diken dalga sıklığını kontrol grubuna göre azalttığı gösterilmiştir. LBR'nin epileptiform aktivite diken dalga genliğinde de benzer şekilde düşme gözlemlenmiştir. Özellikle LBR10 ve LBR-DZM-10 gruplarında bu anlamlılık daha belirgin olduğu gözlenmiştir. LBR uygulanan gruplardan alınan örneklerden CAT, SOD ve GPx seviyeleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bir anlamlılık gözlenmemiştir. LBR uygulanan gruplardan alınan serum GABA düzeyi kontrol grubuyla benzer iken, beyin dokusunda LBR4 grubunun GABA düzeyi kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, epilepsinin oluşum ve tedavisinde probiyotiklerin önemli bir antiepileptik etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Nörodejeneratif hastalıklar ve probiyotikler arasındaki bağıntının değerlendirilebilmesi, daha fazla klinik ve deneysel çalışmalarla mümkün olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Elektrokortikografi, Epilepsi, GABA, *Lactobacillus rhamnosus*, Sıçan, Oksidatif Stres

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTS OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* ADMİNİSTRATİON ON PENICILLIN-INDUCED EPILEPTIFORM ACTIVITY IN RATS

MURAT TEKBAŞ
Duzce University
Graduate School of Education, Department of Physiology
Ph.D. Thesis
Advisor: Assist. Prof.Dr. Şerif DEMİR
August 2023, 101 Pages

Epilepsy is a neurological disease with a high prevalence that can be seen in one out of every hundred people, which is not yet fully treatable and impairs quality of life. In addition to antiepileptic drugs used in the treatment of epilepsy, many new studies are carried out to understand the mechanism and develop new drugs for treatment. The view that microbiota may also be effective in the mechanisms of epilepsy has gained importance. The main mechanism in the treatment of epilepsy is to strengthen the GABAergic system. *Lactobacillus rhamnosus*, a probiotic bacterium found in the microbiota, has been shown in studies to produce gamma-aminobutyric acid (GABA) in the colon. Therefore, our study aimed to investigate the effect of *L. rhamnosus* bacteria, a natural member of the microbiota, on experimental epilepsy and free radical formation in rats. In this study, 70 adult Wistar rats were used. Test animals were divided into three basic groups: sham, control (penicillin), and *L. rhamnosus* (LBR). LBR groups were given 1 mL of $1x10^{10}$ cfu/mL LBR daily by gavage for 4 and 10 weeks. While the rats were under anesthesia with urethane, the part of the skull above the left cortex was removed and electrodes were placed in the somatomotor area. After the intracortical injection of penicillin, ECoG recording was performed for 120 minutes. Besides, these recordings were converted into data and analyzed by a software program. Experimental analyses were evaluated regarding latency, spike-wave frequency, and amplitude of initial epileptiform activity. Furthermore, to evaluate the effects of *L. rhamnosus* probiotic supplement on GABA levels and antioxidant mechanisms, serum and brain tissue samples were taken from the experimental groups and the ELISA test method was employed. GABA, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) values in serum and brain tissue samples were measured by the ELISA test method. It was observed that the epileptiform activity initiation latency was prolonged in the groups in which LBR and DZM were applied together. It has been shown that LBR dramatically reduces the frequency of total epileptiform activity spikes compared to the control group. A similar decrease was observed in the epileptiform activity spike wave amplitude of LBR. This relevance was noticed to be more remarkable, especially in the LBR10 and LBR-DZM-10 groups. When the CAT, SOD, and GPx levels of the samples taken from the LBR-applied groups were compared with the control group, no significant relationship was found between them. While the serum GABA level from the LBR-treated groups was similar to the control group, the GABA level of the LBR4 group in the brain tissue was found to be higher than the control group. In conclusion, it is thought that probiotics may have an important antiepileptic effect in developing and treating epilepsy. Evaluation of the correlation between neurodegenerative diseases and probiotics will be possible with further clinical and experimental studies.

Keywords: Electrocorticography, Epilepsy, GABA, *Lactobacillus rhamnosus*, Rat, Oxidative Stress

EXTENDED ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTS OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* ADMİNİSTRATİON ON PENICILLIN-INDUCED EPILEPTIFORM ACTIVITY IN RATS

MURAT TEKBAŞ
Duzce University
Graduate School of Education, Department of Physiology
Ph.D. Thesis
Advisor: Assist. Prof. Dr. Şerif DEMİR
August 2023, 101 Pages

1. INTRODUCTION

Epilepsy is a disease characterized by excessive, hypersynchronous, and recurrent seizures of a group of neurons in the brain. Epilepsy disease, which is more common in infants, children, and the elderly, unfortunately, causes psychological, sociological, and economic losses. There are many types of epileptic attacks, thus the treatment method is determined after the diagnosis of these seizures. Electroencephalography (EEG) and magnetic resonance imaging (MRI) are used to determine the epilepsy type of the patient. However, diagnosing the disease and recommending appropriate antiepileptic medicines for treatment is a very difficult period. It is well known that one-third of the patients are treated incorrectly due to an incorrect diagnosis or medical treatment. Since all antiepileptic drugs used so far do not work for some epilepsy patients, continuous research is carried out to develop new medicines. In the pathophysiology of epilepsy, the balance between excitatory and inhibitory systems is disrupted. This imbalance may occur as a result of electrophysiological, morphological, neurochemical, ionic, metabolic, and endocrine changes. An imbalance between glutamate and GABA (gamma-aminobutyric acid) (increased glutamate or decreased GABA) is one of the leading causes of epileptic attacks. Antiepileptic drugs are used to balance this situation function by increasing the level of GABA or reducing the level of glutamate.

Ongoing neuronal electrical activity and excessive reactive oxygen species (ROS) produced during attacks can bring cell damage and neuron death. This oxidative stress leads to disruption of the structure of neurons, cell proteins, membrane lipids, and abnormal changes in DNA and RNA. Especially in the brain, oxidative damage of neural membranes can negatively affect neurotransmitter uptake and release, leading to disruption of the neural ionic gradient. When reactive oxygen species levels increase in

the CNS as a result of pathological conditions, the cellular antioxidant system is activated and oxidative stress is tried to be prevented.

The microbiota shows a bidirectional relationship between the gut-brain axis, the brain, and the gastrointestinal tract. Microbiota metabolites have been observed to affect neurons by altering the vagus nerve, immune mediators, and neurotransmission. Microbiota-based treatments are promising for some neuropsychiatric disorders. GABA is produced by some gut bacteria and can be transported to the CNS via the gut-brain axis. This shows that bacterial combinations can cause various changes in the brain by affecting GABAergic neurons in the CNS. The importance of microbiota in the prevention of epilepsy has been a very popular topic recently. All microorganisms such as bacteria, viruses, fungi, and protozoa in the human body are called 'microbiota'. Their number is considerably higher than human cells (3.8 x 1013). More than 70% of the microbiota is located in the gastrointestinal tract, mainly in the colon. The active metabolites produced by these microorganisms are used in distinct duties in the body. Lactobacillus and Bifidobacteria which are residents of the microbiota, produce GABA from monosodium glutamate. The effects of gut microbiota on human health have gained importance today. It is predicted that it will take part in the prevention and treatment of human health and diseases in the coming years.

Spike waves of discharges recorded during epileptic seizures and significant changes in the frequency and amplitude of these waves are called epileptiform activity. In scientific research, experimental animals are used by the rules. Many epilepsy models have been developed in experimental animals. Local application of penicillin to the surface and interior of the cortex or intraperitoneal injection of penicillin in cats and rats is known to produce epileptiform activity.

In this study, we aimed to investigate the effects on experimental epilepsy and free radical formation by giving Lactobacillus rhamnosus, a natural member of the microbiota and safely used as a probiotic, to rats in different groups at different times by gavage method.

2. MATERIALS AND METHOD

Adult male Wistar rats (n=70) aged 2-3 months and weighing 230±30 g were obtained from Düzce University Experimental Animal Research and Application Center. In the study, live *L. rhamnosus* was administered by gavage as 1 mL $1x10^{10}$ cfu/mL daily for 4

weeks (28 days) and 10 weeks (70 days) according to the experimental groups. All DZM groups were injected with 2 mg/kg i.p. daily. At the end of the indicated feeding days, anesthesia was induced by intraperitoneal (i.p.) administration of 1.25 g/kg urethane. Epilepsy was induced by intracortical (i.c.) administration of 500 IU penicillin G potassium salt in a volume of 2 µl. All drugs were prepared daily. Wistar rats: sham, Penicillin (Pen), *L. rhamnosus* (SLBR-4), diazepam + penicillin (DZM-4), *L. rhamnosus* + penicillin (LBR-4) and *L. rhamnosus* + Diazepam + Penicillin (LBR-DZM-4), *L. rhamnosus* (SLBR-10), diazepam + penicillin (DZM-10), *L. rhamnosus* + penicillin (LBR-10) and *L. rhamnosus* + Diazepam + Penicillin (LBR-DZM-10) and 7 rats were included in each group.

The sham group did not receive any substance after all surgical procedures were performed. The penicillin (Pen) group received only a single intracortical injection of penicillin. In all penicillin-treated groups, a single dose of intracortical penicillin was administered 24 hours after substance administration. In all groups, each animal was anesthetized intraperitoneally with 1.25 g/kg urethane and fixed to a stereotaxic frame. The head region was shaved and the scalp was cut with a scalpel from anterior to posterior along the midline, then The bone over the left cerebral cortex was thinned and removed with a lap motor. Epileptic activity was induced with 500 IU/2 µl penicillin i.c. with a Hamilton microinjector 2 mm lateral and 1 mm anterior to the Bregma line and 1.2 mm deep into the cortex. Two Ag-AgCl ball electrodes were placed in the opened somatomotor cortex area and basal activity recording was started. After five minutes of basal activity recording, epileptiform activity was induced by intracortical penicillin injection. Spike waves were recorded for 120 minutes after penicillin injection. The recordings were analyzed with the Power Lab Chart v.6.0 software program. Both serum and brain tissue samples were subjected to the Elisa test and antioxidant (SOD, CAT, GPx) and GABA levels were evaluated.

Using LabChart v.7.3.8 computer software, epileptiform activity onset latency, spike-wave frequency, and spike-wave amplitude parameters were automatically calculated from animal recordings. Epileptiform activity recordings were divided into five-minute periods and analyzed. Differences between groups were evaluated by Kruskal-Wallis test, and different groups were evaluated by post-hoc Dunn's multiple comparison test. Similarly, Kruskal-Wallis test and post hoc Dunn multiple comparison tests were used to compare the groups in terms of SOD, CAT, GPx, and GABA values. $p<0.05$ was

accepted as the level of statistical significance. GraphPad Prism 8 program was used in the analysis.

3. RESULTS AND DISCUSSION

No epileptiform activity effect of 1x1010 cfu/ml LBR dose used in our study on basal activity was observed in both 4-week and 10-week applications. Similarly, no epileptic activity was observed in the Sham groups. In the control (penicillin) group, the mean spike-wave number and spike-wave amplitude were 1.28 and 0.597 mV, respectively, in the first period of 0-5 minutes after penicillin administration.

When the effect of L. rhamnosus administration on the latency of the first epileptiform activity was examined, a statistically significant difference was found between the groups ($p=0.0001$)

When the effect of L. rhamnosus administration on time-dependent epileptiform activity spike wave frequency was examined, a statistical difference was found between the mean spike wave numbers of the groups between 36-120 minutes ($p<0.05$). However, there was no statistically significant difference between 0-35 minutes ($p>0.05$). When the effect of L. rhamnosus administration on total epileptiform activity spike wave frequency was examined, it was found statistically significant in terms of total spike wave frequency averages ($p<0.0001$).

When the effect of L. rhamnosus administration on spike-wave amplitude was examined, a statistically significant difference was found in terms of mean spike-wave amplitudes obtained from the groups 31-120 minutes after penicillin administration (except 81-85 minutes) ($p<0.05$).

In our study, SOD, CAT, and GPx levels in the tissues obtained from the LBR-treated groups were similar to the control group. When all studies were evaluated together, it was observed that probiotic supplementation alone did not affect oxidative stress. In our study, no statistical significance was observed in the serum GABA level of L. rhamnosus-treated rats. However, a significant increase in brain GABA levels was observed in the LBR-4 group.

Studies investigating the relationship between gut microbiome and epilepsy are quite limited. Many studies have shown that the reconstruction of gut microbiota by the ketogenic diet, probiotic supplementation, and fecal microbiota transplantation is effective in reducing seizure activity in drug-resistant epilepsy. No study on the effect

of LBR alone on epilepsy was found in the literature. Studies are generally combined probiotic studies. In a study examining the effect of probiotics in penicillin-induced focal seizure model in rats, it was reported that the latency of epileptiform activity was prolonged in experimental animals given oral probiotics for 30 days compared to the control group. The data support the findings obtained in the present study.

In our study, both the frequencies in the temporal section data and the mean spike wave frequency decreased in the LBR-treated groups compared to the control group.

Our study showed that LBR administration decreased the spike wave amplitude of epileptiform activity compared to the control group. A more effective reduction was found especially in LBR-10 and LBR-DZM-10 groups.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

In the groups in which LBR and penicillin were administered together, the latency of epileptiform activity was prolonged, but this was not found to be significant.

In the groups in which LBR and DZM were administered together, epileptiform activity latency was prolonged. This probably suggests that LBR has a synergistic effect on DZM,

Time-dependent spike wave frequency decreased in the LBR-treated epilepsy model,

Total spike wave frequency decreased in the epilepsy model with LBR,

Time-dependent spike wave amplitude decreased in the epilepsy model with LBR,

Serum and brain tissue SOD, CAT, and GPx levels of the LBR-treated groups were similar compared to the control group.

Brain GABA levels of LBR-4 treated groups were found to be higher compared to the control group,

In conclusion, more experimental and clinical studies are needed to demonstrate the role of probiotics in the treatment of neurodegenerative diseases, the importance of which is only beginning to be understood.

1. GİRİŞ

1.1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi, beyinde bir grup nöronun aşırı, hipersenkron ve nöbetlerin tekrarı ile karakterize bir hastalıktır [3]. İstatistiksel olarak her on kişiden birinde en az bir kere görülebilen epilepsi [4, 5], şüphesiz psikolojik, sosyolojik ve iktisadi kayıplara neden olmaktadır[6]. Epilepsi insan popülasyonunun büyük bir kısmını etkilemekle beraber [7], bebekler, çocuklar ve yaşlılarda görülme sıklığı daha fazladır[8]. Literatürde kırktan fazla nöbet tipi tanımlanmıştır. Bu nöbetlerin bir kısmı kolayca teşhis edilebilirken bazı nöbet tiplerinin çok hafif geçirilmesinden dolayı teşhisi güçtür. Hastanın nöbet tipi ve epilepsi çeşidi belirlenmeden antiepileptik ilaç kullanımı uygun değildir [9]. Nöbet tipinin sınıflandırılmasında ve herhangi bir yapısal bozukluğun belirlenmesinde elektroensefalografi (EEG) ve manyetik rezonans görüntülemeden (MRG) yararlanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda epilepsi tanısının zor konulmasından dolayı hastaların üçte biri hatalı teşhis nedeni ile yanlış tedavi edildiği veya boşu boşuna ilaç tedavisi yapıldığı gösterilmiştir[10]. Bazı eplepsi hastalarının ise şimdiye dek kullanılan tüm antiepileptik ilaçlara karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir [11]. Bu sebeple epilepsinin tedavisi için yeni ilaç geliştirmek amacı ile sürekli araştırmalar yapılmaktadır.

Epilepsi, glia hücreleri de dahil olmak üzere sinir sisteminin tüm hücrelerinin etkilendiği heterojen bir hastalıktır. Epilepside farklı nöbet tipleri, elektrofizyolojik, morfolojik, nörokimyasal, iyonik, metabolik ve endokrin değişiklikler sonucunda ortaya çıkabilir[12].

Epilepside paroksismal nöronal deşarjların başlaması ve yayılması, bir grup nöronun deşarj oluşturması ve bu nörönlarda eksitatör glutamaterjik sistemin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu aktivasyon, özellikle piramidal nöronlardaki N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin uyarımı ve eksitatör postsinaptik potansiyellerin (EPSP'ler) kolaylaştırılması ile gerçekleşir. GABA’erjik sistem bu nöronlarda NMDA reseptör aktivasyonunu baskılayarak antiepileptik işlev görür[13].

Devam eden nöronal elektriksel aktivite ve nöbetler esnasında üretilen, aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) hücre hasarına ve nöron ölümüne neden olabilmektedir. Bu oksidatif stres nöronların, hücre proteinlerinin, membran lipidlerinin yapısının bozulmasına ve DNA ve RNA'nın anormal değişikliklerine yol açmaktadır[14].

Oksidatif stres 1970 yılından itibaren çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS), organizmada pozitif veya negatif etkide bulunabilir [15]. Serbest radikaller ile antioksidan sistemler arasındaki dengesizlik durumuna oksidatif stres denilmektedir. Serbest radikaller, son yörüngesinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunduran kimyasallardır. Bu kimyasallar, süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO), hidroksil radikali (•OH) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) olarak bilinmektedir. Bu reaktif türler aerobik metabolizma sonucu üretilirler[16]. Aerobik metabolizma sırasında, mitokondri tarafından tüketilen az miktarda oksijen, H_2O_2 ve OH gibi reaktif türler oluşumuna neden olur [17].

Reaktif oksijen türleri, çeşitli fizyolojik işlevlerde görev alır. Bu işlevlere gen ekspresyonu düzenlenmesi, hücre sinyalizasyonu, hücre farklılaşması ve mikroorganizmalara karşı immün sistem yanıtı örnek verilebilir. Merkezi sinir sistemi nöronlarının, yüksek oranda mitokondri içermesi, aşırı oksijen ihtiyacı, yetersiz tamir kapasitesi ve fazla çoklu doymamış yağ asitlerini içermesi nedeniyle oksidatif strese daha fazla duyarlıdır [18]. Bu nedenle merkezi sinir sisteminde antioksidan sistem iyi gelişmiştir [19]. Oksidatif stres, hücre içi proteinler, lipidler ve DNA gibi hücresel moleküllerin yapısını değiştirebilir. Proteinlerin oksidasyonu hücre içi enzimlerin yapısını ve aktivasyonunu bozabilir [20]. Lipid peroksidasyonu, membran yapısını bozarak hücre permeabilitesinde hasara neden olabilir. Sonuç olarak özellikle beyinde, nöral membranların oksidatif hasarı nörotransmitter alımı ve salınımını olumsuz etkileyebilir. Ayrıca oksidatif hasar nöral iyonik gradientin bozulmasına sebep olabilir [21]. Patolojik koşulların bir sonucu olarak MSS'de reaktif oksijen tür seviyeleri arttığında, hücresel antioksidant sistem devreye girer ve oksidatif stres önlenmeye çalışılır [22]. Oksidatif stresin Alzheimer hastalığı, Amyotrofik Lateral Skleroz, Huntington hastalığı, Parkinson hastalığı ve inme gibi çeşitli nörolojik bozuklukların patogenezinde rol aldığı bilinmektedir [23].

Son dönemlerde epilepsinin önlenmesinde mikrobiyotanın önemi vurgulanmaktadır. İnsan vücudundaki bakteri, virüs, mantar ve protozoa gibi mikroorganizmaların tümüne 'mikrobiyota' denilir. Ortalama 70 kg'lık bir insan vücudunun yaklaşık 2 kilogramını mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Sayıları ise insan hücrelerinden oldukça fazladır ($3,8 \times 10^{13}$). Mikrobiyota'nın %70'inden fazlası, gastrointestinal sistemde simbiyotik olarak yaşamaktadır [24]. Gastrointestinal mikrobiyatanın 1000'den fazla mikroorganizma türü içerdiği ifade edilmektedir ve bunların alttür sayısı 7000'i geçmektedir [25]. Bu mikroorganizmaların ürettiği aktif metabolitler vücudumuzda değişik işlevlerde kullanılmaktadır. Mikrobiyotanın yerleşik olan Lactobacillus ve Bifidobacterler, monosodyum glutamattan GABA üretmektedirler. Bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığı üzerine etkileri günümüzde dahi iyi anlaşılmaya başlanmıştır. İlerdeki yıllarda insan sağlığı ve hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde daha fazla yer tutacağı öngörülmektedir [24].

Son dönemlerde yapılan çalışmaların birinde 17 yıllık epilepsi hastasına antiepileptik ilaçlar kesilerek fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) 20 ay boyunca uygulanmış ve çalışma süresince herhangi bir epileptik nöbetin gerçekleşmediği bildirmiştir[26]. Bu bulgu, bağırsak mikrobiyotası transplantasyonu ile epilepsi için yeni bir tedavinin mümkün olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan araştırmalarda mikrobiyota bağırsak beyin ekseni, beyin ve gastrointestinal sistem arasında çift yönlü bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir. Mikroboyota metabolitlerinin vagus siniri, immün mediatörler ve nörotransmisyonu değiştirerek nöronları etkilediği gözlenmiştir. Bazı nöropsikiyatrik bozukluklar için mikrobiyotaya dayalı tedaviler umut vericidir [27]. GABA, MSS'ye bağırsak beyin ekseni vasıtasıyla taşınmaktadır. Takanaga ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda kan beyin bariyerinde GABA taşıyıcılarının olduğu gösterilmiştir [28]. Bu da bakteri kombinasyonlarının MSS de GABAerjik nöronları etkileyerek beyinde çeşitli değişimlere neden olabileceğini göstermektedir. Farelerde yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca gavaj yöntemiyle günlük 1×10^9 cfu *Lactobacillus rhamnosus* verildiğinde, serebral metabolitlerin spektroskopik analizlerinde, yüksek derecede GABA seviyesi tespit edilmiştir. Sonuçlar, psikoaktif bakterilerin etki mekanizmalarının araştırılmasında mikrobiyotanın önemli olduğunu göstermektedir [27].

Glutamat ile GABA arasıda dengesizlik (glutamat artışı veya GABA azalması) epileptik nöbetlere neden olur. Bu durumu düzeltmek için kullanılan antiepileptik ilaçlar GABA seviyesini artırıcı veya glutamat seviyesini azaltıcı yönde etki ederek işlev görürler.

Epileptik nöbetler sırasında kaydedilen deşarjlara ait diken dalgalar, hem de bu dalgaların frekans ve genliklerinde belirgin değişikliklerin olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Nöbet sırasında meydana gelen bu değişikliklere epileptiform aktivite denilir. Bilimsel araştırmalarda kurallar gereği deney hayvanları kullanılır. Deney hayvanlarında birçok epilepsi modeli geliştirilmiştir. Kedilerde ve sıçanlarda korteks yüzeyine ve içine lokal penisilin uygulanmasının, periton içine penisilin enjeksiyonunun, epileptiform aktivite ürettiği bilinmektedir.

Biz de bu çalışmamızda mikrobiyotanın doğal üyesi ve probiyotik olarak güvenle kullanılan *Lactobacillus rhamnosus*' u sıçanlara gavaj yöntemi ile farklı gruplarda farklı sürelerde vererek, deneysel epilepsi ve serbest radikal oluşumu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. *Epilepsi*

Beyin nöronlarında yüksek elektriksel aktivitesinin nöbetlere sebep olduğu nörolojik hastalık epilepsi olarak adlandırılmaktadır. Beyindeki anlık ve yüksek elektriksel aktivite patlaması "nöbet" olarak tanımlanır ve beyin mesajlarını bir süreliğine iletemez. Epilepsinin en belirgin özelliği nöbetlerin tekrarlanmasıdır. Bu durumun sebebi beyindeki olağan dışı elektriksel deşarjlar veya hipersenkronize nöronal aktivitedir. O halde epilepsili tüm insanlar nöbet geçirirken, nöbet geçiren tüm bireyler epilepsiye sahip değildir [29]. Çoğu durumda epilepsi nöbetleri ile geçici farklı sebeplerle oluşan nöbetler (uyku bozukluğu, düzensiz kalp atımı) işin ehli olmayanlar tarafından karıştırılsa da epileptik [30] nöbetler, hastalığın altta yatan nöral mekanizmalarını yansıtan stereotipik davranış değişiklikleri ile karakterizedir ve tekrarlayan paroksismal olaylarla kolayca ayrılır [31]. Epilepsinin ayırıcı tanısı, bir dizi klinik durumu kapsar. Çoğu zaman, bir nöbetin gözlemlenmesiyle veya dikkatli bir öyküyle hastalık teşhis edilebilir.

Her yaştan, ırktan, sosyal sınıftan ve coğrafi bölgeden insanı etkileyen epilepsi en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir. Dünya üzerinde hastalığın sıklığı, seyri ve sonuçları; genetik yatkınlıkların ve çevresel risk faktörlerinin farklı dağılımlarından ötürü oldukça heterojendir. Etiyolojik bir etken tespit edilebilmesine rağmen, vakaların yaklaşık yarısında yine de neden bilinememektedir [31]. Nöbetlerin tekrarı, altta yatan nedenin tam bilinememesi, tedavinin olumsuz etkileri epilepsili hastaların yaşam kalitesini oldukça düşürmektedir.

1.2.1.1. Epilepsinin Tarihçesi

Ülkemizde 'Sara hastalığı' olarak da bilinen epilepsi hastalığı yaygın görülmasi nedeni ile tarihi kaynaklarda oldukça fazla yer alır. M.Ö. 718-612 yılları arasında eski Mezopotamya'da "Sakikku kil" tabletlerinde epilepsi hastalığından bahsedilir [32].

M.Ö. 1 000 de Babil'de hekimler şeytan ve kötü ruhların epilepsiye neden olduğunu, az uyuyanların ve duygusal- dertli insanların epilepsiye kolay gireceğini iddia etmişler nöbet tiplerini tanımlamaya çalışmışlardır [3].

Hipokrat M.Ö. 400'de epilepsiden mukaddes hastalık diye bahsetmiş ve bu isimle kitap yazmıştır. Antik Sümer'de epilepsi hastalığı "düşüren hastalık" olarak nitelenmiştir.

M.S.4 yüzyılda Bizans döneminde Oribasius tıbbi metinlerinde epilepsi hastalığına ve nöbetler sırasında yapılması gerekenlere yer vermiştir.

800-1100 yılları arasında İbni Sina ve Muhammed İbn Zekeriaya el Razi'nin epilepsi üzerine önemli çalışmaları olmuştur. İbni Sina'nın epilepsi hakkındaki kitabı 12. yüzyılda Latinceye çevrilerek Avrupa'da ve Orta Doğuda uzun yıllar istifade edilmiştir. Günümüze geline dek pek çok araştırmacı epilepsi ile ilgili birçok hipotez ve teori ortaya koymuşlardır [33].

1800 lü yıllarda John Huglings Jackson, epilepsinin gri cevher denilen beyin korteksinde oluşan boşalımlar sonucu ortaya çıktığını; korku ile epilepsi arasında bir bağıntı olduğunu ileri sürmüştür [34]. 19. Yüzyılda ayrıca Gowers ilk kez epilepsi sınıflandırması yapmış ve Dr. Caton tavşan ve maymunların kafatasından ilk EEG kaydı almayı başarmıştır [35].

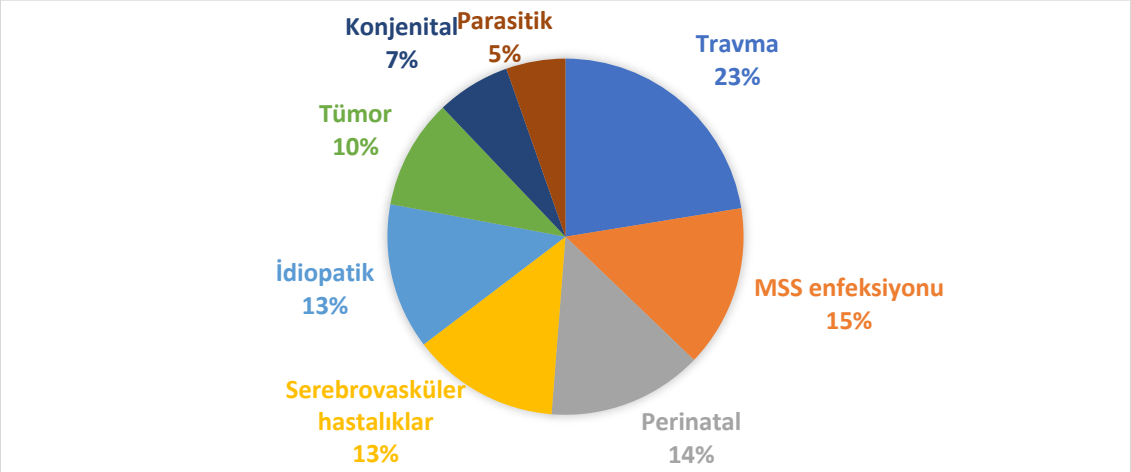
20. yüzyılın başlarında bazı Avrupalı doktorlar bir araya gelerek Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği'ni (International League Against Epilepsy, ILAE) kurdular. ILAE, 2. Dünya Savaşı sırasındaki kesinti dışında epilepsi hastalığı ve sosyal boyutları hakkında birçok konferans ve eğitimler vermişlerdir. Aynı kuruluş bilimsel çalışmalar yaparak uluslararası bir organizasyon haline gelmiştir [35].

1.2.1.2. Epilepsinin Epidemiyolojisi

Baş ağrısından sonra ayaktan tedavi başvurusu yapılan nörolojik bozukluk epilepsidir [36]. Prevalans, bir popülasyonda, belli bir zamanda bir hastalığa sahip tüm olguların oranıdır. Gelişmiş ülkelerde daha az olmakla birlikte Dünya genelinde epilepsi prevalansı ortalama % 0,8 dir [37]. Epilepsi prevalansı popülasyonlarda farklılıklar gösterdiği (0,3-42/1000) gibi epilepsi insidansı (yıllık yeni vaka sayısı) da birtakım faktörlere göre değişmektedir. Yaş, cinsiyet, sosyoekonomik durum epilepsi prevalans ve insidansını etkileyen temel parametrelerdir. Ülkemizde 1997-2013 yılları arası yapılan farklı bölge çalışmalarında ortalama her on bin kişiden 73 ünün epilepsi hastası olduğu tespit edilmiştir [3]. Türkiye'de yaklaşık 787.000 aktif epilepsi hastası bulunmaktadır [38].

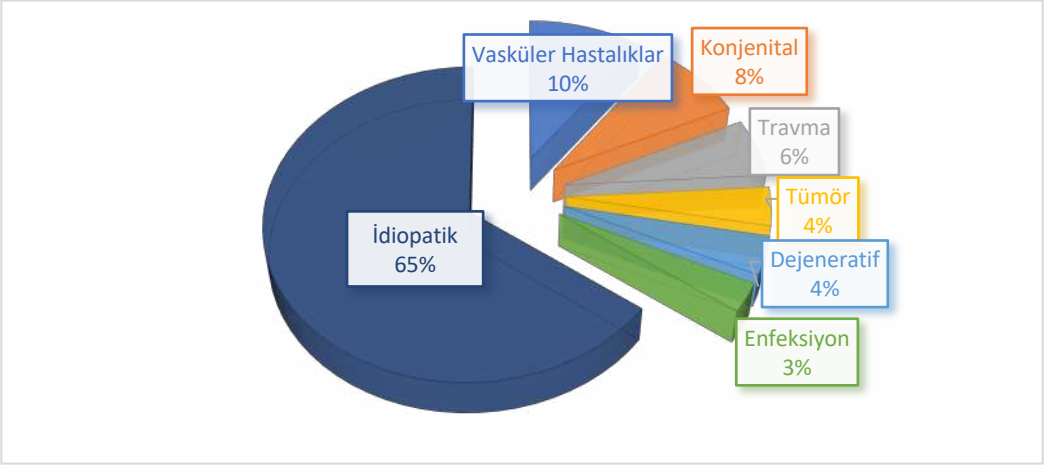
1.2.1.3. Epilepsinin Etiyolojisi

Epilepsi Dünya'da elli milyon insanı etkileyen en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir. WHO verilerine göre epilepsinin etiyolojisinde en sık görülen nedenler; MSS enfeksiyonları, prenatal ve perinatal tehlike faktörleri ile serebrovasküler hastalıklardır [35]. Bu sebepler dışında nörodejeneratif bozukluklar, korteks bozuklukları, çocuklukta geçirilen ateş yükselmesi nöbetleri ve genetiksel nedenler epilepsinin nedenleri arasındadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Epilepsi etiyolojisinde sık görülen sebepler

Buna rağmen epilepsi nedenlerinin %50 den fazlası idiopatiktir (patolofizyolojisi bilinmeyen). Günümüzde epilepsiye sebep olan etkenler; genetiksel rahatsızlıklar, konjinetal rahatsızlıklar, kafa travmaları, doğum öncesi ve hemen sonrası komlikasyonlar, nörodejeneratif hastalıklar, beyin tümörleri, menenjit ve ensefalit gibi enfeksiyonlar, bazı vasküler rahatsızlıklar olarak sıralanabilir [3] (Şekil 1.2).



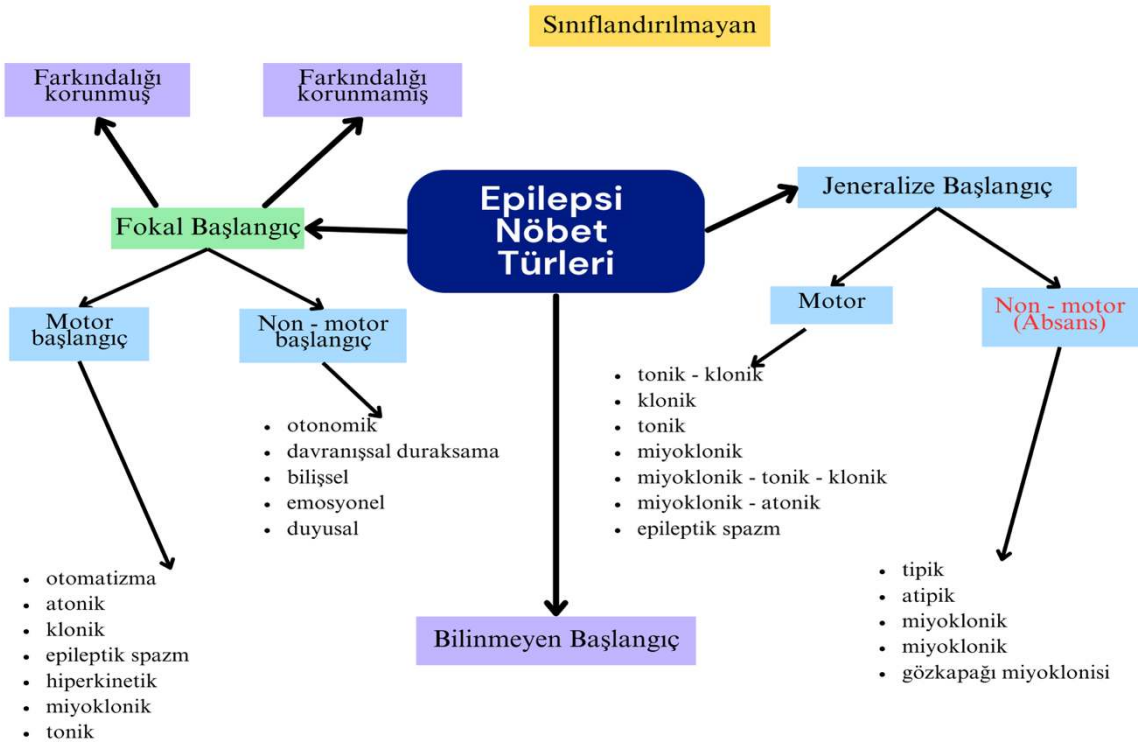
Şekil 1.2. Günümüzde epilepsinin nedenleri

1.2.1.4. Epilepsinin Sınıflandırılması

1964 yılında ilk kez Henry Gastaut bir epilepsi sınıflandırması önermiş, ILAE 1981 ve 1989 yıllarında bu sınıflandırma üzerinden değişiklikler yapmıştır. Şu anda en son epğilepsi sınıflaması 2017 yılına ait sınıflamadır. Bu sınıflandırma ile hem klinisyenlerin arasındaki iletişim sağlanmış hem de taksonomik bir temel oluşturarak evrensel bir sözlük oluşturulmuştur. Elbette zamanla nörolojik görüntüleme teknolojileri ilerledikçe bu sınıflandırmada ve terimsel ifadelerde değişikliklere gidilmiştir. Günümüzde epilepsi sınıflandırılması (Şekil 1.3) gibi yapılmaktadır [39].

Temel olarak epileptik nöbetler fokal (parsiyel) ve jeneralize nöbetler olmak üzere ikiye ayrılır. Beynin bir bölgesinden başlayan nöbetler parsiyel, beynin birçok bölgesinden başlayan nöbetler ise jeneralize nöbetlerdir. Bazı nöbetler ise bilinmeyen başlangıca sahiptir.

Fokal nöbetler, başlangıçta farkındalığı korunmuş ve farkındalığı bozulmuş nöbetler olarak ikiye ayrılır. Farkındalığın korunduğu nöbetlerde hastanın bilinci yerindedir ve vücudun sadece bir kısmında (fokal) nöbet etkisi görülmektedir. Farkındalığın korunmadığı nöbetlerde ise fokal bir nöbet geçiren hastanın bilinci bozulmuş haldedir.



Şekil 1.3. ILAE 2017 işlevsel nöbet sınıflaması genişletilmiş sürüm [39]

Temel nöbet türlerinin tümünde başlangıç motor veya non-motor olabilir. Non-motor jeneralize nöbetler absans nöbetler olarak da bilinir.

Fokal motor başlangıçlı otomatizmde, amaçsız tekrarlayıcı motor aktivite; atonik nöbetlerde, tonus kaybı; tonik nöbetlerde, uzun süreli kasılma; klonik nöbetlerde, düzenli aralıklı ritmik kasılma/atma; miyoklonik nöbetlerde, düzensiz aralıklı kısa süreli kasılma/atma gözlenmektedir. Epileptik spazm tipli fokal nöbetlerde gövdenin kıvrılması ile beraber kollarda bükülmeler veya gerilmeler olabilir.

Jeneralize nöbetler ise aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

- Tonik-klonik nöbette (Grand mal) bilinç kaybolur, kaslar sertleşir ve ani sarsıntı (jerk) şeklinde kasılmalar olur.
- Absans nöbette (Petit-mal) bilinç kaybolur ve hasta hareketsiz kalır.
- Miyoklonik nöbette şok şeklinde kısa kısa, kas veya kaslarda ani kasılmalar görülür.
- Klonik nöbet: tekrarlayan jerklerin olduğu nöbettir.
- Tonik nöbette kaslar kasılı halde kalmaktadır.
- Atonik nöbette ise kas tonusunun kaybolur.

Epileptik spazmlar klonik kasılmadan daha uzun miyoklonik kasılmalardan ise daha az sürdüğü için bu adı almıştır.

Epilepsinin sınıflandırılması dinamik bir süreç olup tıbbi gelişmelerle yeni tasnifler, tanımlamalar ve değişiklikler görülebilecektir.

1.2.1.5. Epilepsinin Patofizyolojisi

Hiperekstrabilite ve hipersenkoni, nöronların aşırı elektriksel deşarjlarına neden olmaktadır. Bu durum epsilepsi hastalığının temel sebebi olarak gösterilir. Beynin bir veya birkaç bölgesinde eksitasyon-inhibisyon dengesinin eksitasyon lehine kayması hücrenin uyarana aşırı yanıt vermesinin (hiperekstrabilite) ve korteksteki diğer hücrelerde de zamansal ve mekânsal sumasyonun (hipersenkroni) artmasının sonucudur. Eksitasyon-inhibisyon dengesinin eksitasyon lehine bozulmasının sebepleri aşağıda sıralanmıştır. Bu sebeplerin biri veya birkaç tanesi aşırı elektriksel deşarjlara neden olabilir.

- Genetik bir nedenden ötürü eksitasyon sırasında açılan Na^+ ve Ca^{++} kanallarının olması gerekenden daha düşük depolarizasyon seviyelerinde açılması nöral hiperekstrabiliteye yol açabilir.
- Zar dinlenim potansiyeli dinamiklerinden olan K^+ kanallarının ve aksiyon potansiyelini engelleyici Cl^- kanallarının geçirgenliklerinin azalması
- Merkezi sinir sisteminin birincil eksitatör nörotransmitteri Glutamatın sinapsa fazla salgılanması (hücrelere Na^+ girişini artırıp Eksitatör Post Sinaptik Potansiyale-EPSP- neden olur)
- Beynin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA nın etkinliğinin azalması (Cl^- kanallarının açılıp hücre içinin aşırı negatif olmasını sağlar ve uyarılabilirliği azaltır)
- GABA reseptörlerinin bozulması veya NMDA reseptörlerinin (aşırı glisin uyarır) aşırı uyarılması hiperektrabilite sebebidir.
- Beyin hasarlanması sonucu oluşan skar dokusunun sağlıklı nöron hücrelere yaptığı basıncın artması ektrabiliteyi artırır.
- Normal durumda Astrositler presinaptik aralıktaki Glutamatı alır ve GABA yapımı için inhibitor noronlara verirler. Bozulmuş astrositlerde ise bu yolaklar bozulmuştur, normal sinirsel uyartılar daha da şiddetlenerek iletilir.
- Down sendromu gibi genetik hastalıklarda gözlenen dentrit yapı ve çıkıntıların bozulmasının nöron içi akım değişimine neden olması eksitasyona yol açabilir.

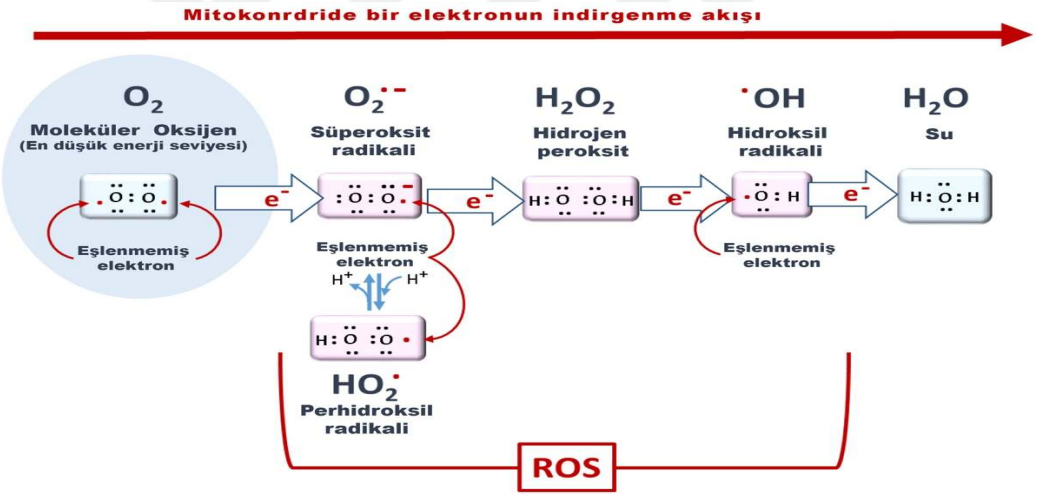
Sıralanan sebeplerin ortak noktasının yüksek eksitasyon ve düşük inhibisyon olduğu görülmektedir. Sadece bu nedenler değil edinsel faktörler de (enfeksiyon, travma, tümör ve nörodejeneratif hasarlar) epileptik nöbetlerin altında yatan tıbbi koşulların sebebi olabilir. Epilepsi, altta yatan sebeplerin ve ortaya çıkan sonuçların birlikte düşünüldüğünde oldukça kompleks bir hastalıktır ve halen tam bir tedavisinin bulunmamaktadır. Mevcut bilimsel çalışmalar ile epilepsi hastalığı hakkında bilgilerimiz arttıkça uygun tedavi yöntemleri de gerçekleştirilebilecektir.

1.2.1.6. Epilepsi Gelişiminde Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Son 30 yılda serbest radikallerin birçok hastalığın gelişiminde rol oynadığına dair yayınlar yapıldı. Çevre toksinlerinin organizmaya verdiği hasardan yaşlanmaya kadar birçok patolojik durumun sebebi olabilen serbest radikallerin diyetteki antioksidanlarla nötralize edilebileceğine dair kanıtlar mevcuttur. Serbest radikallerin nörodejeneratif

hastalıklarla özellikle de epilepsi sebeplerinden birisi olduğu hakkında çalışmalar vardır[40].

Serbest radikaller, son yörüngesinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunduran kimyasallardır. Bu elektron dengesizliği, kararlı hale gelebilmek için başka kimyasallarla reaksiyona girme iştahını artırır. Organizmadaki başlıca serbest radikallerin kaynağı moleküler oksijendir. Moleküler oksijene bir elektron eklenmesi ile oluşan süperoksit anyonu (O_2^-) vücutta en çok oluşan serbest radikaldir. Bunun dışında hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO), hidroksil radikali (•OH) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi serbest radikaller de vardır. Bu reaktif türler aerobik metabolizma sonucu olarak üretilir [16]. Hücre içinde sitokrom P450, NADPH oksidaz (NOX), nitrik oksit sentazlar ksantin oksidaz (KO), prostaglandin sentazlar ve mitokondrideki elektron taşıma zincirindeki enzimlerin ROS/RNS (ROS, Reactive oxygen species; RNS, Reactive nitrogen species) üretmesi vücudumuzda tabi olarak serbest radikallerin oluştuğunu gösterir (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Oksijen suya indirgenirken oluşan reaktif oksijen türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS), organizmalarda pozitif veya negatif etki gösterebilir [15]. ROS, immünolojik tepkimelerde, hücre farklılaşması ve sinyalizasyonunda, gen ekspresyonu düzenlenmesinde görev alır. Hücrede okside olabilecek maddelerin (lipid, protein, DNA gibi) serbest radikaller tarafından oksidasyonunu engelleyen maddelere antioksidan denir. Hücrelerimizde serbest radikaller için savunma hattı olan antioksidan savunma sistemleri vardır[41]. Normal koşullarda ROS ile onları etkisiz kılan antioksidanlar arasında bir denge vardır. Oksidatif stres, serbest radikaller ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozulmasıdır. Denge bozulması ile ROS veya RNS hücrede birikir. Merkezi sinir

sistemi nöronlarında, mitokondrinin çok olması, yüksek oksijen ihtiyacı, yetersiz tamir kapasitesi ve yüksek seviyede çoklu doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif strese ve oksidan hasara karşı daha fazla duyarlıdır [18]. Dolayısıyla merkezi sinir sisteminde reaktif oksijen türleri seviyesi etkin olarak kontrol edilir [19]. Oksidatif stres, özellikle hücre içi proteinler, lipidler ve DNA gibi hücresel moleküllere zarar verebilir. Proteinlerin oksidasyonu hücre içi enzimlerin yapısını ve aktivasyonunu değiştirebilir [20]. Lipid peroksidasyonu, membran yapısını bozarak hücre permeabilitesinde değişikliklere neden olabilir. Bu durum hücrenin aşırı uyarılmasına yol açar. Sonuç olarak özellikle beyinde, nöral membranların oksidatif hasarı nörotransmitter alımı ve salınımını olumsuz etkileyebilir. Ayrıca oksidatif hasar nöral iyonik gradientin bozulmasına sebep olabilir [21]. Oksidatif stresin Alzheimer, Parkinson, Huntington, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ve inme gibi çeşitli nörolojik bozuklukların patogenezinde rol aldığı bilinmektedir [23]. Patolojik koşulların bir sonucu olarak MSS'de reaktif oksijen türleri seviyeleri arttığında, hücresel antioksidant sistemi aktiflenir ve oksidatif stres meydana gelir [22].

Antioksidanlar değişik mekanizmalarla serbest radikalleri elemine ederler. Serbest radikallerin tutulması veya daha az zararlı hale dönüştürülmesi ile, serbest radikallere hidrojen eklenerek etkisizleştirilmesi ile veya serbest radikallerin etkilediği molekülleri onararak görevlerini yerine getirirler [42]. Hücrelerde üretilen antioksidanlar (enzimatik) olduğu gibi diyetle dışardan aldığımız antioksidanlar da vardır. Hücrelerimizde enzim şeklinde olan antioksidanlar süperoksit dizmutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP) ve katalazdır (CAT). A, E ve C vitaminleri, fenolik maddeler, resveratrol, kuersetin ve kateşin gibi flavonoidler diyetle dışardan alınan antioksidanlardır.

Süperoksit Dismutaz (SOD) oksijen toksiditesine karşı savunmanın en önünde yer alır ve en önemli antioksidan savunma sistemidir. Süperoksitler membranları aşamadığı için sitoplazma, mitokondri hücre dışında olmak üzere üç tipi vardır. SOD-1 sitoplazmada yer alır ve yapısında bakır (Cu) ve çinko (Zn) içerir. SOD-2 mitokondride bulunur ve manganez (Mn) içerir. Ekstraselüler olan SOD-3 ise hücre dışı sıvılarda yer alır bakır (Cu) ve çinko (Zn) içerir. SOD seviyesinin düşmesi serbest radikal oluşumunu arttırır. SOD lar süperoksit radikallerini O_2 ve hidrojen perokside (H_2O_2) dönüştüren reaksiyonları katalizler. $O_2^{*-} + O_2^{*-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} O_2 + H_2\,O_2$

Glutatyon peroksidaz (GP), hidrojen peroksidin (H_2O_2) mitokondri ve sitoplazmada yıkımını sağlayan bir enzimdir. Selenyum içeren GP, glutatyonu okside etmek için H_2O_2 kullanır. Ayrıca GP, glutatyonu kullanarak lipid peroksidayonunu engeller.

$2\text{GSH} + 2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GP} 2GSSH + 2H_2O$ (GSH, redükte glutatyon; GSSH, okside glutatyon)

Katalaz (CAT) enzimi temel olarak peroksizomlarda bulunur. H_2O_2 parçalayıp su ve oksijen oluşturur. $H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$

Mevcut antioksidan sistemlerin işlevlerinin bozukluğu serbest radikallerin artması ile oksidatif strese sebep olmaktadır. Birçok çalışma oksidatif stresin epileptik nöbetlerin oluşumunda ve ilerlemesinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

Oksidatif stresin epilepsiye katkıda bulunabileceği düşünülen bazı mekanizmalar şunlardır:

1. Serbest radikallerin sinir hücrelerine zarar vermesi: Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikaller, sinir hücrelerinin yapısını ve işlevini bozabilir, nöronlara zarar verebilir ve epileptik nöbetlere yol açabilir.
2. Antioksidan sistemin bozulması: Oksidatif stres, antioksidan savunma sistemlerinin zayıflamasına veya bozulmasına neden olabilir. Bu durumda, vücut serbest radikalleri etkili bir şekilde nötralize edemez ve oksidatif stresin zararlı etkileri artar.
3. İnflamasyon süreçleri: Oksidatif stres, inflamasyonu tetikleyebilir veya artırabilir. İltihaplanma, epileptik nöbetlerin oluşumunda önemli bir rol oynayabilir.

Bununla birlikte, oksidatif stresin epilepsiye etkisini daha iyi kavramak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Epilepsinin çok çeşitli nedenleri olduğundan, oksidatif stresin epilepsiye katkısını değerlendirmek karmaşık bir konudur ve tek bir mekanizmanın epilepsinin tüm formlarında geçerli olup olmadığı henüz ispatlanmamıştır.

1.2.2. *Beyin Korteksi*

İnsan beyninin en büyük bölümü olan beyin korteksi (Serebellum) oldukça geniş yapısı ve beynin yüksek fonksiyonlarının kontrol merkezi olarak dikkat çeker. İnsan beyni lob olarak frontal, parietal, temporal ve oksipital lob olarak dört temel bölgeye ayrılır. Ayrıca serebellumun dıştan içe doğru moleküler, dış granüler, dış moleküler, iç granüler, iç piramidal ve fusiform tabaka olmak üzere altı tabakadan oluştuğu göze çarpar. Her tabakanın kendine has dikenli yıldız hücreler, düz yıldız hücreler ve piramidal hücrelerden oluşan hücre kompozisyonları bulunur. Özellikle konumuz itibari ile dikenli ve düz yıldız hücreler dikkat çekicidir. Affrent girdileri talamus ve korteksin değişik yerlerinden alan dikenli yıldız hücreler eksitatör etkilidir. Düz yıldızlı hücreler ise inhibitör etkiye sahiptir. Her iki hücre tipi de piramidal hücreleri sinapsları ile etkiler. Nitekim dikenli yıldız hücreler glutamat ile eksitatör etki, düz yıldız hücreler GABA ile inhibitör etki oluştururlar [43]. Aspartat ve glutamat gibi eksitatöt etkili nörotransmitter salgılayan piramidal hücreler korteksin iç piramidal tabakasında bulunan hücre gövdesine rağmen değişik katmanlara uzanan akson ve dendritleri ile hemen hemen tüm tabakalardaki hücreler ile bağlantılıdır [44].

Beyin korteksinda sinapslar iki kısma ayrılır. Tip I sinapslar dentritlerin çıkıntılarında bulunan eksitastör özellikli sinapslardır. Tip II sinapslar ise hücre gövdesi ve dendritlerde bulunur ve genelde inhibitör özelliktedir. Tip II sinapslar korteksin karar merkezlerinde oldukça fazladır. Bu sayede uyarıcı yolakların etkisi kontrol altına alınır [45].

Mikroglia, oligodendrosit ve astrosit gibi nöroglia hücreleri beyin korteksinde diğer nöroglialara nispeten daha fazla yer alan hücrelerdir. Bu hücreler sinyal üretmese ve aksiyon potansiyeli oluşturmasa da nöronal aktivite sırasında ortamda hızla artan K^+ konsantrasyonunu azaltmada; nörotransmitterleri ve toksinleri ortamdan uzaklaştırmada etkili bir tampon görevi yaptıkları sanılmaktadır [46].

1.2.2.1. Elektroensefalogramın Fizyolojik Temeli

Elektroensefalogam (EEG) kafa derisi açılmadan kafa derisi elektrotları ile veya açılmış kafa tasında beynin üzerine veya içine yerleştirilmiş elektrotlar ile beyindeki potansiyel değişikliklerin kayıt işlemidir. Klinikte epilepsi tanısında oldukça önemli bir yeri olan EEG nöbetlerin ayırt edilmesinde ve nörofizyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır.

Elektrokortikogram (ECoG) ise beyindeki sinir hücrelerinin aksiyon potansiyellerini EEG'den daha iyi gözlemlemeyi sağlayan beyin sinyallerini kaydetme yöntemidir.

Nöral bir etkinlikte aksiyon potansiyelleri oluşur. Oluşan aksiyon potansiyelleri EEG ile ölçülmesi mümkün olmayacak derecede küçük elektriksel değişimlerdir. EEG de görüntülenen dalgalar çoğunlukla kortekste yer alan yüzbinlerce piramidal nöronun sumasyonunun (kavşak ardı potansiyellerinin) görüntüsüdür.

EEG de görüntülenen desenler genlik ve frekansları birbirlerinden ayırt edilebilen farklı dalga şekilleridir. Genlik (dalga yüksekliği) elektronların algıladığı benzer elektriksel etkilerin toplamını ifade eder ve birimi Mikrovolt (μV) dur. Genlik büyük ise nöronların eş zamanlı olarak etkinleştiğini, genlik küçük ise ya eş zamansız nöron aktivitesini ya da nöronların daha az etkinleştiğini ifade eder. Frekansın birimi hertz (Hz) ve dalganın sıklığını gösterir. Genelde EEG dalga frekansları büyük ise uyanıkken ve bilinç açıkken, frekans küçük ise uyku ve bayılma gibi hallerde görüntülenir [47].

1.2.2.2. Elektroensefalogramda elde edilen dalga tipleri

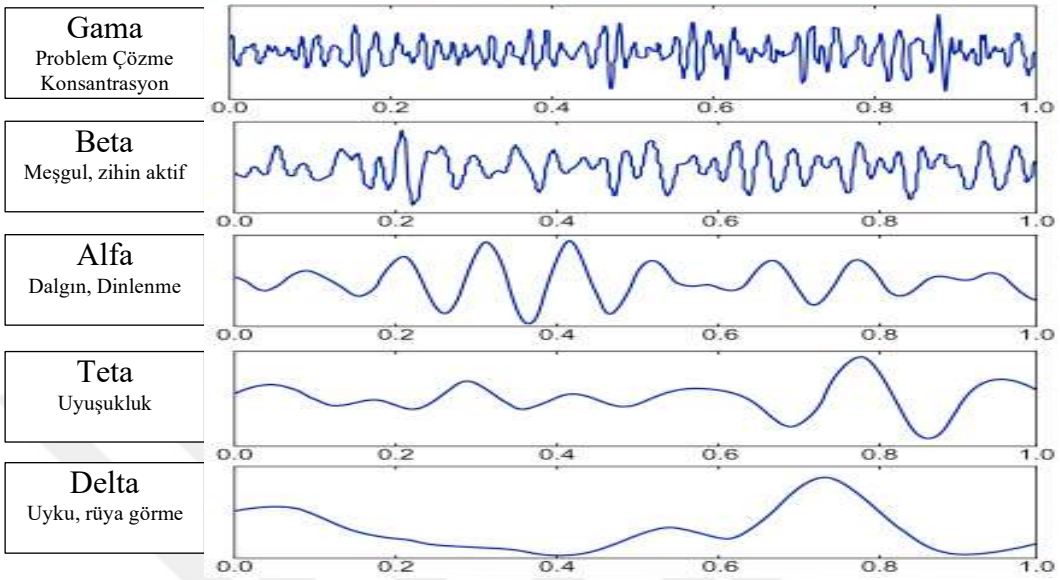
Gerek deri gerekse kafatası EEG dalgalarının yüksekliğini azaltıcı etki gösterse de insanda saçlı deride 1-30 Hz arası frekans, 20-100 μV arası genlik ölçülür. Yapılan bu ölçümler kişinin yaşı, uyku-uyanıklık durumu, ilaç alıp-almadığı gibi faktörlere göre değişse de temelde beş temel dalga grubu ayırt edilebilir [48](Çizelge 1.1).

Alfa Dalgaları (8-13 Hz): Rahatlık ve dinginlik durumunu ifade eden bu dalgalar kişi uyanıkken elde edilir. Uykuda kaybolan alfa dalgalarının oluşmasında talamus, beyin sapı ve ön beynin karmaşık iş birliği etkilidir [49]. Azalmış dikkatle ilgili olan alfa dalgaları birçok memelide birbirine oldukça benzer.

Çizelge 1.1. EEG'lerde kaydedilen beyindeki temel 5 dalga

Dalga Adı	**Frekans (Hz)**	**Genlik (μV)**
Alfa	8-13	2-10
Beta	13-30	1-5
Delta	0.5-4	20-200
Teta	4-8	5-100
Gama	35-50	200-800

Beta Dalgaları (13-30 Hz): Beynin aktif olduğu düşünme, karar verme gibi etkinliklerinde kaydedilir. Bu dalgalar kaydedilirken gözler açık konumdadır. Beta dalgalarının genlikleri düşük frekansları ise yüksektir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Temel 5 dalganın EEG görünümü[2]

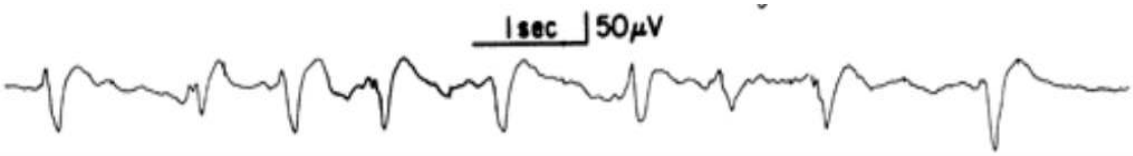
Delta Dalgaları (<4 Hz): Frekansı en düşük dalgadır (Şekil 2.5) ve derin uykudayken kaydedirlir. Hidrosefali, ensefalopati ve korteks altı lezyon varlığında gözlemlenebilir. Çocuklarda ise oksipital bölgede, erişkinde frontal bölgede daha sık gözlemlenen osilasyondur.

Teta Dalgaları (4-8 Hz): Uyku ile uyanıklık arasındaki durumu (uyuklama) kaydedilen dalgalardır. Uykuya dalan kişilerde ilk önce teta ritmi gözlemlenir. Düşünceli ve hayal kurma durumunda da görülür. Hidrosefali, ensefalopati ve korteks altı lezyon varlığında teta dalgalarının sıklığı gözlemlenmiştir.

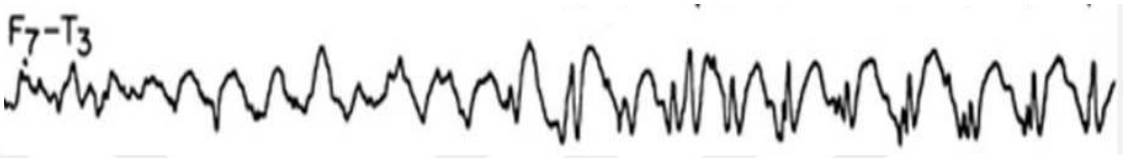
Gama Dalgaları (>30 Hz): Aşırı zihinsel aktiviteler sırasında gama dalgaları kaydedir. Özellikle erişkinlerde dikkatin bir noktaya odaklanması sırasındaki osilasyondur[50].

EEG kayıtlarına dikkatlice bakıldığında dalgaların bazıları çok kısa sürede bazıları ise nisbeten daha uzun sürede gerçekleştiği görülür. Süresi 20-70 milisaniye süren dalgalar diken (spike) adını alır. Süresi 70-200 milisaniye olan dalgalar keskin dalga; teta ve delta dalgaları gibi 200 milisaniyeden daha uzun süreli dalgalar ise yavaş dalga adını alır (Şekil 1.6). Genelde bir dikenden sonra bir dalga gelse de (diken-dalga ikilisi) üç fazlı dalgalar ve periyodik lateral şarjlar da görülebilir.

Diken



Keskin Dalga



Diken- Dalga ikilisi

Şekil 1.6. Beyinden kaydedilen EEG de spike, keskin dalga ve diken-dalga kompleksi [1]

1.2.3. *Deneysel Epilepsi Modelleri*

Beyindeki bir grup nöronun aşırı, hipersenkron ve nöbetlerin tekrarı ile karakterize epilepsi hastalığı dünya nüfusunun önemli bir kısmını olumsuz etkilemektedir. Maalesef epilepsi ile ilgili etkin bir ilacın olmaması maddi ve psikolojik olumsuzluklar doğurmaktadır. Bu nedenle bilimi insanları epilepsinin altında yatan sebepleri ve etkin ilaçlar ile tedaviyi bulmak üzere deneysel çalışmalar yapmaktadır. İnsanlar üzerindeki araştırma ve deneysel çalışmaların sınırlı olması dolayısı ile deneysel hayvan modelleri geliştirilmiştir. Fiziksel uyaranlar (elektriksel, soğuk, sıcak, basınç vs.), kimyasal konvülsanlar, yapısal lezyonlar ile deneysel epilepsi modelleri geliştirildiği gibi bazı hayvanların bazı alttürleri genetiksel olarak epilepsiye kolayca girebilme eğilimindedir.

Deneysel epilepsi modellemelerindeki esas, insandaki epilepsi nöbetlerindeki gibi EEG görüntülerinin, nöbet tekrarlamalarının benzerini üretebilmektir. Böylece bu modeller üzerinde geliştirilen ilaçların akut ve kronik etkileri test edilebilecektir. Unutulmamalıdır ki epilepsi basit ve tek sebepli bir hastalık değildir. Hayvansal modellerde oluşturulan tekrarlayan nöbetlerin ve kullanılan ilaçlarla tedavisinin insanlardaki epilepsi sebep ve tedavisini açıklaması oldukça iddialı olacaktır ama bize yeni fikirler vermesi bilimsel çalışmaların devamı için yol açıcıdır.

Elliden fazla deneysel epilepsi modeli geliştirilmiştir. Oluşturulan epilepsi modellerinde basit parsiyel (akut- kronik), kompleks parsiyel, genelarize tonik-klonik, generalize absans ve status epileptikus nöbet tipleri oluşturulabilmektedir (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Epilepsi Nöbet tipleri [51]

Nöbet Tipi	Etken	Model	
Basit Parsiyel, Akut		• Penisilin • Pikrotoksin	• Bikukulin • Strikinin
Basit Parsiyel, Kronik	1. Kortikal implante edilen metaller 2. Kriyojenik hasar	• Alüminyum hidroksit • Çinko • Demir	• Kobalt • Manganez
Kompleks Parsiyel		• Kainik asit • Tetanos toksini	• Tutuşma (Kindling)
Generalize Tonik-Klonik	1. Genetik	• Fotosensitif babunlar • Moğolistan gerbilleri • Genetik epilepsi eğilimli sıçan	• Odyojenik nöbetli fareler • Epilepsili fareler
	2. Maksimal elektroşok		
	3. Kimyasal konvülsanlar	• Pentilentetrazol • Pikrotoksin • Metiyonin sulfoksimid	• Sistemik penisilin • Bikukulin • Bemegride
	4. Metabolik bozukluklar	• Hipoksi • Hiperbarik oksijen • İlaç yoksunluğu	• Hipoglisemi • Hiperkarbi • Yüksek sıcaklık
Generalize Absans		• Talamik uyarılma • Bilateral kortikal odaklar • İntraventriküler opiatlar	• Sistemik penisilin • Kobalt-homosistin
Status Epileptikus		• Lityum-pilokarpin	• Tekrarlayan uyarılar

1.2.3.1. Basit Parsiyel nöbetlerin Hayvan Modelleri

Basit parsiyel nöbet oluştururken inhibitör amino asit blokerlerinin (kimyasal konvülsanlar) bölgesel veya noktasal olarak kullanılabilir. Penisilin, bikukulin, pikrotoksin, strikinin gibi kimyasallar hızlı bir şekilde deney hayvanını nöbete sokabilir. Ayrıca kortikal olarak implante edilen metaller de nöbete sebep olabilir. Bunun dışında akut noktasal elektriksel uyarım, noktasal eksitatör uygulanması, GABA yoksunluğu oluşturma ve kriyojenik hasar oluşturma da basit parsiyel nöbet oluşturabilir [52].

1.2.3.2. Penisilin Modeli

Açık beyin ameliyatlarında antibakteriyal olarak penisilin uygulamasının epilepsi nöbetine sebep olması penisilinle oluşturulan epilepsi modelinin bulunmasının başlangıcı olmuştur. İlk defa Walker tarafından tanımlanan penisilin modeli [53] epilepsinin nörolojik temelleri ve nöbet aktivitelerinin gözlemlenmesi ve analiz edilmesi hususunda oldukça iyi bir modeldir.

Penisilinle ıslatılmış bir pamuğun deney hayvanının (sıçan, kedi) korteksine yerleştirilmesi veya neokortekse penisilin enjeksiyonu sonrası birkaç dakika içinde kortikal alanda insan korteksindeki nöbetlere benzeyen diken dalgalar ECoG de gözlemlenebilir.

Penisilin modeli uygulanacak deney hayvanının kafa tası belli bir miktar açılıp dura materin hemen altına belli bir miktar penisilin verildiğinde genel olarak beş dakika içinde akut parsiyel epilepsi kayıtları alınabilir. İlk dakikalarda lokal başlayan epilepsi daha sonra yayılarak generalize epilepsiye sebep olur. Verilen doza göre hipokampüs hacminde azalma olsa da dentat giruslarda hacimsel veya nöronal kayıp olmaz [54].

Penisilin modelinde epilepsi oluşumunun temelinde GABAnerjik inhibitör sistemin bloklanması ve nöron kaybı yer alır. Penisilin bir $GABA_A$ reseptörü olan $GABA_AR$ antagonistidir [55]. $GABA_AR$ nin mutajenik olduğu bildirilmektedir [56, 57].

1.2.3.3. Bikukulin, pikrotoksin ve striknin modelleri

Yapısal olarak penisiline benzeyen bikukulin bitkisel bir alkoloiddir ve GABA antagonistidir. GABA reseptörünün klor kanalları ile meydana getirdiği inhibisyonu bloke ederek epileptik nöbet oluşturur [58]. Sıçan beynine kortikal uygulanabildiği gibi subkutanöz intravenöz olarak da uygulanabilir.

Pikrotoksin *Anamirta cocculus* bitkisinin meyvesinde doğal olarak bulunan ama yapay olarak da elde edilebilen bir klor kanalı antagonistidir. GABA tarafından aktive edilen klorür kanallarından iyon akışını önlediği bilinmektedir [59].

Striknin *Nux vomica* ağacından üretilen zehirli bir alkoloiddir. Striknin bir glisin antagonistidir. Striknin glisin ile aynı reseptöre bağlanarak, glisinin postsinaptik nöron üzerindeki inhibe edici etkilerini önler ve çok düşük seviyelerde uyarıcı nörotransmiterler ile aksiyon potansiyeli oluşturur [60, 61].

1.2.3.4. Kortikal implante edilen metallerin modelleri

Alüminyum hidroksit, kobalt, çinko, demir, bakır ve manganez gibi metaller deney hayvanının genelde korteksine uygulandıktan sonra nöbet oluşumu gözlenebilir. Nitekim alüminyum hidroksit serebral kortekse uygulandığında fokal tipte basit parsiyel nöbetler oluştuğu belirlenmiştir [62].

Sıçan ve kedilerin talamus veya motor kotreksine uygulanan toz veya tel halindeki kobalt status epilepsikuslu hastalara benzer epileptik etkiler göstermiştir [63, 64].

Çinko sülfat solüsyonunun kortekse enjeksiyonu sonucu deney hayvanlarında klonik nöbetler gözlenir [55].

İnsanlarda gözlenen travma sonrası epilepsi oluşumuna benzer epilepsi modeli demir kullanılarak oluşturulabilmektedir. Bu model antiepileptik ilaçların etkilerini incelemek için farmakolojide yaygın kullanılmaktadır [65, 66].

1.2.3.5. Kriyojenik hasarla oluşturulan epilepsi modeli

Etil klorid sprey veya dondurulmuş buşon ile korteksin belli kısımlarının dondurularak lezyona sebep olunması epilepsi nöbetlerine neden olmaktadır [67].

1.2.3.6. Kompleks parsiyel nöbet modelleri

Kainik asitin amigdala, substantia nigra, hipokampus ve striatuma direk olarak enjeksiyonu veya inteventriküler olarak kana verilmesi epilepsi oluşturur. Kainik asit uygulaması beyin hasarı oluşturur ve güçlü bir eksitatör etkisi vardır. Kainik asitin değişik dozlarda kullanımı ile akut veya kronik epilepi oluşturulabilir. Oluşturulan epilepsi modeli insandaki temporal lop epilepsisine benzer [51].

Tetanoz toksini beynin farklı bölümlerine özellikle hipokampüse uygulanması ile kronik parsiyel nöbetler oluşturulabilir [68].

Yanan küçük dalların büyük bir ateş oluşturabilmesi metaforundan geliştirilmiş olan tutuşma (kinling) modeli beyinde fokal elektriksel stimülasyonlarla epilepsi oluşturulması esasına dayanır [69].

1.2.3.7. Generalize tonik-klonik nöbet modelleri

Senegal *Papio papio* babunlarında genetiksel yatkınlıkla açıklanabilen stroboskopik uyarılar süresince tonik-klonik konvülziyonlar gözlenir [70]

Farelerin sese oldukça duyarlı olduğundan yola çıkılılarak oluşturulan odyojenik nöbet modelinde yüksek yoğunluklu sesler ile generalize nöbetler oluşturulur. Doğum sonrası 14. günde yangın alarm zili sesinin farelerde kontrol edilemeyen tonik klonik nöbetler oluşturduğu tespit edilmiştir [71].

Genetiksel olarak epilepsili fareler temporal lop epilepsi gösterirler. İnsanlardaki kompleks parsiyel epilepsisi gibi generalize tonik-klonik aktiviteli nöbetler gözlemlenebilir [51].

En iyi bilinen genetik epilepsi modellerinden biri olan genetik epilepsi eğilimli sıçan modelinde fiziksel (ses,elektroşok, hipertermi) ve kimyasal (PTZ, bikukulin) uyaranlar ile kolaylıkla epilepsi oluşturulabilmektedir [54].

Toman ve arkadaşlarının geliştirdiği Maksimal Elektroşok modelinde (MES) fare ve sıçanların arka ayaklarına yeterli şiddette elektoşok uygulanarak tonik klonik epilepsi oluşturulur [72, 73].

Pentilentetrazol (PTZ), $GABA_A$ antagonistidir ve GABA aracılı transmisyonu bloke ederek nöbet aktivitesi oluşturan bir kimyasaldır [74]. PTZ antiepileptik ilaç geliştirilmesinde çokça tercih edilir. Oluşturulan nöbetler, absans epilepsi, miyoklonik, generalize tonik-klonik nöbetleri olan hastalardakine benzer nöbetlerdir [75].

Penisilin kortekse enjekte edilerek epilepsi modeli oluşturulabildiği gibi Peritoneal olarak enjekte edilen penisilinin kedilerde generalize nöbetlere sebep olduğu gözlemlenmiş ve sistemik penisilin modeli geliştirilmiştir. Penisilin G uyanık veya anestezi altındaki deney hayvanlarına intramüsküler veya intraperitoneal olarak epileptik aktivite elde edilir [76].

1.2.3.8. Generalize-absens nöbet modelleri

Talamik uyarılma modelinde orta ve intralaminar talamus uyarılarak absans nöbetler oluşturulmaktadır [51].

Kedi korteksine dilüe edilmiş PTZ, penisilin veya östrojen uygulaması muhtemelen kortekste disfonksiyona sebep olup bileteral kortikal odaklarda absans epilepsi benzeri nöbetlere yol açar.

300 000 unite/kg dozunda Penisilin G nin kedilere sistemik olarak (intramüsküler) verilmesi sistemik penisilin modelinin temelidir ve EEG de klinik absans nöbetlere benzer diken- dalga görüntüleri oluşturur.

İntraventriküler olarak uygulanan opiatlar parsiyel ya da absans nöbetlere neden olmaktadır. Bu nedenle yüksek dozda morfin uygulanarak deney hayvanları epilepsi nöbetlerine sokulabilir.

1.2.3.9. Status epileptikus modelleri

Bilinç kaybı olmadan yarım saatten uzun süren devamlı nöbet aktivitesi, status epileptikus (SE) olarak tanımlanmaktadır. SE, Generalize konvülsif ve non-konvülzif ikiye tipi vardır. SE, ölümle sonuçlanabilen oldukça tehlikeli bir acil durumdur. Aşırı eksitatör ve baskılanmış inhbitör yolakları ile ilgili olsada SE un tam olarak patofizyolojisi açıklanamamıştır. Deney hayvanlarına aşırı dozda kainik asit, PTZ veya bikukulin verilerek SE oluşturulabilir.

Lityum-pilokaprin modeli SE çalışmaları için yaygın kullanılan bir modeldir. Lityum uygulamasının ardından pilokarpin veya diğer konvülsan ajanların kullanılması limbik nöbetleri tetikleyip SE neden olmaktadır. Tekrarlayan ve generalize olan bu nöbetler ölümle sonuçlanır.

Generalize konvülzif SE oluşturmanın bir başka yolu kobalt-homosistein modelidir. Bu modelde deney hayvanın korteksinde kobalt ile lezyon oluşturulduktan sonra intraperitoneal olarak homosistein tiyolakton enjekte edilir[77]. Homosistein-tiolakton enjeksiyonu birçok beyin bölgesinde hücre sodyum-potasyum pompasını inhibe ederek klinik SE a benzer generalize nöbetler oluşturur.

Tekrarlayan uyarı modeli ile status epileptikus modeli oluşturmak için deney hayvanlarında hipokampusun fimbriya bölgesine giderek artan şiddetlerde elektriksel uyartı verilir. Bu şoklar hipokampüsün C3 bölgesinde en büyük sinaptik cevaplar alınıncaya kadar devam eder. Böylece kimyasal kullanılmadan deney hayvanları SE a sokulabilmektedir [51].

1.2.3.10. Epilepsi modellerinden elde edilen sonuçlar

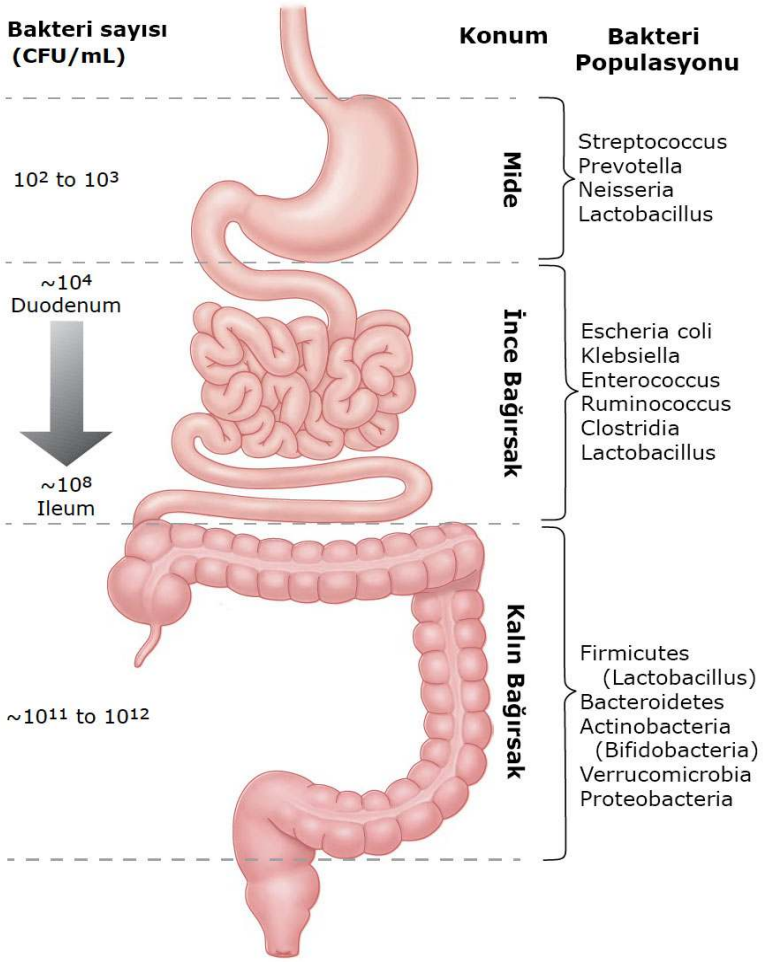
Epilepsi patofizyolojisini araştırmak ve epilepsi için ilaç üretmek için geliştirilen deneysel epilepsi modelleri maalesef henüz epilepsi hastalığına tam bir tedavi geliştirememiştir. Fakat deney modelleri epilepsi ile ilgili temel mekanizmaların keşfinde, anti-epileptik ilaçların geliştirilmesi ve test edilmesinde faydalı olmaktadır.

1.2.4. *İntestinal Sistem Florası*

Bir ağacın üzerinde yüzlerce tür kuş, böcek, memeli, mantar, protista, bakteri ve virüsün hayatını devam ettirdiği gibi insan organizmasının da hem içinde hem de dış deri katmanında binlerce tür bakteri, mantar, protozoa ve virüs bulunur. Vücudumuzda yaşayan ve insan hücresi olmayan bu mikroorganizmaların tümüne birden mikrobiyota adı verilir. Yaklaşık 100 trilyondan oluşan vücudumuzun üzerinde 10 kat daha fazla mikroorganizma yaşam sürmekte ve bizim genomumuzdan yaklaşık 130 kat gen bulundurmaktadır [78, 79].

1.2.4.1. İntestinal Sistem Florası Kolonizasyonu

İnsan vücudunda bulunan mikroorganizmaların %70 i bağırsaklarda yerleşmiştir[80]. Yaklaşık 400 m^2 lik alana sahip gastrointestinal sistemimiz doğumdan önce sterildir. Doğum sırasında ve anne sütü alımı ile organizmalar içeri girmeye başlar ve daha sonraki beslenmelerimiz ile intestinal sistem floramız şekillenir (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. İntestinal Mikrobiyotanın Dağılımı [81]

Yararlı ve zararlı mikroorganizmaların yer aldığı bağırsak floramız dinamik bir sistem olup yaşamımız boyunca bakteri sayısı ve tür çeşidi değişebilmektedir.

Dünya insanlarının bağırsak floraları 1500'den fazla bakteri türü içermekte ve her insanda tanımlanmış 200'den fazla bakteri türü bulunmaktadır. İntestinal ve fekal flora üzerinde diyetin önemli etkisi vardır. Bununla birlikte hastalıklar ve kullanılan ilaçlar florayı değiştirebilir.

Gastrointestinal sistemde bakteri sayısı olarak aslan payı kalın bağırsağımıza aittir. İntestinal sistem florası derken sayısı yaklaşık 10^{11}-10^{12} cfu/ml olan kolondaki mikroorganizmalardan bahsetmekteyiz. Kolon florasında çoğu tanımlanmamış olan 500'ün üzerinde bakteri türü vardır. Gıdaların sindirimi sonucu oluşan besin içeriğinin önemli bir kısmı ince bağırsak tarafından emilir. Kalan kısım ise fermantasyon tankı gibi kolonda bakterilerin çoğalma ortamını oluşturur. *Escheria coli* ve diğer fakültatif aeroblar oksijeni bitirir ve kolon ortamını anoksik yaparlar. Kolondaki yerleşik floranın %95'inden fazlası anaeroblardır.

Kolonda beş ana bakteri filumuna ait (*Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria ve Verrucomicrobia)* bakteri türleri yer alır. Miktar olarak %64 ile *Firmicutes* ve %23 ile *Bacteroidetes* baskındır. *Firmicutes,* gram pozitif hücre duvarlı laktik asit bakterileri, aerob ve anaerob sporlu basiller, anaerop gram pozitif kokların yer aldığı şubedir. Clostridium, Lactobacillus ve Streptococcus gibi önemli cinsler kolonda bulanan *Firmicutes* temsilcileridir. *Bacteroidetes* ise gram negatif, spor oluşturmayan, çubuk şekilli, anaerobik türleri içerir.

1.2.4.2. İntestinal Sistem Florası Fonksiyonları

Kolon mikrobiyotası, kolon içine yerleştirilmiş, birçok işleve sahip, trilyonlarca birbirinden farklı mikroorganizmadan oluşmuş organ gibidir. Sağlıklı bir yaşam için intestinal floranın doğal durumunun devamı ve geliştirilmesine ihtiyaç duyulur. Mikrobiyota, vücudumuzda beslenme, koruma ve bağırsak epitelimizin ve bağışıklık sistemimizin uyarılmasını sağlayan trofik etki olmak üzere üç ana rol üstlenir. İyon emilimi, kısa zincirli yağ asitlerinin, amino asitlerin ve vitaminlerin üretimi, sindirilmeyen besin artıklarının fermantasyonu intestinal sistemimizin beslenme fonksiyonudur. Mikrobiyotamızın yabancı mikropların istilasına karşı bariyer görevi ise koruma rolüdür. Gerek kolonun gerek tüm vücudun bağışıklık sistemini uyarması bağırsak bütünlüğünü koruması ve homeostaziye katkıları ise trofik etkisidir [80].

1.2.4.3. Fonksiyonel Gıdalar

Fonksiyonel gıdalar; normal besinler gibi tüketilebilen, kullanıcılarını hastalıktan koruyucu sağlık için faydalı gıdalardır. Fonksiyonel gıdalar günlük aldığımız besinler içerisinde doğal olarak bulunabildiği gibi diyete haricen de eklenebilir. Fonksiyonel gıdalar temel besin öğelerinin yanı sıra hastalık riskini azaltıcı, belli bir fizyolojik işlev için faydalı maddeler bulundurmalıdır. Şifalı bitkiler, fitokimyasallar, diyet lifi, antioksidanlar, probiyotikler, prebiyotikler, fonksiyonel gıdalara örnek verilebilir. Fonksiyonel gıdaların kullanılması fiziksel performansta, zihinsel ve ruhsal sağlıkta, erken gelişim ve büyümede, kardiyovasküler ve gastrointestinal fizyolojisinde, oksidatif stresten korumada ve temel metabolik işlemlerin düzenlenmesinde pozitif katkı sağlamaktadır [82].

1.2.4.3.1. Probiyotikler

Probiyotik terimi "yaşam için" manasına gelmekte olup sağlık için faydalı olan canlı mikroorganizmalar için kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)/Gıda ve İlaç İdaresi (FAO)'ne göre probiyotikler ''yeterli miktarda tüketildiği zaman sağlık üzerinde olumlu etkilere sahip olan mikroorganizmalar'' olarak tanımlanır. Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü (ILSI)'ne göre ise probiyotikler ''yeterli miktarda alındıkları zaman sağlık üzerine olumlu etkileri olan canlı mikrobiyal gıda bileşenleri'' olarak kayda girmiştir [83]. Etkisi bilimsel olarak kanıtlanmış, insan tüketimine uygun ve gastrointestinal enzimlere dayanıklı fonsiyonel gıda olan bazı probiyotikler Çizelge 1.3 te verilmiştir.

1.2.4.3.2. Probiyotiklerin mikrobiyolojik özellikleri

LABIP (Laktik Asit Bakteri Endüstriyel Platformu) bir mikroorganizmanın probiyotik olarak tanımlanabilmesi için birtakım kriterler ortaya koymuştur. Buna göre probiyotikler; patojenitesi olmayan, intestinal ortamın asit ve safra tuzlarına dirençli, bağırsak epiteline tutunup ekosistemin bir parçası olabilen ve biyoyararlılık gösteren mikroorganizmalardır[84]. Probiyotiklerin birçok ortak faydası (ishal önleme, antibiyotik üretimi, immün sistemin desteklenmesi vb.) olsa da kolesterol seviyesinin düşürülmesi, obeziteyi önleme, nöromodüler maddeler salgılama gibi spesifik etkileri de vardır.

Çizelge 1.3.Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar [85]

Lactobacillus türleri	*L.bulgaricus* *L. delbrueckii* *L. lactis* *L. acidophilus*	*L. cellebiosus* *L. curvatus* *L. fermentum* *L. salivarius*	*L. rhamnosus* *L. helveticus* *L. casei* *L. brevis*	*L. plantarum* *L. johnsonii* *L. reuteri* *L. gasseri*
Bifidobacterium türleri	*B. adolescentis* *B. thermophilum*	*B. bifidum* *B. longum*	*B. infantis*	*B. breve*
Bacillus türleri	*B. subtilis* *B. coagulans*	*B. pumilus*	*B. lentus*	*B. licheniformis*
Pediococcus türleri	*P. cerevisiae,*	*P. acidilactici*	*P. pentosaceus*	
Streptococcus türleri	*S. cremoris,*	*S. thermophilus* *S. diacetilactis*	*S. intermedius*	*S. lactics*
Bacteriodes türleri	*B. capillus,*	*B. suis*	*B. amylophilus*	*B. ruminicola*
Propionibacterium türleri	*P. shermanii,*		*P. freudenreichii*	
Leuconostoc türleri	*Leuconostoc mesenteroides*			
Küfler	*Aspergillus niger,*		*Aspergillus oryzae*	
Mayalar	*Saccharomyces cerevisiae,*		*Candida torulopsis*	

1.2.4.3.3. Mide asidi ve Safra tuzlarına direnç

Probiyotikler ağız, mide ve duodenumdan yaşam alanlarına geçebilmeleri için mide asidine ve safra tuzları ve pankreatik enzimlere dirençli olmalıdır. Ortalama 1.5 pH ya sahip midenin asitli ortamı zararlı mikroorganizma ve allerjenler için iyi bir bariyerdir. Bu sayede bağırsak mikrobiyotası korunur. Mikroorganizmaların bu olumsuz ortamlara dirençleri birbirlerinden farklıdır. Örneğin *Lactobacillus acidophilus* ve *L. gasseri* 1.5 saat kadar asit ortama dayanabilir ve mide asidini geçebilir [86]. Probiyotikler teröpatik etki için 10^6-10^7 kob/g düzeylerinde kolonda bulunmalı ve bağırsak epiteline adhezyonu için vücuda en az 10^8 -10^9 kob/g seviyelerinde verilmelidir [87]. Bu nedenle mikro- ve nano- enkapsülasyon uygulamaları ile etkinliği artırılmaya çalışılmaktadır [88].

1.2.4.3.4. Bağırsak hücrelerine tutunma ve sindirim sisteminde kolonizasyon

Probiyotiklerin bağırsak mukozasına yapışması ve kolonizasyonu, enteropatojenlere karşı antagonistik aktivite için ön koşuldur. Probiyotiklerin bağırsağa ulaştıktan sonra kolondan peristalti ile süpürülmemesi için mikrovillusun fırça kenarına tutunması veya mukus tabakasına yapışması gerekir. Tutunma ile ilgili yapılan deneylerde probiyotiklerin kolon hücrelerine yapışma yeteneği türler arasında önemli ölçüde farklılık gözlenmiştir. Laktobasillerin bakteri hücre yüzeyindeki farklı glikoproteinleri,

değişik mekanizmalar vasıtasıyla insan bağırsak hücrelerine tutunduğuna dair araştırma bulguları vardır [86].

1.2.4.3.5. Antimikrobiyal aktivite

Probiyotik mikroorganizmalar; H_2O_2, organik asitler, diasetil, biyosürfaktanlar, bakteriyosinler salgılayarak veya epitel hücrelerinde defensin yapımını uyararak zararlı mikroorganizmalara karşı mücadele ederler.

Antibiyotiklere göre daha dar spektrumlu olan bakteriyosinler bir bakterinin hedef bakteriye karşı ürettiği peptid yapılı metabolitlerdir. Laktobasiller ve daha birçok probiyotik bakteriler bakteriyosin üretebilmekte ve yakın akraba türlerine karşı bakteriyostatik ve bakteriyosidal etki göstermektedir.

1.2.4.3.6. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Probiyotikler, patojen bakterilerin sayısını azaltarak, mikrobiyal metabolizmayı değiştirerek ve bağışıklık sistemini iyileştirerek konakçısına fayda sağlar.

Patojen bakterilerin bağırsak duvarına tutunması ve besin için onlarla rekabet etmesi, baktriyosinler üretmesi ve organik asitler üreterek ortamı asitleştirmesi probiyotiklerin birincil görevidir.

Bağırsak epitelinin direncinin artırılması, onları apoptozdan koruması, onarımlarını desteklemesi ve mukus üretimini artırması probiyotiklerin bağırsak epitelini koruyucu görevidir.

Bölgesel IgA üretimi, fagositik etkinliği ve bağışıklık hücrelerinin apoptozunu artırmak, sitokin kompozisyonunu değiştirmek ve T lenfosit yanıtını azaltmak bağışıklık sistemimize probiyotiklerle sunulan faydalardır [85].

1.2.4.3.7. Probiyotiklerin tüketici sağlığına etkileri

Yapılan klinik deneyler probiyotiklerin tüketiminin birçok olumlu etkisini kanıtlamaktadır. Uluslararası Probiyotikve Prebiyotik Derneği'nin (ISAPP) bağımsız danışmanlarının yaptığı çalışmalarda antibiyotiğe bağlı akut ishal, ishal, prematüre bebeklerde nekrotizan enterokolit ve soğuk algınlığına karşı probiyotik kullanmanın fayda sağladığı gözlenmiştir. Bununla beraber doktorlar henüz bilimsel çalışmaların eksikliği ile probiyotiklerin zarar vermediği ve muhtemel fayda sağlamasından ötürü yardımcı sağlık kimyasalları olarak tavsiye vermekteler. Kısacası probiyotik kullanımı

henüz birincil basamak tedavi olarak değil alternatif veya yardımcı tedavi olarak nitelenebilir.

Probiyotik kullanımı ile ilgili çalışmalarda laktoz intoleransı, ishal, mide gastrit ve ülseri, ülseratif kolitler, poşitiz, rahatsız bağırsak sendromu, crohn hastalığı ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde birtakım başarılar elde edildiği belirtilmiştir. Serum kolesterol seviyesinin düşürülmesinde, gıda allerjilerinde, obezitede ve immün modülasyonunda etkinliğinin olduğuna dair çalışmalar vardır [84].

1.2.5. *Lactobacillus rhamnousus*

Vücudumuzdaki yararlı-zararlı mikroorganizmaların tümüne birden "mikrobiyota" denmektedir. Hastalık ve sağlığımızda önemli rolleri olan mikrobiyotamız, içeriği dinamik olarak değişen (kalıcı ve geçici mikrobiyota) bir organ gibidir. Bu organımızın %70 den fazlası kolonda yerleşiktir. Kolonda hâkim yararlı mikroorganizmalar Lactobacillus ve Bifidobacteri cinsine giren bakterilerdir.

Lactobacillus gram pozitif, mikroaerofilik veya fakültatif anaerobik, homofermantatif, katalaz ve oksidaz negatif, sitokrom bulundurmayan, çubuk şekilli bakteri grubudur. Karbonhidratları özellikler de laktozu laktik aside dönüştürdüklerinden dolayı bu ismi almışlardır. Mart 2020 itibari ile 261 türünün olduğu Lactobacillus cinsisinin omurgalılara adapte olmuş türlerinden biri de *Lacticaseibacillus rhamnosus* tur [89]. Bilim dünyasında daha çok eski ismi ile bilnmeye devam ettiği için biz de *Lactobacillus rahmnosus* olarak tezimizde kullanacağız.

L. rhamnosus GG, 1983 yılında insan dışkısından izole edilmiştir [90]. *L. rhamnosus* GG süt ürünlerinde en çok kullanılan ve bebek ve çocuklar için yararlı bir probiyotik mikroorganizmadır. Bir tür göçebe yaşam tarzına sahip olan *L. rhamnosus,* süt ürünleri, fermente et, balık, sebze ve tahıllar, kanalizasyon ve insan da (oral, vajinal ve intestinal) habitatlarda yaşayabilmektedir [91, 92].

Bazı *L. rhamnosus* bakteri suşları probiyotik olarak kullanılmaktadır ve özellikle kadın ürogenital sistem enfeksiyonlarının tedavisinde yararlıdır. Sağlıklı kadın genito-üriner sisteminde *L. rhamnosus* yaygın olarak bulunur. Enfeksiyona bağlı bakteriyal disbiyozda patojen bakterilere karşı florayı tekrar düzenleyerek hastalığa karşı koyar [93]. Patojenlere karşı koyan, immün uyarımı sağlayan ve sindirimi kolaylaştıran *L. rhamnosus* bağırsak sağlığını da pozitif etkiler [94].

1.2.5.1. Klinik Etkileri

Doğal habitatlarından biri kolon olan *Lactobacillus rhamnosus* GG, bakteriyel dengeyi sağlama, kolon disbiyozuna karşı direnç gösterip bağırsakta kolonizasyonunu sürdüren ve böylece dolaylı olarak immüniteyi koruyan bir yararlı bakteridir [95]. Probiyotiklerin insan sağlığına etkilerini araştıran bir çalışmada [96] *Lactobacillus rhamnosus,* non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan 20 obez çocukta 8 hafta kullanım neticesinde (alanin aminotransferaz) ALT ve (peptidoglikan- polisakkarit) PG-PS IgA antijenlerinde azalma görülmüştür.

Atopik dermatitli 512 hamile kadın (hamileliğin 35. haftasından altı aylık emzirme dönemine kadar) ve 474 yenidoğan bebeklerde (doğumdan 2 yaşına kadar) *L. rhamnosus* preperatları kullandırılmış; bebeklerin egzamasında kümülatif prevelansında düşüş gözlenmiştir [97].

Kolerektal kanseri olan 150 hastaya 24 hafta boyunca kemoterapi sırasında verilmiş ve sonuçta ishalde, abdominal rahatsızlıkta ve bağırsak zehirlenmesine bağlı olarak kemoterapi dozunda azalma hastane bakımına daha az ihtiyaç duyma kaydedilmiştir [98].

Yapılan çalışmalar, *L. rhamnosus*'un hücre duvarındaki protein yapıları ile IL-6, IL-10 ve TNF-α salınımını uyardığı ve immünoglobulin G (İgG) antikorları salgılanması aktive ettiği belirtmiştir [99, 100]

1.2.5.2. Kullanım Alanları

Genel olarak probiyotikler özelde de *L. rhamnosus*'u bu kadar özel yapan özelliklerden biri de fermantasyonları neticesinde ürettikleri kimyasallardır. Probiyotiklerin fermantasyon prosesleri sırasında üretilen biyoaktif bileşiklere "postbiyotik" denir. Yani probiyotik canlılara prebiyotik vererek onların postbiyotik üretmesini sağlarız. Postbiyotikler laktosepin, p40 molekülü gibi protein; bütirat, propiyonat, dimetil asetil türevli plazmalojen gibi lipid; propiyonik asit, muropeptidler, lipoteikoik asitler veya B grubu vitaminler de olabilir [101].

Günümüzde *L. rhamnosus* kırmızı et besi hayvancılığında, su ürünleri yetiştiriciliğinde hayvansal organizmaların sağlıklı yetişmeleri için katkıda bulunsun diye yemlerine katılmaktadır [102].

Gıda sanayisinde kimyasal koruyucu katkı maddeleri kullanmak yerine insan sağlığına yararlı olması, gıda ürünlerindeki problemleri çözmesi için *L. rhamnosus* kullanılmakta ve araştırmalar devam etmektedir. Un sanayisinde, fermente et ürünleri üretiminde, bebek maması üretiminde, peynircilikte, probiyotik yoğurt üretiminde ortam mikroorganizmalarını dengelemesi ve postbiyotik katkısından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır [103-105] .

1.2.5.3. Sindirim Sistemine Etkileri

Gastrointestinal floranın önemli bir kısmını oluşturan Lactobacilluslar organizmanın birçok işlevine katkı sağlar. Daha öncede değindiğimiz gibi patojen gelişiminin inhibisyonu, mukozal bütünlüğün ve epitelial homeostasinin devamı, kısa zincirli yağ asidi üretimi ve kolesterol emiliminin azaltılması, vitamin sentezlenmesi ve ilaç metabolizmasının düzenlenmeside genelde probiyotiklerin özelde Lactobacillus türlerinin etkisi vardır [106].

Yüzeysel ekzopolisakkaritleri ve pilileri sayesinde mukozal yüzeylere yüksek yapışma kapasitesine sahip olan *L. rhamnosus,* asiitli ortamda % 92 protein üretme yeteneğini kaybetmeyen, yüksek bağışıklık aktivitesine sahip bir türdür. Diğer mikroorganizmalara nazaran daha kuvvetli mukozal epitele yapışır ve bağırsak geçirgenliğini normalleştirir. Epidermial büyüme faktörü (EGF) reseptörünün aktivasyonu yoluyla bağırsak epitel hücrelerinde sitokin kaynaklı apoptozu iyileştirebilen çözünür protein p40'ı üretir. Bu işlem, apoptozun önlenmesi ve bağırsak epitel hücrelerinde bariyer fonksiyonunun korunması açısından önemlidir. Ayrıca ürettiği p40, bağırsak epitel hücrelerinde hücresel tepkileri düzenler ve dekstran sülfat sodyum (DSS) kaynaklı bağırsak epitel hasarı ve akut kolitte koruyucu ve terapötik bir role sahiptir.

Yararlı bakterilerin sayısal kaybı, dolayısıyla patojenik bakterilerin aşırı çoğalması, bakteriyel çeşitlilik kaybı gibi durumlarla kendini gösteren “disbiyoz”, *L. rhamnosus* sayesinde tedavi edilebilir. Nitekim epitel bariyerinin güçlendirilmesi, bağırsak mukozasına tutulumun artması ile beraber patojen tutulumun inhibisyonu, patojenik mikroorganizmalarla rekabet, bakteriyosinlerin üretimi ve bağışıklık sisteminin modülasyonu tedavinin esaslarını oluşturur. Diyare hastalarınan uygulanan *L. rhamnosus* tedavisi hem bağırsak disbiyozunu tedavi etmekte hem de ishal süresini kısaltmaktadır. Yani *L. rhamnosus,* diyare için hem koruyucu hem de tedavi edicidir [107].

1.2.5.4. Sinir Sistemine Etkileri

Yakın zamanda yapılan nörolojik araştırmalar bağırsak mikrobiyotası ile beynimiz arasında yakın bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Gastrointestinal mikrobiyotamızın beynimizi etkilediği bu nedenle de bağırsaklara "ikinci beyin" dendiğini bilimsel çalışmalarda çokça görmekteyiz. Bu etkileme mikrobiyota tarafından nöroaktif (biyoaktif bileşikler) maddelerin üretimi ve bağırsak beyin arası çift yönlü iletişimi sağlayan sinirler ile oluşmakradır. Her iki şekilde de nörolojik yapımız, duygu durumumuz ve davranışlarımız olumlu veya olumsuz bu etkileşimden nasibini almaktadır. Beyin ile bağırsak arasındaki sinirsel, hormonal ve immünolojik mekanizmalar sayesinde bağırsak mikrobiyotası beyni etkileyebildiği gibi otonom sinirler vasıtası ile beyin de bağırsaklarımızda modifikasyonlar oluşturabilmektedir.

Bağırsak mikrobiyotası, bağırsaktaki sinir, endokrin ve bağışıklık hücre türlerini içeren etkileşimli bağırsak bağlantısı ile merkezi sinir sistemi ile iletişim kurarlar. Mikrobiyal metabolitler aracılığıyla bağırsak işlevindeki değişiklikler bağırsak mikrobiyal davranışını modüle edebilir. Merkezi sinir sisteminin birbirine bağlı çoklu yapısal ağları olan beyin konektomu, bağırsak mikrobiyal bileşimini değiştiren ve bağırsaktaki mikrobiyal ortamı modüle ederek dolaylı olarak işlev gören otonom sinir sistemi etkilerini üretir ve düzenler. Bağırsak mikrobiyotası, afferent vagal ve/veya omurilik sinir uçlarına etki eden bağırsaktan türetilen moleküller yoluyla dolaylı olarak veya doğrudan mikroorganizmalar tarafından üretilen sinyaller aracılığıyla beyinle iletişim kurabilir. Psikososyal veya bağırsağa yönelik (örn. diyet, ilaç, enfeksiyon) stres gibi bozulmalara yanıt olarak bu çift yönlü etkileşimlerin kazanımındaki değişiklikler, beyin-bağırsak bozuklukları olarak tezahür ederek bu sistemin kararlılığını ve davranışını değiştirebilir [108].

1.2.5.5. Gastrointestinal mikrobiyotanın ürettiği nöroaktif maddeler

Gastrointestinal (GI) mikrobiyota, bağırsaklarımızda yaşayan çeşitli mikroorganizmaların toplamına verilen addır. Bu mikroorganizmalar, sindirim sürecine yardımcı olmanın yanı sıra, bağışıklık fonksiyonları ve metabolizmada önemli rol oynayan nöroaktif maddeler üretebilir.

GABA (gamma-aminobütirik asit): GABA, merkezi sinir sisteminde inhibe edici bir nörotransmitterdir ve anksiyete, stres ve depresyonun düzenlenmesinde etkilidir. Bazı bağırsak mikrobiyotik türler, GABA'yı üretebilir. Lactobacillus türleri, bağırsak

mikrobiyotasının önemli bir bileşenidir ve GABA üretimi için anahtar rol oynar. *Lactobacillus brevis, Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus rhamnosus* gibi türler GABA üretebilir. Bifidobacterium türleri de GABA üretebilen önemli mikroorganizmalardır. *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium adolescentis* ve *Bifidobacterium longum* gibi türlerin GABA sentezi yeteneği vardır. *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius* , *Streptococcus thermophilus, Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türlerinin de GABA üretimi yapabildikleri hakkındaa bilimsel çalışmalar vardır [109, 110].

İnsanlarda yapılan araştırmalarda insan mikrobiyotasının manipüle edilmesi ile GABA düzeylerinin etkileyebileceği görülmüştür. Özellikle günlük diyet üzerinde yapılan düzenlemeler ile bağırsak mikrobiyomunun bileşimi ve işlevleri değiştirilebilir [111]. GABA'nın insan hastalıklarına nasıl etki ettiği tam olarak bulunamasa da ketojenik bir diyet uygulaması ile refrakter epilepsili çocukların BOS'undaki GABA düzeylerini arttırdığı ve semptomların azaldığı gösterilmiştir [112].

Kootte ve arkadaşlarının yaptığı fekal transplant çalışmasında, zayıf donörlerden obez hastalara aktarımı ile en çok değiştirilmiş metabolit GABA'nın olduğu bulundu [113]. 2014 yılında mevcut bilgilerimize göre hangi bakterilerin GABA ürettiği ile ilgili Çizelge 1.4 verilmiştir.

Çizelge 1.4. GABA üreten bakteriler [114]

Nörotransmitter	**Bakteri Türü**	**Referans**
GABA	*Bifidobacterium adolescentis (DPC6044)*	Barrett et al., 2012
	Bifidobacterium angulatum (ATCC27535)	Pokusaeva et al., 2017
	Bifidobacterium dentium (DPC6333)	Barrett et al., 2012
	Bifidobacterium infantis (UCC35624)	Barrett et al., 2012
	Lactobacillus brevis (DPC6108)	Barrett et al., 2012
	Lactobacillus buchneri (MS)	Cho et al., 2007
	LactobacillusparacaseiNFRI (7415)	Komatsuzaki et al., 2005
	Lactobacillus plantarum (ATCC14917)	Siragusa et al., 2007
	Lactobacillus reuteri (100-23)	Pokusaeva et al., 2017
	Lactobacillus rhamnosus (YS9)	Siragusa et al., 2007
	Lactobacillus. delbrueckiisubsp. bulgaricus (PR1)	Siragusa et al., 2007
	Monascus purpureus (CCRC 31615)	Su et al., 2003
	Streptococcus salivarius subsp. thermophilus (Y2)	Yang et al., 2008

Serotonin: Serotonin [5-hidroksitriptamin (5-HT)], sinir sistemimizdeki bir nörotransmitter olarak bilinir ve duygusal durumu, iştahı, uyku düzenini ve stres tepkilerini düzenlemede önemli bir rol oynar. Vücudumuzda üretilen seratoninin %90 dan fazlası bağırsak hücreleri (enterokromaffin hücreler, mukozal mast hücreleri ve miyenterik nöronlar) ve mikrobiyotamız tarafından sentezlenir. Trombositler bağırsaklarımızdaki seratonini kan dolaşımına katmak için dolaşıma sokar ve gerekli yerlere sevkiyatını yapar. Kolondaki mikrobiyota, triptofan adı verilen bir amino asidi serotonin'e dönüştürebilir. Lactobacillus ve Bifidobacterium genumlarına ait probiyotik bakteriler, *E.coli*, Hafnia, Bacteroides, Streptococcus, Lactococcus, Morganella, Klebsiella, Propionibacterium, Eubacterium, Roseburia ve Prevotella bağırsaklarda serotonin üretiminde etkili olduğu bulgular arasındadır [115, 116]. *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium infantis*, serotonin sentezinde oldukça etkili türlerdir. Moloney ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus*'un, beyindeki serotonin düzeyini artırarak stres ve depresyon gibi duygu durum bozuklukları üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir [117]. 2014 yılında mevcut bilgilerimize göre hangi bakterilerin seratonin ürettiği ile ilgili Çizelge 1.5. verilmiştir.

Çizelge 1.5.Seratonin üreten bakteriler [114]

Nörotransmitter	**Bakteri Türü**	**Referans**
Seratonin	*Escherichia coli (K-12)*	Shishov VA, 2009
	Hafnia alvei (NCIMB, 11999)	Özoğul, 2004
	Klebsiella pneumoniae (NCIMB, 673)	Özoğul, 2004
	Lactobacillus plantarum (FI8595)	Özoğul, 2004
	Lactococcus lactis subsp. cremoris (MG 1363)	Özoğul, 2004
	Morganella morganii (NCIMB, 10466)	Özoğul, 2004
	Streptococcus thermophilus (NCFB2392)	Özoğul, 2004

Dopamin: Dopamin, ödül sistemi, hareket kontrolü ve motivasyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan bir nörotransmitterdir. Bağırsak mikrobiyotası, bazı mikroorganizmalar aracılığıyla dopamin üretebilir. Lactobacillus ve Bifidobacterium cinsi bakteriler, bağırsakta doğal olarak bulunan ve dopamin üretebilen mikroorganizmalardır. Araştırmalar, bu bakterilerin dopaminin prekürsörü olan tirosin amino asidini kullanarak dopamin üretebileceğini göstermiştir [118, 119]. 2014 yılında mevcut bilgilerimize göre hangi bakterilerin dopamin ürettiği ile ilgili Çizelge 1.6 verilmiştir.

Çizelge 1.6. Dopamin üreten bakteriler [114]

Nörotransmitter	Bakteri Türü	Referans
Dopamin	*Bacillus cereus*	*Tsavkelova et al., 2000*
	Bacillus mycoides	*Tsavkelova et al., 2000*
	Bacillus subtilis	*Tsavkelova et al., 2000*
	Escherichia coli	*Tsavkelova et al., 2000*
	Escherichia coli (K-12)	*Shishov VA, 2009*
	Hafnia alvei (NCIMB, 11999)	*Özoğul, 2004*
	Klebsiella pneumoniae (NCIMB, 673)	*Özoğul, 2004*
	Morganella morganii (NCIMB, 10466)	*Özoğul, 2004*
	Proteus vulgaris	*Tsavkelova et al., 2000*
	Serratia marcescens	Tsavkelova et al., 2000
	Staphylococcus aureus	Tsavkelova et al., 2000

Histamin: Homeostasinin düzenlenmesinde, uyanıklılık ve beslenme gibi işlevlerde etkin olan histamin bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilebilmektedir. *Lactobacillus spp*., *Lactococcus lactis*, *Oenococcus oeni*, *Pediococcus parvulus, Streptococcus thermophilus, Morganella morganii, Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp*., *Citrobacter freundii* ve *Hafnia alvei* gibi bakteriler histamin üretmektedirler [120]. 2014 yılında mevcut bilgilerimize göre hangi bakterilerin histamin ürettiği ile ilgili Çizelge 1.7.verilmiştir.

Çizelge 1.7. Histamin üreten bakteriler [114]

Nörotransmitter	Bakteri Türü	Referans
Histamin	*Citrobacter freuindii*	Kim et al., 2001
	Enterobacter spp.	Kim et al., 2001
	Hafnia alvei (NCIMB, 11999)	Özoğul, 2004
	Klebsiella pneumoniae (NCIMB, 673)	Özoğul, 2004
	Lactbacillus plantarum (FI8595)	Özoğul, 2012
	Lactobacillus hilgardii , Lactobacillus mali	Landete et al., 2007
	Lactococcus lactis subsp. cremoris (MG 1363)	Özoğul, 2012
	Lactococcus lactissubsp. lactis (IL1403)	Özoğul, 2012
	Morganella morganii (NCIMB, 10466)	Özoğul, 2004
	Oenococcus oeni	Landete JM, 2005
	Pediococcus parvulus	Landete et al., 2007
	Streptococcus thermophiles (NCFB2392)	Özoğul, 2012

Norepinefrin (NE): Yapısal olarak adrenaline benzeyen NE, heyecan anında salgılandığı gibi bilişsel faaliyetlerde (öğrenme, dikkat, hafıza) de etkin görevleri

bulunur. Bunların dışında NE, inflamasyona karşı otonom sinir sistemi tepkilerini düzenler. İlginç bir şekilde NE, diğer katekolaminlerdeki gibi hem intestinal mikrobiyota tarafından üretilebilmekte hem de mikroorganizmaları etkileyebilmektedir. Patojenik *E. Coli* O157:H7 (EHEC) nörepinefrin ve dopamin varlığında hızla çoğalmakta, biyofilm oluşturmakta, motilitesi ve virülansı artmaktadır [121]. *E. coli, Proteus vulgaris, Serratia marcescens, Bacillus subtilis* ve *Bacillus mycoides*'in büksek seviyede norepinefrin bulundurduğu da in vitro çalışmalarda gösterilmiştir [122]. 2014 yılında mevcut bilgilerimize göre hangi bakterilerin NE ürettiği ile ilgili Çizelge 1.8 verilmiştir.

Çizelge 1.8. Nörepinefrin üreten bakteriler[114]

Nörotransmitter	**Bakteri Türü**	**Referans**
Nörepinefrin	*Bacillus mycoides*	Tsavkelova et al., 2000
	Bacillus subtilis	Tsavkelova et al., 2000
	Escherichia coli (K-12)	Shishov VA, 2009
	Proteus vulgaris	Tsavkelova et al., 2000
	Serratia marcescens	Tsavkelova et al., 2000

Çizelgeler oluşturulurken kullanılan referanslar [110, 122-134] dır.

1.2.6. *Bağırsak-beyin Ekseni*

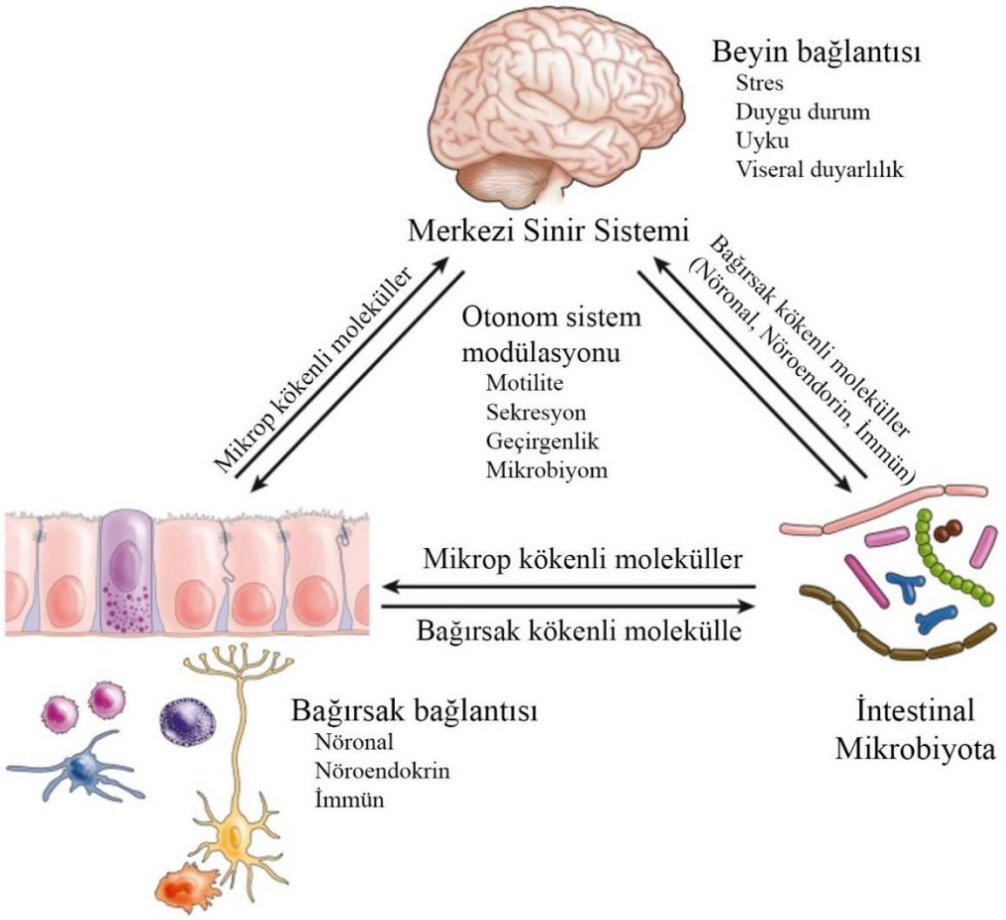
Bağırsak-beyin ekseni, bağırsak mikrobiyotası ile MSS arasındaki çift yönlü iletişimidir. Bu karmaşık iletişimi; enterik sinir sistemi, immün sistemi ve mikrobiyotanın beyin fonksiyonları üzerindeki potansiyel etkilerini tanımlamak üzere kullanmaktayız. (Şekil 2.8)

"Mikrobiyota-beyin-bağırsak ekseni" olarak da adlandırılan bu sistemin etkisi, nörobilim, psikiyatri, gastroenteroloji ve mikrobiyoloji dahil olmak üzere geniş biyomedikal araştırma alanlarını kapsamaktadır hızla ilerleyen bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Bağırsak beyin ekseninde 3 temel bileşen; bağırsak sinir sistemi (enterik sinir sistemi: ENS ve vagus siniri), bağışıklık sistemi ve mikrobiyotadan oluşur.

Bağırsaklar, bağımsız bir sinir sistemi olan enterik sinir sistemiyle donatılmıştır. Enterik sinir sistemi, bağırsaklar boyunca dağılmış bir ağ şeklinde bulunan yüz milyarlarca sinir hücresinden oluşur. Bu sinir hücreleri, bağırsaklardaki yerel işlevleri kontrol etmekle

birlikte, beyinle iletişim halinde olan sinir yolları aracılığıyla beyinle bilgi alışverişi yapar. ENS, bağırsak hareketlerini düzenlemek, mukus ürettirmek ve kan akışını kontrol etmek gibi çeşitli görevleri yerine getirir. Bağırsağa "ikinci beyin" denilmesinin nedeni, bağırsakların bağımsız bir sinir sistemi olan enterik sinir sistemiyle donatılmış olmasıdır.



Şekil 1.8. Beyin-bağırsak-mikrobiyom etkileşimlerinin sistem biyolojik modeli [135].

Bağırsaklar büyük bir bağışıklık sistemi yoğunluğuna sahiptir. Bağırsaklar, gıda ve patojenlerle temas ettiğinde bağışıklık sistemi hücreleri aktifleşir ve inflamasyon gibi tepkiler gösterir. Bu bağışıklık tepkileri, beyinle iletişim kurarak sinir sinyalleri aracılığıyla etkileşime girebilir ve beyin fonksiyonlarını etkileyebilir.

Bağırsaklar, trilyonlarca mikroorganizma içeren bir mikrobiyota topluluğuna ev sahipliği yapar. Bu mikroorganizmalar, sindirim sürecine yardımcı olmanın yanı sıra bağışıklık sistemi ve sinir sistemi üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının beyin fonksiyonları, ruh hali ve davranış üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bu bileşenler arasındaki etkileşimler, bağırsak-beyin

ekseninin çalışma prensibini oluşturur. Bağırsaklar, sinir yoluyla beyine sinyaller gönderebilir ve beyin de bağırsaklara geri bildirimde bulunabilir. Bu etkileşim, bağırsak sağlığı, bağışıklık fonksiyonu, duygusal durum ve bilişsel işlevler gibi bir dizi fizyolojik ve nörolojik süreci etkileyebilir. Yapılan araştırmalar, bağırsak-beyin ekseninin, ruh hali bozuklukları, depresyon, anksiyete, otoimmün hastalıklar ve hatta nörolojik bozukluklar gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, bağırsak sağlığını korumak ve bağırsak mikrobiyotasını desteklemek, genel sağlık ve beyin fonksiyonları için oldukça önemlidir.

Bağırsaklar ve beyin, birbirleriyle sinir yolu, bağışıklık sistemi ve hormonal sinyaller aracılığıyla iletişim kurar. Sinir yolu iletişiminde bağırsaklar, vagus siniri gibi sinir yolları vasıtasıyla beyinle doğrudan iletişim kurar. Bu sinir yolu, sindirim sistemi ve beyin arasındaki sinyal iletiminde önemli bir rol oynar. Bağırsaklar, hormonal ve nörotransmitter sinyallerini beyine ileterek beyin fonksiyonlarını etkileyebilir. Örneğin, bağırsakta üretilen serotonin, sinir sistemini düzenleyen bir hormondur ve beyindeki ruh hali, stres tepkileri ve uyku düzeni gibi faktörleri etkileyebilir.

Konak-mikrobiyota iletişimine ilişkin bilgiler ve sunulan veriler, hayvan modellerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Bu iletişim yolları, otonom sinir sistemi (ENS, vagus), nöroendokrin sistemi, hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) ekseni, bağışıklık sistemi ve metabolik yolları içerir.

Daha önce değindiğimiz gibi bağırsak içinde, mikrobiyota nöroaktif bileşikler üretebilir. Nöroaktif bileşikler; nörotransmitterler (GABA, noradrenalin, dopamin ve serotonin), amino asitler (tiamin ve triptofan) ve mikrobiyal metabolitler (kısa zincirli yağ asitleri ve 4-etilfenilsülfat gibi) olabilir. Nöroaktif bileşikler, konakçı bağışıklık sistemi ile etkileşime girip metabolizmayı etkileyebildiği gibi enterik nöronal hücreleri ve doğrudan beyne ulaşan vagus sinirinin afferent yollarını etkileyerek portal dolaşım yoluyla ilerleyebilir. Bununla beraber bağırsak mikrobiyotası, nöroaktif bileşiklerle kolon immün hücrelerini ve enterik nöronların terminal uçlarını direk ve lokal etkileyerek bağırsak bariyer bütünlüğünü de etkileyebilir.

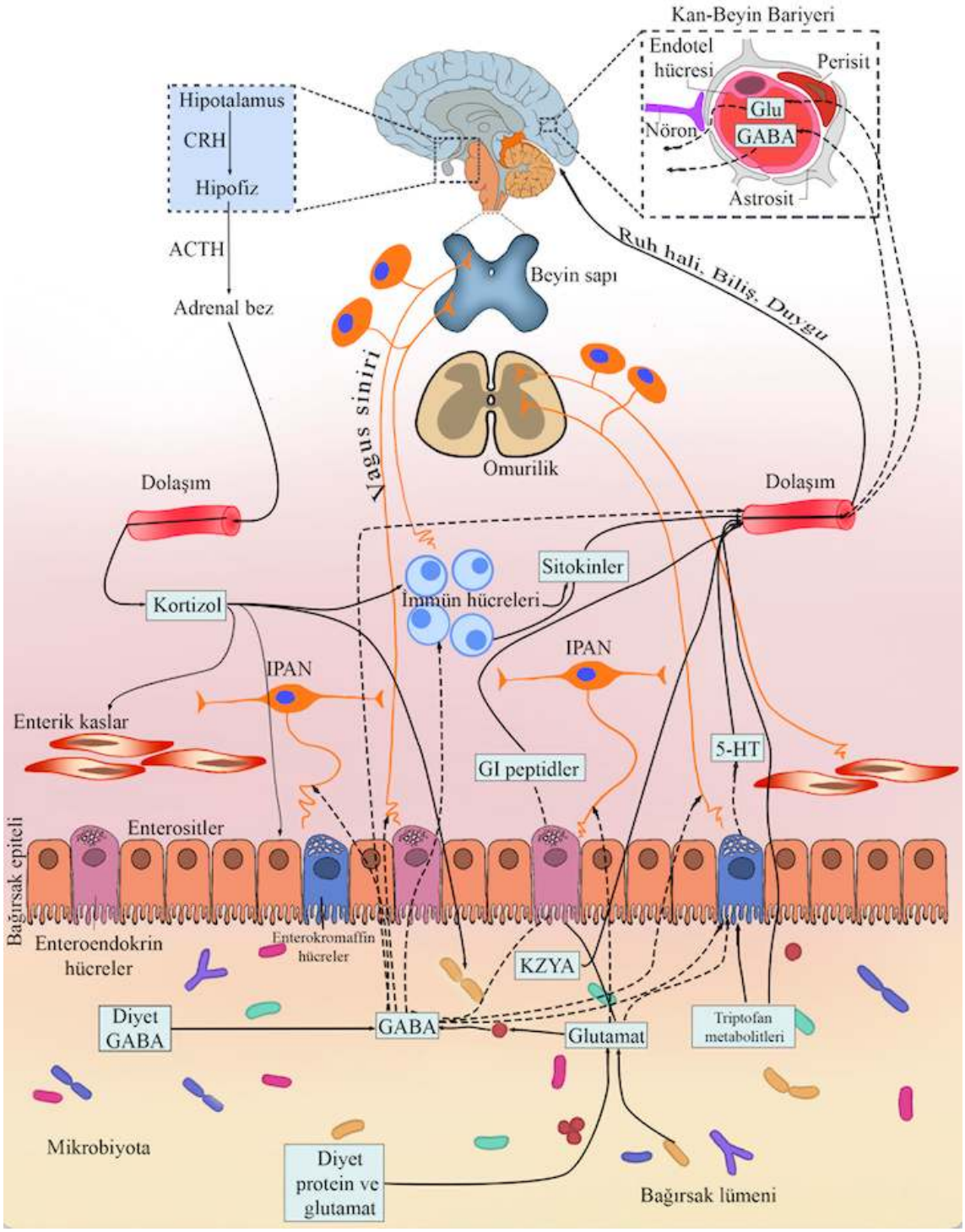
Depresyon, anksiyete ve otizm spektrum bozukluğu gibi nöropsikiyatrik hastalıklarda bağırsak sistemi karmaşık bir biçimde tepkiler oluşturur. Bağırsak disbiyozu stres hormonu üretimi için bir dizi reaksiyonları aktive eder. Stres hormonu üretimi ise bağırsak ortamını ve mikroorganizma dağılımını değiştirir.

Bozulan bağırsak bariyeri bütünlüğü hipotalamus nöronlarını içeren HPA ekseni tepkisini aktive edebilir. Sinir sistemi içinde HPA ekseni tepkisi stres hormon salgılanmasına öncülük eder. Hipotalamus kortikotropin serbestleştirici hormonu (CRH) beyine veya portal dolaşıma girerek hipofizden adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salınımını tetikler, bu da daha sonra böbreküstü bezlerden kortizol sentezini ve salınımını başlatır. Kortizol, önce bağırsak bariyer bütünlüğünü etkileyen nöroimmün yanıtlarını düzenler. Daha sonra, immün aracılar ve MSS nörotransmitterleri, ENS'nin nöronal hücrelerini ve vagus sinirinin afferent yollarını aktive ederek bağırsak ortamını ve mikrobiyota kompozisyonunu değiştirebilir [136]. Şekil 1.9 da da gösterildiği gibi lümende oluşan ve nöral, immün veya hormanal olarak başta MSS olmak üzere birçok sistemi etkileyen metabolikler vardır.

1.2.6.1. Bağırsak Mikrobiyotası- Beyin Sinyal Mekanizmaları

Mikrobiyotanın MSS'ni etkileme modülasyonu nöroimmün ve nöroendokrin mekanizmalar aracılığı ile vagus siniri üzerinden gerçekleşmektedir [137]. Mikroorganizmaların kısa zincirli yağ asitleri, triptofan ve konjuge safra asitlerinin metabolitlerinin de vagus siniri üzerinden MSS ni etkilediğine dair araştırma sonuçları vardır [138, 139].

Bu metabolitler çoğunlukla enteroendokrin hücreler, enterokromaffin hücreler ve mukozal bağışıklık sistemini etkileseler de bazıları bağırsak bariyeri geçip kan dolaşımına, oradan da kan-beyin bariyerini geçerek MSS ye ulaşabilmektedirler [138, 140-142]. Vagotomi uygulanmış deney hayvanlarında mikrobiyotanın ürettiği kimyasalların antianksiyete ve antidepresan etkilerinin ortadan kalkması ayrıca merkezi GABA reseptörü mRNA seviyeleri üzerindeki negatif etkileri, vagusa bağımlı taşınımı ispatlamaktadır [143]. Mikrobiyota sadece metabolizma ürünlerinden nöral sinyal üretimi yapmaz aynı zamanda direk GABA, seratonin, dopamin ve nörepinefrin gibi nöroaktif moleküller de üretebilir [135] .



Şekil 1.9. Beyin-bağırsak ekseninde iletişim yolları [144]

(KZYA, Kısa zincirli yağ asitler; İPAN, İntirinsik primer afferent nöron; 5-HT, 5-hidroksitriptamin ya da Seratonin; GI, Gastrointestinal)

1.2.6.2. Nöroendokrin ve Enteroendokrin Sinyal Yolları

"Vücudumuzdaki en büyük endokrin organ bağırsağımızdır" denilebilir. Bağırsak nöroendokrin hücreler bağırsak boyunca yayılmış ve epitel arasına serpiştirilmiş 12'den fazla alttürü sinyal molekülleri üreten hücrelerdir. Bu hücreler mikrobiyota ve postbiyotikler ile MSS iletişimi kuran hücrelerin başında gelmektedir. Enteroendokrin hücrelerin lümene bakan tarafında besin reseptörleri bulunur ve besine yanıt olarak peptid hormonları salgılar. Üretmiş oldukları sinyal molekülleri ya kan dolaşımına girip MSS deki davranış merkezlerine ulaşarak ya da bağırsak veya karaciğerdeki afferent vagal terminalleri uyararak beyin sinyalleri oluşturabilirler. MSS de bu uyarılar; açlık-tokluk ve günlük beslenme de etkili olur.

Enteroendokrinlerin alttürlerinden biri olan farnesoid X reseptörünün (FXR) ileal ekspresyonu, safra asitleri tarafından aktive edilerek fibroblast büyüme faktörü 19' un (FGF19) üretilmesine yol açar, bu da sistemik dolaşıma girip kan beyin bariyerini geçebilir. Bu sayede FXR/FGF19 hipotalamusun nöropeptid Y üreterek hem enerji ve glukoz metabolizmasını düzenlemesi sağlar hem de hipotalamik hipofiz adrenal eksen (HPA) aktivitesini baskılar. Distal bağırsak ve kolonda bulunan L hücreleri lümendeki glikoz, aminoasit ve kısa zincirli yağ asitlerini alarak GLP-1, GLP-2 ve peptid YY salgısı yapar. Bu moleküller gıda alımı ve sindirim düzenlenmesinde, glukoz homeostazında ve mukozal proliferasyonda etkili olur [135].

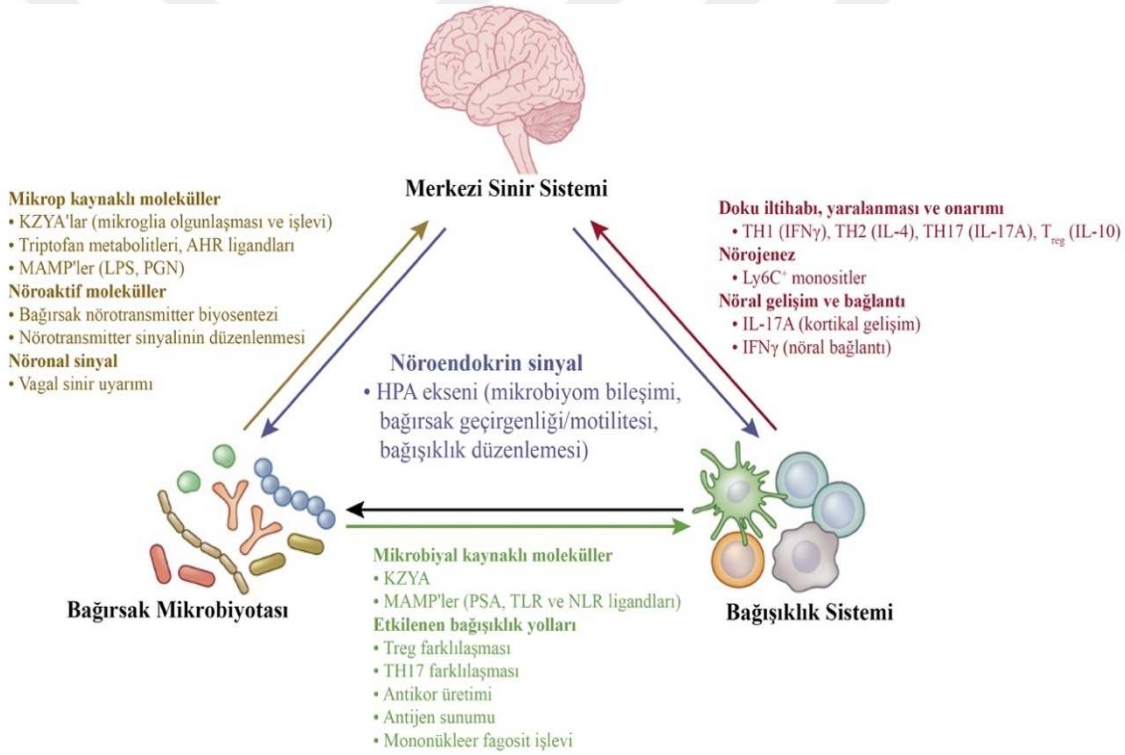
Seratonin (5-HT ya da 5-hidroksitriptamin), gastrointestinal sistemde enterokromaffin hücreler (ECC) tarafından sentezlenen monoamin yapılı bir nörohormondur. %90 lık kısmı ECC ler tarafından üretilen ve %95 lik kısmı yine bu hücrelerde depolanan seratonin, MSS ile GI sistem arasında çift yönlü iletişimin iyi bir örneğidir. Seratonin esansiyel bir aminoasit olan triptofan aminoasiti ile triptofan hidroksilaz enziminin tepkimesi sonucu sentezlenir. Bağırsak mikrobiyotası, MSS de seratonin üretimi için triptofanın mevcudiyetine katkıda bulunur. Mikrobiyota sağlıklı ise plazmada triptofan seviyesi ve hipokampüste seratonin seviyesi yeterli olmaktadır. Disbiyoz farelerin plazma metabolit analizi yapıldığında sağlıklı farelere göre seratonin seviyesi ciddi miktarda azaldığı gözlenmiştir [145].

1.2.6.3. Direk nöral sinyaller ve nöroimmün Sinyaller

Her ne kadar diyet bileşenlerini, bağırsak peptidlerini, bakteriyal metabolitleri algılayan vagal reseptörler vasıtası ile sinyaller oluşturulup MSS i uyarılsa da direkt olarak

bağırsak mikrobiyotası da nöron aktivitesine neden olabilir. Örneğin *L. rhamnosus, B. fragilis* ve ondan izole edilen polisakarit A, ex-vivo bağırsak afferent nöronlarını aktive ettiği gösterilmiştir [146].

Bağırsak mikrobiyotasının, immünolojik değişiklikler ile MSS fonksiyonlarını etkilediği bilinmektedir. Nitekim bağırsaklarda üretilen mikrobiyal kaynaklı ürünler ve bunlardan etkilenen bağışıklık yolları çevresel bağışıklık sistemini etkilemektedir. Bunun sonucunda doku inflamasyonu ve tamiri için, nörogenez için ve nöral gelişim için birtakım sitokinler salgılanmaktadır. Sonuçta MSS gelen sinyallara göre mikrobiyota kompozisyonu, bağırsak geçirgenliği ve bağışıklık düzenlemeleri için uyartılar oluşturmaktadır [108]. Şekil 1.10 bu üç sistem arasında moleküler etkileşimi göstermektedir.



Şekil 1.10. Mikrobiyota, bağışıklık sistemi ve MSS arasındaki moleküler etkileşim.

(HPA eksen, hipotalamik-hipofiz-adrenal eksen; KZYA, Kısa zincirli yağ asitleri; MAMP, mikropla ilişkili moleküler modeller; LPS, lipopolisakkarit; PGN, peptidoglikan; IFNγ, interferon gama; IL, interlökin; PSA, polisakkarit A; TLR, Toll-like reseptör; NLR, Nod-like reseptör [108])

1.2.6.4. Bağırsak mikrobiyotasından beyne sinyal iletiminde bariyerler

Bağırsak-beyin ekseni içerisinde sinyaller iki bariyerden geçmek zorundadır. Bunlar bağırsak bariyeri ve kan-beyin bariyeridir. Konağın durumuna bağlı olarak bu iki yapının geçirgenliği değişebilmekte ve bağırsaktan beyne ulaşan bilgi miktarı stres veya inflamasyon gibi olaylarda oldukça artmaktadır.

Bağırsak bariyeri, tek tabakalı epitel hücreleri ve bu hücrelerin lümen kısmında yer alan mukus tabakası olmak üzere iki katmandır. Epitel hücreler birbirlerine sıkı bağlantılarla ile bağlanmış farklı görevlerdeki hücrelerdir. Mukus tabakası ise IgA ve antimikrobiyal peptidler bulunduran kalınlığı duruma göre değişebilen yapıdadır.

Bağırsak hücrelerinden biri olan Paneth hücreleri, lizozim, defensin ve diğer immün düzenleyici proteinlerin salgılanması yoluyla antimikrobiyal ve mikrobiyota modüle edici bir rol oynar. Paneth hücrelerinin ürettiği IL-22'nin bağırsak sağlığında çok sayıda role sahip olduğu kabul edilmiştir [147, 148]. IL-22 epitelyal hücre rejenerasyonunda, mukus homeostazında ve antimikrobiyal peptitlerin salınmasında etkilidir. Crohn hastalığı altında yatan sebeplerden birinin paneth hücrelerinin işlev bozukluğu ve IL-22 üretiminin düzensizliği olduğu bildirilmiştir. M hücreleri (Microfold cell), mukoza ile ilişkili lenfoid dokuların özelleşmiş epitel hücreleridir. M hücrelerinin bir özelliği, antijenleri lümenden bağışıklık sisteminin hücrelerine taşımaları ve böylece bir bağışıklık tepkisi veya toleransı başlatmalarıdır.

Mukus tabakası epitel üzerine yapışık iç katman ve kalın ve daha gevşek dış katman olarak ikiye ayrılır. Mikrobiyota glikoproteince zengin dış katmana yerleşmiştir. İç mukus katmanında genelde mikroorganizma bulunmaz ve bu bariyer doğuştan kazanılmış bağışıklık mekanimaları. IgA ve adaptif bağışıklık mekanizmaları ile epitein bakteri ile temasına engel olur. Bağırsak mikrobiyotası ve parçaları -mikroorganizma ile ilişkili moleküler modeller ve patojenle ilişkili moleküler modeller ve ürünler- bağırsak bariyerini fizyolojik olarak değiştirirse bağışıklık hücreleri üzerindeki spesifik reseptörler (Toll-like reseptörler) bu değişimi algılar ve buna uygun immünolojik tepkilerle tolere eder ve bağışıklık homeostazı sağlanır [149].

Kan-Beyin Bariyeri (KBB), dolaşım sistemi ile MSS'nin beyin omurilik sıvısı arasındaki moleküler alışverişi düzenleyen, besin öğelerini geçirip toksik bileşiklerin ve patojenlerin beyne geçişini önleyen seçici ve dinamik endotel bir bariyerdir. Bağırsak mikrobiyotası, okludin ve claudin-5 gibi sıkı bağlantı proteinlerinin sentez ve salınımını

düzenleyerek ederek KBB geçirgenliğini azaltabilir [150]. Bakteri hücre duvarı yapıtaşlarından olan lipopolisakkarit veya lipoteikoik asit KBB işlevlerini doğrudan veya dolaylı değiştirebilmektedir.

1.2.6.5. Mikrobiyota ve postbiyotiklerin, konak davranışı ve sinir sistemi işlevlerine etkisi

Mikroorganizmalar, beyin bağırsak arasındaki iletişimde ürettikleri postbiyotiklerle veya konakçının nörotransmitter üretilmesini etkileyerek aracılık ederler. Postbiyotikler ya bağışıklık sistemini etkileyerek ya da direk vagus siniri yolu ile beyne sinyal gönderebilirler.

Farelerde *Lactobacillus reuteri*, oksitosin üretir ve beyin hücrelerinde üretimini ve plazmada seviyesini artırır ve nöronal plastisiteyi düzenler [151]. *L. reuteri* uygulaması, otizm spektrum bozukluğu fare modellerinde sosyal davranışı artırır [152]. Obsesif kompulsif bozukluklu insanlarda *L. reuteri* takviyesinin sosyal davranışta pozitif etkisi görülememiştir [136].

Lactobacillus rhamnosus, γ-aminobütirik asit (GABA) üretir ve beyindeki GABA reseptörlerini -$GABA_{A\alpha2}$ ve $GABA_{B1b}$ reseptörleri- düzenler. Farelerde depresyon ve anksiyete benzeri davranışları azalttığı böylece sosyal duyarlılığı düşürdüğü görülmüştür [137].

Bifidobacterium longum NCC3001, farelerde beyin kaynaklı nörotrofik faktörü (BDNF) artırarak anksiyete ve depresif benzeri davranışları azaltır, enterik sinir sistemindeki (ENS) nöronal plastisiteyi arttırır ve anksiyete ve depresyon benzeri davranışları azaltır [153].

Bacteroides fragilis'in farelerde kısmen 4-etilfenilsülfatın (4-EPS) indirgenmesine bağlı olarak kaygı benzeri davranışları, tekrarlayan davranışları ve iletişimi iyileştirdiği bilinmektedir [154].

Bir çok mikroorganizmanın ürettiği kısa zincirli yağ asitleri (KZYA'lar), mikroglia olgunlaşmasında yer alan genleri düzenleyebilir ve farelerde morfoloji değişikliklerini indükleyebilir [155].

2. MATERYAL METOD

2.1. HAYVANLAR

Çalışmada kullanılan 2-3 aylık ve 230±30 gr ağırlığında ergin Wistar cinsi erkek sıçanlar (n=70), Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden sağlanmıştır. Laboratuvarda sıçanlar, 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ışık döngüsü, 23 ºC oda sıcaklığı, 60± 5% nem şartlarında tutulmuş, besin ve su alımları serbest bırakılmıştır.

2.2. GRUPLAR, MADDELER VE DOZLARI

Çalışmada, canlı *L. rhamnosus* günlük 1 mL $1x10^{10}$ cfu/mL olarak deney guruplarına göre 4 hafta (28 gün) ve 10 hafta (70 gün) gavajla uygulama sağlanmıştır. Belirlenen beslenme günleri bittiğinde 1.25 gr/kg i.p. miktarda üretan ile anestezi altına alınmıştır. Penisilin G potasyum tuzu 2 µl hacim içinde 500 IU intrakortikal (i.c.) olarak uygulanarak epilepsi oluşturulmuştur. Tüm ilaçlar günlük hazırlanmıştır.

2.3. DENEY GRUPLARI, MADDELER VE VERİLİŞ YOLLARI

Çalışmamızda 70 adet ergin erkek Wistar sıçan kullanıldı. Hayvanlar: sham, Penisilin (Pen), *L. rhamnosus* (SLBR-4), diazepam + penisilin (DZM- 4), *L. rhamnosus* + penisilin (LBR-4), ve *L. rhamnosus* + Diazepam + Penisilin (LBR-DZM-4), *L. rhamnosus* (SLR-10), diazepam + penisilin (DZM-10), *L. rhamnosus* + penisilin (LBR-10), ve *L. rhamnosus* + Diazepam + Penisilin (LBR-DZM-10) olmak üzere her grupta 7 sıçan olacak şekilde 10 farklı gruba ayrılmıştır.

Sham grubuna tüm cerrahi işlemler uygulandıktan sonra herhangi bir madde uygulaması yapılmadı. Penisilin (Pen) grubuna ise sadece tek uygulama olacak şekilde intrakortikal penisilin enjeksiyonu yapıldı.

L. rhamnosus (SLBR-4), diazepam+penisilin (DZM-4), *L. rhamnosus*+penisilin (LBR-4), ve *L. rhamnosus*+Diazepam+Penisilin (LBR-DZM-4) gruplarına, 4 hafta boyunca günde bir kez $1x10^{10}$ cfu/mL *L. rhamnosus* gavaj ile verilmiştir. (Şekil 2.1)

Resim 2.1. Sıçanlara günlük gavajla *L. rhamnosus* verilmesi

L. rhamnosus (SLBR-10), diazepam+penisilin (DZM-10), *L. rhamnosus*+penisilin (LBR-10), ve *L. rhamnosus*+Diazepam+Penisilin (LBR-DZM-10) gruplarına ise 10 hafta boyunca günde bir kez $1x10^{10}$ cfu/mL canlı *L. rhamnosus* gavaj ile verilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Deney grupları, maddeler ve veriliş yolları

Grup No	Grup Adı	Verilen Maddeler	Verilen Miktar	Veriliş Şekli	Veriliş Süresi	Hayvan Sayısı
1	SHAM	Salin	1 ml/kg	Oral	10 hafta	7
2	Kontrol (KONT)	Penisilin	500 IU	İc	1 gün	7
3	Diazepam-4 (DZM-4)	Diazepam	2 mg/kg	İp/İc	4 hafta	7
4	Diazepam-10 (DZM-10)	Diazepam	2 mg/kg	İp/İc	10 hafta	7
5	Sadece LBR-4 (SLBR-4)	*L.rhamnosus*	$1x10^{10}$cfu/ml	Oral	4 hafta	7
6	Sadece LBR-10 (SLBR-10)	*L.rhamnosus*	$1x10^{10}$cfu/ml	Oral	10 hafta	7
7	LBR4	*L.rhamnosus*	$1x10^{10}$cfu/ml	Oral/ic	4 hafta	7
8	LBR-10	*L.rhamnosus*	$1x10^{10}$cfu/ml	Oral/ic	10 hafta	7
9	LBR-DZM-4	*L.rhamnosus*+Diazepam	$1x10^{10}$ cfu/ml+2mg/kg	Oral/ip/ic	4 hafta	7
10	LBR-DZM-4	*L.rhamnosus*+Diazepam	$1x10^{10}$cfu/ml+2mg/kg	Oral/ip/ic	10 hafta	7

Penisilin uygulanacak tüm gruplarda, madde uygulamalarından 24 saat sonra tek doz intrakortikal penisilin uygulaması yapıldı. Onun dışında herhangi bir grubuna penisilin enjeksiyonu yapılmamıştır.

2.4. ELEKTROFİZYOLOJİK ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ

2.4.1. *Cerrahi Prosedür*

Tüm gruplarda her hayvan intraperitoneal olarak 1.25 g/kg'lık üretanla anesteziye alındıktan sonra stereotaksik çerçeveye tespit edilmiştir. Baş bölgesi tıraş edilip, kafa derisi orta hat boyunca önden arkaya bistüri ile kesilmiş ardından sol serebral korteks üzerindeki kemik kısmı tur motoruyla inceltilerek çıkarılmıştır. Epileptik aktivite kayıtları sonrası hayvanlardan kan ve beyin dokusu örnekleri alındı.

2.4.2. *Epileptiform Aktivitenin Oluşturulması*

Bregma hattının 2 mm lateraline, 1 mm önüne ve 1.2 mm korteks derinliğine Hamilton mikroenjektörü ile 500 IU/ 2 µl penisilinin i.c. olarak verilmesiyle epileptik aktivite oluşturulmuştur.

2.4.3. *Elektrofizyolojik Kayıtlar*

Açılan somatomotor korteks alanına iki adet Ag-AgCl top elektrotlar yerleştirilerek bazal aktivite kaydı alınmaya başlanmıştır. Beş dakikalık bazal aktivite kaydının ardından intrakortikal penisilin enjeksiyonu ile epileptiform aktivite oluşturuldu. Penisilin enjekte edilmesinden başlayıp 120 dakika boyunca diken dalgalar kaydedildi. Power Lab Chart v.6.0 yazılım programı ile alınan kayıtların analizleri yapıldı. Kayıt bitimi sonrası hayvanlardan kan numuneleri alındı. Kan numuneleri 3000 rpm dönüş hızında 15 dakika santrifüj edildikten sonra serumlarda ELİSA yöntemi ile SOD, CAT, GPx ve GABA düzeylerinin belirleninceye kadar -80 ˚C'lik soğutucuda saklandı. Bunlara ek olarak SOD, CAT, GPx ve GABA düzeylerini belirlemek için beyin ve bağırsaklar çıkartılarak ELİSA çalışmalarında kullanılmak üzere -80 ˚C'lik soğutucuda saklandı.

2.5. DOKU HOMEJENATLARINDA VE SERUMDA PARAMETRELERİN ELISA YÖNTEMİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

2.5.1. *Doku Lizatı Hazırlama*

Kriyoviallerde -80º C sıcaklıkta saklanan beyin dokuları önce buz üzerine alındı. Daha sonra dokular mekanik parçalandı ve dokular darası alınmış 1,5'luk ependorflara konuldu ve 0,2 gr dokuya 600 µl Laemli Buffer ve 10 µl PİK olacak şekilde ependorf üzerine eklendi. Her 10 dk'da bir vortekslenerek 1 saat buz üzerinde bekletildi. Daha sonra ependorflardaki dokular 10 sn %70 power güç ile 9 siklus sonikatör uygulaması ardından +4°C'de 20 dk 12000 rpm santrifüj yapılarak süpernatantlar oluşturuldu. Elde edilen hücre lizatları, yeni ependorflara alınıp, ELİSA testi yapılana kadar -20 °C'de saklandı.

Lizatların içerdiği protein miktarı belirlenirken BCA metodu kullanılmıştır. Bu metodda standart olarak protein içeriği 1mg/ml olan BSA kullanılır. BSA'nın S0 (1000 µg/ml), S1 (500 µg/ml protein), S2 (250 µg/ml), S3 (125 µg/ml), S4 (62,5 µg/ml), S5 (31,3 µg/ml), S6 (15,6 µg/ml), S7 (7,8 µg/ml) dilüsyonları hazırlanarak standart protein aralığı düzenlendi. Lizatlar, 1:50 oranında lizis buffer ile dilüe edilip iyice vortekslendi. Kör olarak lizis buffer kullanıldı. BCA kit içeriğindeki Bicinchoninic Acid Solution ve Copper (II) Sulfate Solution'nu 98:2 oranında karıştırılıp çalışma solüsyonu hazırlandı. Daha sonra 96 kuyucuklu plate standartlara, blank ve örnekler her kuyucuğa 25 µl olacak şekilde aktarıldı. Üzerlerine her kuyucuğa 200 µl olacak şekilde çalışma solüsyonu eklendi. Böylece her kuyucukda toplam hacim 225 µl oldu. İnkübatörde 60°C sıcaklıkta 15 dk inkübe edildikten sonra spektrofotometrede 562 nm dalga boyunda okunması sağlandı.

2.5.2. *Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi*

Toplanan serum ve doku homejenat örneklerinden SOD, CAT, GPx ve GABA düzeylerini belirlemek için ticari kitler kullanıldı. Bunun için rat SOD (Cat: *ELK5616)*), rat CAT (Cat: *ELK5986*) ve rat GPx (Cat: *ELK2222*). ELK marka elisa kitleri (ELK biotechnology CO., LTD, Hubei, ÇİN) kullanılırken, GABA (Cat. *201-11-0103*), elisa kiti (Shanghai Sunred Biological Technology, China) tedarik edildi. Tüm parametreler kit prosedürüne uygun olarak eliza okuyucu cihazı (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) ile ölçüldü.

2.5.3. *İstatistiksel Analiz*

Bilgisayar yazılımı (Chart v.7.3.8, ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, NSW, Avustralya) kullanılarak hayvanlardan elde edilen kayıtlardan, epileptiform aktivite başlama latensi, diken-dalga sıklığı ve diken dalga genliği parametreleri otomatik olarak hesaplandı. Beşer dakikalık periyotlara ayrılan epileptiform aktivite kayıtları analiz edildi. Gruplar arası farklılıklar Kruskal-Wallis testi ile, farklı gruplar post hoc Dunn çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Benzer şekilde SOD, CAT, GPx ve GABA değerleri bakımından grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve farklı gruplar post hoc Dunn çoklu karşılaştırma testi yöntemi ile belirlendi. İstatistik anlamlılık düzeyi olarak $P < 0.05$ kabul edildi. Analizlerde GraphPad Prism 8 programı kullanıldı.

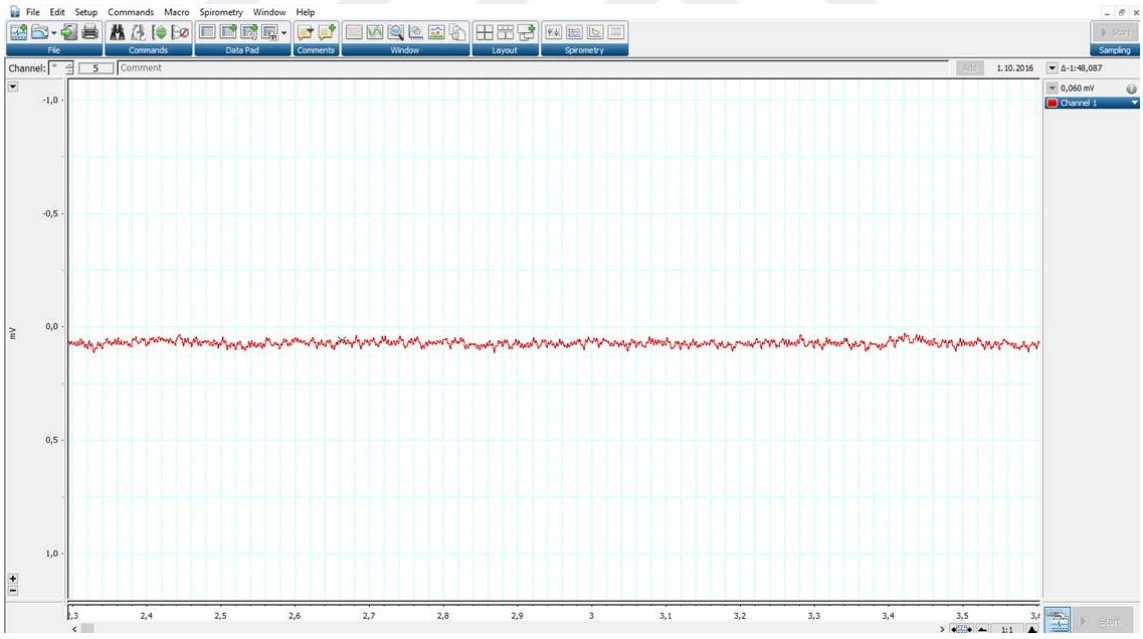
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. *Elektrokortikografik Bulgular*

3.1.1.1. Sham gruplarında ve penisilinle uyarılmayan hayvanlarda L. rhamnosus uygulamasının etkisi

Çalışmada kullanılan *L. rhamnosus* (LBR), her grupta en az yedi hayvan olacak şekilde uygulanmıştır. Bu maddenin tek başına sürmekte olan bazal aktiviteye bir etkisi olup olmadığı test edildi. Çalışmamızda kullanılan LBR'nın $1x10^{10}$ cfu/ml dozunun hem 4 haftalık uygulamada hem de 10 haftalık uygulamada bazal aktivite üzerinde herhangi bir epileptiform aktivite etkisi gözlemlenmedi (Şekil 3.1). Benzer şekilde Sham gruplarında da herhangi bir epileptik aktivite gözlenmedi.



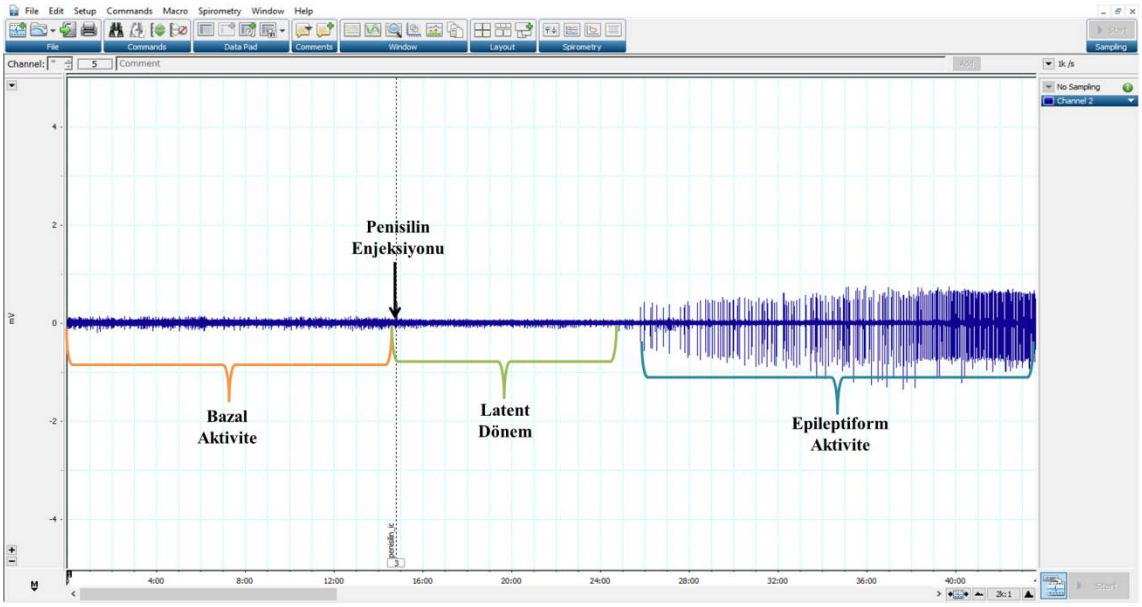
Şekil 3.1. Üretan anestezisi altındaki Wistar sıçanda sol hemisferin somatomotor alanına ait tipik bir bazal aktivite kaydı

3.1.1.2. Penisilin kaynaklı epileptiform aktivitenin incelenmesi

Penisilin, kortekste epileptik boşalımlara sebep olmaktadır ve bu durum elektrokortikogram (ECoG) kayıtlarında belirgin bir şekilde görülmektedir. Kontrol grubunda penisilinin korteks yüzeyinden 1,2 mm aşağısına enjekte edilmesinden 228-

1080 saniye sonra ECoG kayıtlarında diken-dalgalar ortaya çıktı(Şekil 4.2). Penisilin verilmesinden yaklaşık 228-1080 saniye sonra başlayan bu epileptik boşalımlar, kayıt süresince devam etti.

Kontrol (penisilin) grubunda penisilin verilmesinden sonraki ilk periyot olan 0-5 dak arasında ortalama diken-dalga sayısı 1,28 ve diken-dalga genliği 0,597 mV olarak bulundu. Ortalama diken-dalga sıklığının en yüksek olduğu periyot 56-60. dak arasında ve 119,66 olarak bulunurken, diken-dalga genliğinin en yüksek olduğu periyot 41-45. dak arasında ve 1,904 mV olarak saptandı. Kontrol grubunda son periyot olan 116-120. dak arasında ortalama diken dalga sayısı 109,66 olarak bulunurken, diken dalga genliği ise 1,413 mV olarak bulundu.



Şekil 3.2. Penisilin G enjeksiyon sonrası ECoG dalgalarındaki değişimler.

Penisilin enjeksiyonundan hemen sonra başlayan latens dönemi, kontrol grubunda ortalama 757 saniye sürdü. Latens dönem Şekil 3.2 de görüldüğü gibi bazal aktiviteye göre daha düşük genlikte dalgalarla kendisini gösterir. Latens dönemin sonunda ani, düzensiz diken-dalga başlangıçları gözlendi ve epileptik süreç başladı.

3.1.1.3. L. rhamnosus uygulamasının ilk epileptiform aktivitenin Latens üzerine etkisi

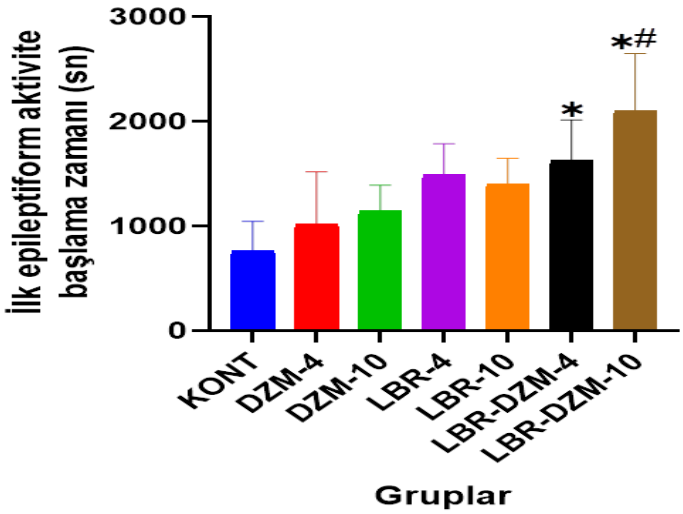
Penisilin sonrası epileptiform aktiviteye ait diken dalgalar 757-2101 saniyeler arasında görülmeye başlandı (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.3). Gruplar latens uzunluğuna göre karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P=0,0001).

Çizelge 3.1. Grupların zamana bağımlı ilk epileptiform aktivitenin başlama zamanı yönünden karşılaştırılmasından elde edilen istatistiksel değerler.

Gruplar	N	Ortalama	SD	Minimum	Maksimum	P
KONT	7	757	287,3	228	1080	
DZM-4	7	1013,57	503,2	371	1793	
DZM-10	7	1142,42	247,3	674	1450	
LBR-4	7	1487,14	298,9	1106	1918	**0,0001**
LBR-10	7	1398,71	248,9	922	1666	
LBR-DZM-4	7	1624,71*	387,5	975	1982	
LBR-DZM-10	7	2101*#	544,6	1289	2769	

(*KONT grubuna göre anlamlı, #DZM-4 grubuna göre anlamlı).

Gruplar incelendiğinde LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının latens ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha büyük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0121 ve p=0,0002). Bununla birlikte LBR-DZM-10 grubunun latens ortalamalarının DZM grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı (P=0,0160). Diğer grupların latens ortalamalarının kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamı değildi (P<0,05).



Şekil 3.3. Latens süresi (*Kontrol grubuna göre anlamlı, #DZM-4 grubuna göre anlamlı).

3.1.1.4. L. rhamnosus uygulamasının zamana bağlı epileptiform aktivitenin diken dalga sıklığı üzerine etkisi

Gruplarından alınan 5 dakikalık bazal aktivite kayıtları süresince herhangi bir epileptiform aktivite gözlenmedi. Penisilin uygulaması sonrası beşer dakikalık periyotlarda alınan ölçümde ise belirli sayılarda diken-dalga frekans değerleri elde edildi (Şekil 3.4 ve Çizelge 3.2-3.7). Farklı periyotlardaki diken dalga sıklığı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler grupların sonuçları ilerli bölümlerde verilmiştir. Tablolar incelendiğinde, 36-120 dakikalar arasında grupların ortalama diken dalga sayıları arasında istatistiksel fark saptandı ($p<0,05$). Fakat 0-35 dakikaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Gruplardan alınan 120 dakikalık ECoG kayıtlarından elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına ait istatistiksel veriler ayrıntılı olarak aşağıda verildi.

Gruplardan alınan veriler daha ayrıntılı incelendiğinde, 0-35 dakikaları arasında grupların epileptiform aktivite DDS ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($P>0,05$), (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3).

36-40 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, grupların epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,0034$), (Çizelge 3.3). Ayrıntılı bakıldığında LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p=0,0017$, $p=0,0269$ ve $p=0,0165$). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.2. Penisilin sonrası 0-20. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
0-5	**KONT**	7	1,50	3,21	0,00	8,00	0,627
	DZM-4	7	0,00	0,00	0,00	0,00	
	DZM-10	7	2,86	6,34	0,00	17,00	
	LBR-4	7	0,00	0,00	0,00	0,00	
	LBR-10	7	0,00	0,00	0,00	0,00	
	LBR-DZM-4	7	0,00	0,00	0,00	0,00	
	LBR-DZM-10	7	0,00	0,00	0,00	0,00	
6-10	**KONT**	7	15,40	30,30	0,00	76,00	0,1246
	DZM-4	7	0,33	0,82	0,00	2,00	
	DZM-10	7	3,29	7,41	0,00	20,00	
	LBR-4	7	0,29	0,76	0,00	2,00	
	LBR-10	7	0,71	1,50	0,00	4,00	
	LBR-DZM-4	7	0,00	0,00	0,00	0,00	
	LBR-DZM-10	7	0,00	0,00	0,00	4,00	
11-15	**KONT**	7	20,60	40,20	0,00	101,00	0,2452
	DZM-4	7	2,83	5,23	0,00	13,00	
	DZM-10	7	4,71	11,61	0,00	31,00	
	LBR-4	7	9,86	25,64	0,00	68,00	
	LBR-10	7	1,17	1,60	0,00	4,00	
	LBR-DZM-4	7	0,43	1,13	0,00	3,00	
	LBR-DZM-10	7	0,00	0,00	0,00	4,00	
16-20	**KONT**	7	34,20	51,78	0,00	134,00	0,6142
	DZM-4	7	5,67	8,82	0,00	23,00	
	DZM-10	7	18,29	32,87	0,00	84,00	
	LBR-4	7	20,29	51,05	0,00	136,00	
	LBR-10	7	2,17	3,06	0,00	8,00	
	LBR-DZM-4	7	6,43	12,69	0,00	35,00	
	LBR-DZM-10	7	0,60	1,10	0,00	35,00	

Çizelge 3.3. Penisilin sonrası 21-40. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
21-25	**KONT**	7	37,83	43,02	0,00	127,00	0,2421
	DZM-4	7	10,00	16,46	0,00	43,00	
	DZM-10	7	24,57	26,77	0,00	67,00	
	LBR-4	7	28,71	59,72	0,00	163,00	
	LBR-10	7	1,17	1,47	0,00	3,00	
	LBR-DZM-4	7	23,43	36,77	0,00	99,00	
	LBR-DZM-10	7	2,40	4,38	0,00	99,00	
26-30	**KONT**	7	50,83	67,82	0,00	199,00	0,1066
	DZM-4	7	21,83	21,29	1,00	56,00	
	DZM-10	7	32,29	44,80	0,00	121,00	
	LBR-4	7	42,57	57,77	1,00	156,00	
	LBR-10	7	0,83	0,98	0,00	2,00	
	LBR-DZM-4	7	28,29	43,26	0,00	103,00	
	LBR-DZM-10	7	9,60	17,53	0,00	103,00	
31-35	**KONT**	7	68,00	56,26	0,00	168,00	0,0752
	DZM-4	7	33,83	31,54	1,00	83,00	
	DZM-10	7	32,57	39,77	0,00	85,00	
	LBR-4	7	48,86	46,18	9,00	137,00	
	LBR-10	7	1,50	1,76	0,00	4,00	
	LBR-DZM-4	7	25,43	36,49	0,00	85,00	
	LBR-DZM-10	7	17,80	32,50	0,00	89,00	
36-40	**KONT**	7	68,00	56,26	0,00	168,00	**0,0034**
	DZM-4	7	33,83	31,54	1,00	83,00	
	DZM-10	7	32,57	39,77	0,00	85,00	
	LBR-4	7	48,86	46,18	9,00	137,00	
	LBR-10	7	1,50	1,76	0,00	4,00	
	LBR-DZM-4	7	25,43	36,49	0,00	85,00	
	LBR-DZM-10	7	17,80	32,50	0,00	89,00	

41-45 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,0023), (Çizelge 3.4). Ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamaları, kontrol grubuna göre daha düşük çıkmıştır(p değerleri sırasıyla; p=0,0441, p=0,0016, p=0,0288 ve p=0,0214). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

46-50 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,0042), (Çizelge 3.4). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, LBR-10 ve LBR-DZM-10 gruplarının DDS ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0236, p=0,0027 ve p=0,0136). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

51-55 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p<0,0001), (Çizelge 3.4). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p<0,0001, p=0,0015, p=0,0202, p<0,0001, p=0,0068 ve p=0,0002). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

56-60 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p<0,0001), (Çizelge 3.4). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p<0,0001, p<0,0001, p=0,0056, p<0,0001, p=0,0005 ve p<0,0001). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.4. Penisilin sonrası 41-60. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
41-45	**KONT**	7	112,17	74,77	5,00	201,00	**0,0023**
	DZM-4	7	31,17	38,88	0,00	106,00	
	DZM-10	7	48,00	51,22	0,00	138,00	
	LBR-4	7	68,00	36,43	24,00	125,00	
	LBR-10	7	1,67	4,08	0,00	10,00	
	LBR-DZM-4	7	30,14	40,86	0,00	99,00	
	LBR-DZM-10	7	27,20	32,96	0,00	99,00	
46-50	**KONT**	7	112,50	81,14	6,00	206,00	**0,0042**
	DZM-4	7	23,33	40,84	0,00	105,00	
	DZM-10	7	44,43	45,89	0,00	113,00	
	LBR-4	7	70,71	34,16	21,00	115,00	
	LBR-10	7	3,00	3,95	0,00	10,00	
	LBR-DZM-4	7	47,14	47,76	0,00	102,00	
	LBR-DZM-10	7	29,60	35,66	0,00	105,00	
51-55	**KONT**	7	112,00	87,84	2,00	241,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	17,83	34,69	0,00	88,00	
	DZM-10	7	46,71	44,89	0,00	100,00	
	LBR-4	7	69,57	37,11	21,00	110,00	
	LBR-10	7	2,17	3,13	0,00	8,00	
	LBR-DZM-4	7	59,57	57,03	0,00	150,00	
	LBR-DZM-10	7	30,60	37,42	0,00	150,00	
56-60	**KONT**	7	119,67	96,57	0,00	271,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	16,67	34,62	0,00	87,00	
	DZM-10	7	36,00	35,60	0,00	82,00	
	LBR-4	7	73,57	36,06	18,00	110,00	
	LBR-10	7	5,50	5,09	0,00	11,00	
	LBR-DZM-4	7	54,14	51,66	0,00	150,00	
	LBR-DZM-10	7	25,80	34,80	0,00	150,00	

61-65 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, grupların epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.5). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının konttrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p=0,0006$, $p=0,0022$, $p<0,0001$, $p=0,0289$ ve $p=0,0014$). Bu ek olarak LBR-4 grubunun DDS ortalaması kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,3727$). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

66-70 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.5). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p=0,0015$, $p<0,0001$, $p=0,0002$ ve $p<0,0001$). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

71-75 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.5). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p=0,0007$, $p<0,0001$, $p=0,0002$ ve $p<0,0001$). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

76-80 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, epileptiform aktivite diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.5). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p=0,0004$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Aynı zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.5. Penisilin sonrası 61-80. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
61-65	**KONT**	7	109,50	87,15	0,00	240	**<0,0001**
	DZM-4	7	16,33	29,12	0,00	75	
	DZM-10	7	30,57	35,32	0,00	81	
	LBR-4	7	67,14	37,58	17,00	113	
	LBR-10	7	6,00	7,72	0,00	20	
	LBR-DZM-4	7	51,14	36,86	0,00	86	
	LBR-DZM-10	7	27,00	36,63	0,00	106	
66-70	**KONT**	7	114,83	96,01	0,00	274	**<0,0001**
	DZM-4	7	11,67	20,02	0,00	52	
	DZM-10	7	29,29	37,55	0,00	84	
	LBR-4	7	63,57	39,52	7,00	116	
	LBR-10	7	3,29	4,72	0,00	12	
	LBR-DZM-4	7	48,29	38,28	0,00	95	
	LBR-DZM-10	7	22,40	32,36	0,00	95	
71-75	**KONT**	7	174,50	78,26	85,00	290	**<0,0001**
	DZM-4	7	7,33	11,18	0,00	29	
	DZM-10	7	26,43	40,02	0,00	91	
	LBR-4	7	50,86	49,63	2,00	132	
	LBR-10	7	1,71	2,63	0,00	6	
	LBR-DZM-4	7	42,71	36,57	0,00	91	
	LBR-DZM-10	7	19,40	31,47	0,00	91	
76-80	**KONT**	7	163,50	61,29	106,00	251	**<0,0001**
	DZM-4	7	3,17	4,75	0,00	12	
	DZM-10	7	35,71	44,71	0,00	89	
	LBR-4	7	47,57	50,15	2,00	124	
	LBR-10	7	2,29	4,86	0,00	13	
	LBR-DZM-4	7	30,43	29,72	0,00	75	
	LBR-DZM-10	7	16,60	27,22	0,00	76	

Çizelge 3.6. Penisilin sonrası 81-100. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
81-85	**KONT**	7	141,40	90,76	7,00	260,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	1,00	2,45	0,00	6,00	
	DZM-10	7	34,57	42,68	0,00	90,00	
	LBR-4	7	41,43	50,49	0,00	120,00	
	LBR-10	7	1,57	2,82	0,00	7,00	
	LBR-DZM-4	7	28,14	32,53	0,00	73,00	
	LBR-DZM-10	7	12,00	11,96	0,00	73,00	
86-90	**KONT**	7	128,00	82,77	1,00	248,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	1,33	3,27	0,00	8,00	
	DZM-10	7	27,86	39,85	0,00	86,00	
	LBR-4	7	33,86	42,19	0,00	99,00	
	LBR-10	7	1,14	1,95	0,00	4,00	
	LBR-DZM-4	7	24,14	26,51	0,00	57,00	
	LBR-DZM-10	7	6,40	7,95	0,00	57,00	
91-95	**KONT**	7	132,20	81,59	5,00	236,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	0,83	1,60	0,00	4,00	
	DZM-10	7	24,71	37,60	0,00	80,00	
	LBR-4	7	25,14	30,50	0,00	62,00	
	LBR-10	7	1,86	3,29	0,00	8,00	
	LBR-DZM-4	7	24,86	27,13	0,00	56,00	
	LBR-DZM-10	7	0,00	0,00	0,00	56,00	
96-100	**KONT**	7	130,00	90,01	4,00	254,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	0,83	2,04	0,00	5,00	
	DZM-10	7	25,00	40,73	0,00	87,00	
	LBR-4	7	22,14	30,57	0,00	75,00	
	LBR-10	7	3,43	6,21	0,00	17,00	
	LBR-DZM-4	7	20,00	22,79	0,00	53,00	
	LBR-DZM-10	7	3,40	5,76	0,00	53,00	

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 81-85 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.6). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Diğer gruplar arasında ise fark saptanmadı ($p>0,05$).

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 86-90 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.6). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Diğer gruplar arasında ise fark saptanmadı ($p>0,05$).

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 91-95 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 4.6). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Diğer gruplar arasında ise saptanmadı ($p>0,05$).

Diken dalga sıklığı ortalamaları 96-100 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.6). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 101-105 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$), (Çizelge 3.7). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

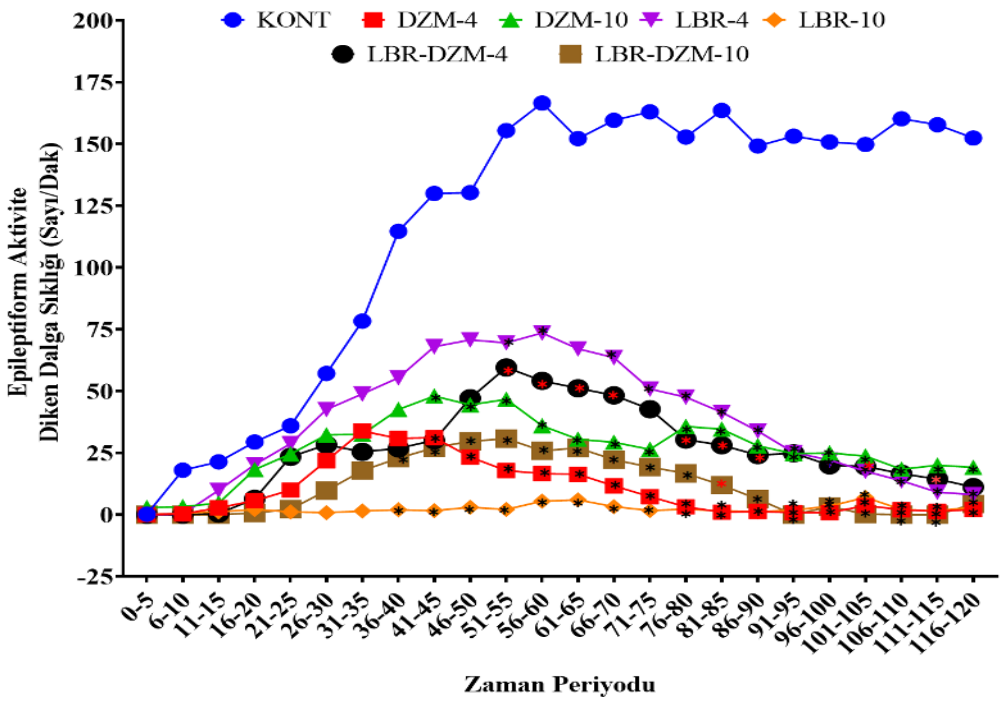
Çizelge 3.7. Penisilin sonrası 101-120. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga sıklığına (sayı/dakika) ait tanımlayıcı değerler

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
101-105	**KONT**	7	129,00	92,16	4,00	276,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	2,00	3,16	0,00	8,00	
	DZM-10	7	23,71	39,29	0,00	91,00	
	LBR-4	7	17,57	24,05	0,00	53,00	
	LBR-10	7	7,00	13,58	0,00	37,00	
	LBR-DZM-4	7	19,57	22,60	0,00	55,00	
	LBR-DZM-10	7	0,40	0,73	0,00	55,00	
106-110	**KONT**	7	137,80	99,30	3,00	277,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	1,00	2,45	0,00	6,00	
	DZM-10	7	18,43	32,42	0,00	86,00	
	LBR-4	7	13,71	22,29	0,00	51,00	
	LBR-10	7	2,14	4,49	0,00	12,00	
	LBR-DZM-4	7	16,57	19,93	0,00	49,00	
	LBR-DZM-10	7	0,00	0,00	0,00	49,00	
111-115	**KONT**	7	136,80	97,89	9,00	297,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	1,33	3,27	0,00	8,00	
	DZM-10	7	20,00	33,13	0,00	86,00	
	LBR-4	7	9,14	16,46	0,00	41,00	
	LBR-10	7	1,57	3,05	0,00	8,00	
	LBR-DZM-4	7	14,43	17,83	0,00	40,00	
	LBR-DZM-10	7	0,00	0,00	0,00	40,00	
116-120	**KONT**	7	131,20	100,57	4,00	295,00	**<0,0001**
	DZM-4	7	1,33	3,27	0,00	8,00	
	DZM-10	7	19,14	34,25	0,00	88,00	
	LBR-4	7	8,14	15,17	0,00	39,00	
	LBR-10	7	3,00	6,35	0,00	17,00	
	LBR-DZM-4	7	11,14	18,64	0,00	52,00	
	LBR-DZM-10	7	4,40	7,16	0,00	52,00	

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 106-110 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p<0,0001$),

(Çizelge 3.7). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001 ve p<0,0001). Diğer gruplar arasında ise fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 111-115 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p<0,0001), (Çizelge 3.7). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001 ve p<0,0001). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p>0,05).



Şekil 3.4. 0-120 dakikaları arasındaki zamana bağlı diken-dalga sıklığı (sayı/dakika) değerleri (*kontrol grubuna göre anlamlı).

Diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından 116-120 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p<0,0001), (Çizelge 3.7). DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga sıklığı ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001,

p<0,0001, p<0,0001 ve p<0,0001). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

3.1.1.5. L. rhamnosus uygulamasının toplam epileptiform aktivite diken dalga sıklığına etkisi

Gruplarda penisilin uygulaması sonrasında 120 dakikalık ECoG kaydı süresince meydana gelen toplam diken dalga sayı ortalamaları değerlendirildi. Toplam diken dalga sıklığı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0,0001), (Çizelge 3.8, Şekil 3.5).

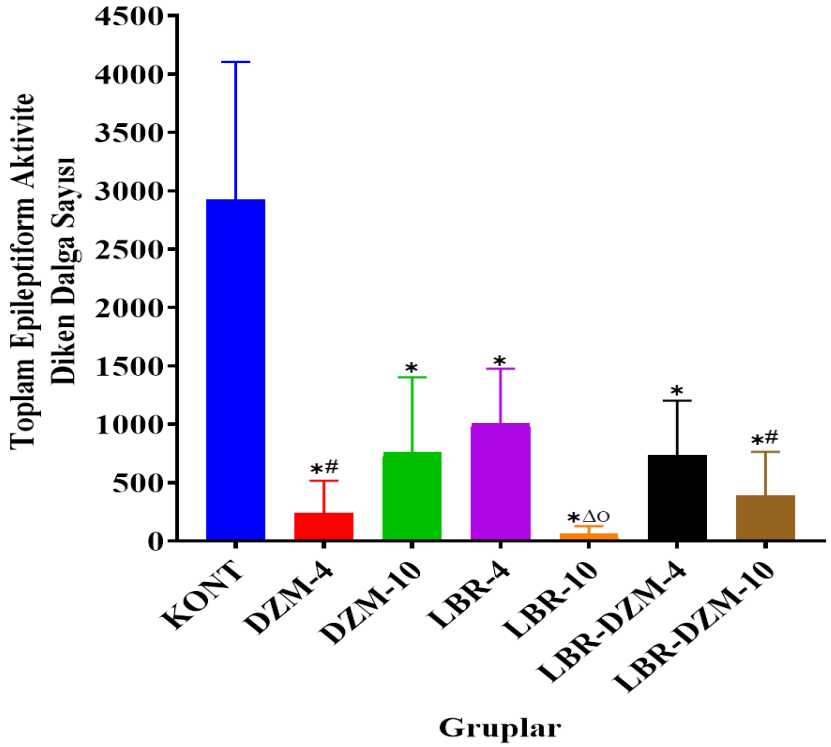
Çizelge 3.8. Tüm gruplarda penisilin sonrası 120 dakikalık kayıtlardan elde edilen toplam epileptiform aktivite diken-dalga sayıları ortalamalarına ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
KONT	7	2927,00	1177,00	1650,00	4430,00	
DZM-4	7	242,50*#	274,30	17,00	770,00	
DZM-10	7	759,80*	643,10	10,00	1581,00	
LBR-4	7	1012,00*	463,70	327,00	1485,00	**<0,0001**
LBR-10	7	62,00*Δo	65,78	8,00	179,00	
LBR-DZM-4	7	738,20*	464,50	112,00	1386,00	
LBR-DZM-10	7	389,20*#	375,80	159,00	1054,00	

(*KONT grubuna göre anlamlı, #LBR-4 grubuna göre anlamlı, ΔDZM-10 grubuna göre anlamlı, oLBR-DZM-10).

Gruplardan alınan ECoG kayıtları daha ayrıntılı incelendiğinde, toplam diken dalga sayısı (TDDS) ortalamaları bakımından DZM-4, DZM-10, LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının TDDS ortalamalarının kontrol grubuna grubuna göre istatistiksel olarak düşük olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla; p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001, p<0,0001 ve p<0,0001). DZM-4 grubunun TDDS ortalaması LBR-4 grubuna istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptandı (p=0,0010). LBR-10 grubunun TDDS ortalamalarının DZM-10, LBR-4 ve LBR-DZM-10 gruplarına göre daha düşük olduğu belirlendi (p değerleri sırasıyla; p=0,0030, p<0,0001 ve

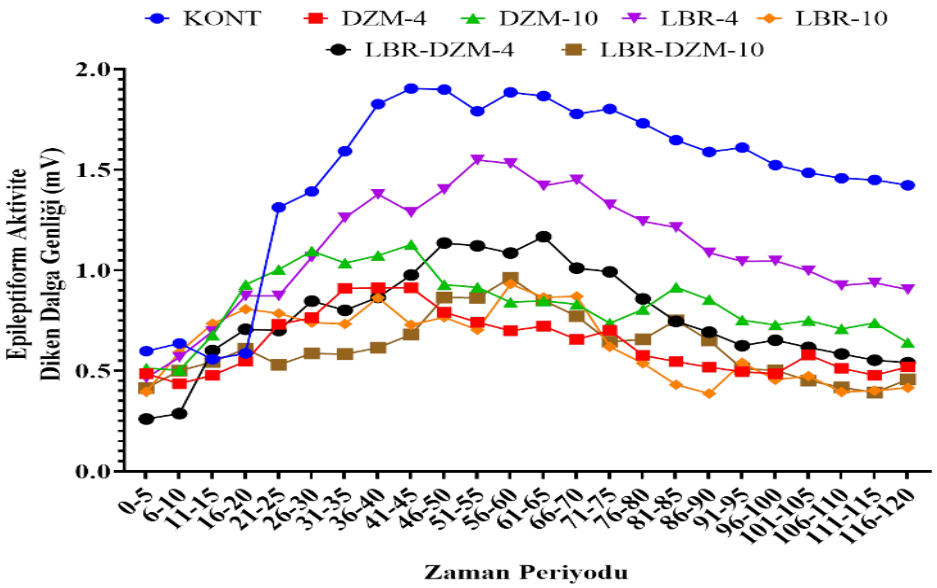
p=0,0023). Buna ek olarak, LBR-DZM-10 grubunun TDDS ortalamalarının LBR-4 grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi (p=0,0023). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).



Şekil 3.5. Penisilin sonrası 120 dakikalık kayıtlardan elde edilen toplam diken-dalga sayısı ortalamalarının gösterimi (*KONT grubuna göre anlamlı, #LBR-4 grubuna göre anlamlı, ΔDZM-10 grubuna göre anlamlı, ºLBR-DZM-10).

3.1.1.6. L. rhamnosus uygulamasının diken dalga genliği üzerine etkisi

L. rhamnosus'un epileptiform aktivite genliği üzerine etkilerini hesaplamak için, penisilin uygulamasından sonra beşer dakikalık periyotlarla 120 dakikalık diken dalga genliği/dk (min-maks) değerleri hesaplandı. Elde edilen diken dalga genlik ortalama değerleri ve gruplar arası farklılıkları içeren bulguların özeti Şekil 3.6 ve Çizelge 3.9-Çizelge 3.14 de tablo olarak verilmiştir.



Şekil 3.6. 0-120 dakikaları arasındaki zamana bağlı diken-dalga genliği (mV) değerleri. (Gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi $^{*}P<0,01$; $^{\Delta}$ Gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi $P<0,05$)

Diken dalga genlik değerlerinin istatistikleri ve grupların karşılaştırılmasına ait sonuçlar daha sonraki bölümlerde çizelge şeklinde verilecektir. Penisilin uygulaması sonrası 31-120 dakikaları arasında (81-85 dakikaları hariç) gruplardan alınan ortalama diken dalga genlikleri bakımında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) (Çizelge 3.9-Çizelge 3.14). Fakat 0-30 ila 81-85 dakikaları arasında gruplarının diken dalga genlikleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 31-35 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p=0,0195$), (Çizelge 3.10). LBR-DZM-10 grubunun diken dalga genliği ortalamasının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü ($p=0,0224$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 36-40 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p=0,0021$), (Çizelge 3.10). DZM-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; $p=0,0323$, $p=0,0203$, $p=0,0208$ ve $p=0,0016$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.9. Tüm gruplarda penisilin sonrası 0-20. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
0-5	**KONT**	7	0,60	0,19	0,36	0,80	0,0621
	DZM-4	7	0,49	0,26	0,10	0,87	
	DZM-10	7	0,51	0,21	0,21	0,68	
	LBR-4	7	0,46	0,15	0,27	0,70	
	LBR-10	7	0,40	0,16	0,24	0,66	
	LBR-DZM-4	7	0,26	0,15	0,12	0,58	
	LBR-DZM-10	7	0,41	0,17	0,24	0,75	
6-10	**KONT**	7	0,64	0,45	0,22	1,53	0,2718
	DZM-4	7	0,44	0,21	0,30	0,90	
	DZM-10	7	0,50	0,31	0,28	1,14	
	LBR-4	7	0,57	0,30	0,34	1,20	
	LBR-10	7	0,59	0,17	0,34	0,86	
	LBR-DZM-4	7	0,29	0,08	0,17	0,39	
	LBR-DZM-10	7	0,50	0,17	0,24	0,79	
11-15	**KONT**	7	0,56	0,16	0,42	0,90	0,8616
	DZM-4	7	0,48	0,20	0,21	0,87	
	DZM-10	7	0,68	0,35	0,26	1,27	
	LBR-4	7	0,70	0,37	0,36	1,34	
	LBR-10	7	0,73	0,42	0,33	1,56	
	LBR-DZM-4	7	0,60	0,70	0,19	2,17	
	LBR-DZM-10	7	0,54	0,16	0,34	0,84	
16-20	**KONT**	7	0,59	0,30	0,26	1,19	0,5948
	DZM-4	7	0,55	0,21	0,24	0,93	
	DZM-10	7	0,93	0,50	0,23	1,47	
	LBR-4	7	0,87	0,62	0,28	1,93	
	LBR-10	7	0,81	0,34	0,32	1,37	
	LBR-DZM-4	7	0,71	0,70	0,20	2,15	
	LBR-DZM-10	7	0,61	0,22	0,24	0,91	

Çizelge 3.10. Tüm gruplarda penisilin sonrası 21-40. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
21-25	**KONT**	7	1,31	0,75	0,51	2,66	0,1518
	DZM-4	7	0,73	0,37	0,21	1,35	
	DZM-10	7	1,00	0,55	0,26	1,58	
	LBR-4	7	0,87	0,35	0,28	1,40	
	LBR-10	7	0,79	0,38	0,35	1,43	
	LBR-DZM-4	7	0,70	0,72	0,22	2,09	
	LBR-DZM-10	7	0,53	0,27	0,20	1,04	
26-30	**KONT**	7	1,39	0,70	0,52	2,63	0,1407
	DZM-4	7	0,76	0,45	0,28	1,55	
	DZM-10	7	1,10	0,63	0,31	1,99	
	LBR-4	7	1,06	0,46	0,30	1,86	
	LBR-10	7	0,74	0,40	0,13	1,35	
	LBR-DZM-4	7	0,85	0,75	0,21	2,15	
	LBR-DZM-10	7	0,59	0,30	0,21	1,18	
31-35	**KONT**	7	1,59	0,72	0,54	2,66	**0,0195**
	DZM-4	7	0,91	0,37	0,61	1,62	
	DZM-10	7	1,04	0,56	0,29	1,72	
	LBR-4	7	1,26	0,52	0,32	1,98	
	LBR-10	7	0,73	0,47	0,02	1,37	
	LBR-DZM-4	7	0,80	0,68	0,19	2,06	
	LBR-DZM-10	7	0,58	0,34	0,20	1,27	
36-40	**KONT**	7	1,83	0,63	0,59	2,55	**0,0021**
	DZM-4	7	0,91	0,39	0,45	1,60	
	DZM-10	7	1,07	0,58	0,32	1,82	
	LBR-4	7	1,38	0,55	0,35	1,94	
	LBR-10	7	0,86	0,36	0,45	1,39	
	LBR-DZM-4	7	0,87	0,69	0,21	2,13	
	LBR-DZM-10	7	0,61	0,34	0,20	1,28	

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 41-45 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0007), (Çizelge 3.11). DZM-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0113, p=0,0014, p=0,0218 ve p=0,0008). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 46-50 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0024), (Çizelge 3.11). DZM-4, DZM-10, LBR-10 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0066, p=0,0243, p=0,0051 ve p=0,0135). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 51-55 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0022), (Çizelge 3.11). DZM-4, LBR-10 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0127, p=0,0089 ve p=0,0383). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 56-60 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0026), (Çizelge 3.11). DZM-4, DZM-10 ve LBR-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0052, p=0,0204 ve p=0,0457). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.11. Tüm gruplarda penisilin sonrası 41-60. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
41-45	**KONT**	7	1,90	0,66	0,50	2,54	**0,0007**
	DZM-4	7	0,91	0,36	0,52	1,51	
	DZM-10	7	1,13	0,49	0,57	1,80	
	LBR-4	7	1,29	0,48	0,40	1,96	
	LBR-10	7	0,73	0,37	0,20	1,12	
	LBR-DZM-4	7	0,98	0,63	0,21	2,17	
	LBR-DZM-10	7	0,68	0,41	0,20	1,38	
46-50	**KONT**	7	1,90	0,60	0,57	2,27	**0,0024**
	DZM-4	7	0,79	0,46	0,07	1,39	
	DZM-10	7	0,93	0,49	0,23	1,73	
	LBR-4	7	1,40	0,61	0,40	2,15	
	LBR-10	7	0,77	0,43	0,21	1,44	
	LBR-DZM-4	7	1,13	0,69	0,18	2,30	
	LBR-DZM-10	7	0,87	0,41	0,22	1,44	
51-55	**KONT**	7	1,79	0,57	0,54	2,15	**0,0022**
	DZM-4	7	0,74	0,46	0,03	1,38	
	DZM-10	7	0,91	0,54	0,22	1,84	
	LBR-4	7	1,55	0,75	0,43	2,85	
	LBR-10	7	0,70	0,35	0,23	1,19	
	LBR-DZM-4	7	1,12	0,62	0,17	2,12	
	LBR-DZM-10	7	0,86	0,39	0,20	1,24	
56-60	**KONT**	7	1,88	0,65	0,54	2,49	**0,0026**
	DZM-4	7	0,70	0,39	0,03	1,13	
	DZM-10	7	0,84	0,48	0,26	1,70	
	LBR-4	7	1,53	0,67	0,42	2,39	
	LBR-10	7	0,93	0,53	0,44	1,89	
	LBR-DZM-4	7	1,09	0,61	0,16	2,04	
	LBR-DZM-10	7	0,96	0,49	0,22	1,64	

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 61-65 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0004), (Çizelge 3.12). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde DZM-4, DZM-10, LBR-10 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0011, p=0,0051, p=0,0056 ve p=0,0051). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 66-70 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0030), (Çizelge 3.12). DZM-4, DZM-10 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0077, p=0,0399 ve p=0,0237). Bu zaman aralığında diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 71-75 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0002), (Çizelge 3.12). İnceleme sonucu DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0022, p=0,0032, p=0,0008, p=0,0475 ve p=0,0011). Bu zaman aralığında diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 76-80 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0001), (Çizelge 3.12). İnceleme sonucu DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0007, p=0,0106, p=0,0004, p=0,0185 ve p=0,0018). Bu zaman aralığında diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.12. Tüm gruplarda penisilin sonrası 61-80. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
61-65	**KONT**	7	1,87	0,65	0,53	2,59	**0,0004**
	DZM-4	7	0,72	0,24	0,45	1,05	
	DZM-10	7	0,85	0,49	0,29	1,63	
	LBR-4	7	1,28	0,47	0,40	1,83	
	LBR-10	7	0,87	0,48	0,38	1,66	
	LBR-DZM-4	7	1,17	0,66	0,20	1,91	
	LBR-DZM-10	7	0,85	0,36	0,21	1,23	
66-70	**KONT**	7	1,78	0,66	0,49	2,70	**0,0030**
	DZM-4	7	0,66	0,31	0,29	1,00	
	DZM-10	7	0,83	0,57	0,25	1,67	
	LBR-4	7	1,45	0,65	0,32	2,21	
	LBR-10	7	0,87	0,57	0,35	1,96	
	LBR-DZM-4	7	1,01	0,58	0,16	1,84	
	LBR-DZM-10	7	0,77	0,34	0,22	1,24	
71-75	**KONT**	7	1,80	0,64	0,58	2,75	**0,0002**
	DZM-4	7	0,70	0,25	0,35	0,97	
	DZM-10	7	0,74	0,51	0,23	1,70	
	LBR-4	7	1,33	0,59	0,29	2,17	
	LBR-10	7	0,62	0,30	0,23	1,07	
	LBR-DZM-4	7	0,99	0,59	0,19	1,86	
	LBR-DZM-10	7	0,64	0,36	0,23	1,11	
76-80	**KONT**	7	1,73	0,67	0,56	2,87	**0,0001**
	DZM-4	7	0,58	0,30	0,23	0,94	
	DZM-10	7	0,80	0,56	0,29	1,68	
	LBR-4	7	1,24	0,52	0,28	1,94	
	LBR-10	7	0,54	0,30	0,22	1,04	
	LBR-DZM-4	7	0,86	0,47	0,16	1,62	
	LBR-DZM-10	7	0,66	0,28	0,23	1,03	

Çizelge 3.13. Tüm gruplarda penisilin sonrası 81-100. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
81-85	**KONT**	7	1,65	0,63	0,56	2,70	0,2020
	DZM-4	7	0,55	0,33	0,20	1,01	
	DZM-10	7	0,92	0,59	0,26	1,57	
	LBR-4	7	1,21	0,55	0,26	1,89	
	LBR-10	7	0,43	0,24	0,15	0,85	
	LBR-DZM-4	7	0,75	0,40	0,16	1,41	
	LBR-DZM-10	7	0,75	0,31	0,21	1,20	
86-90	**KONT**	7	1,59	0,63	0,54	2,68	**0,0003**
	DZM-4	7	0,52	0,29	0,21	0,88	
	DZM-10	7	0,85	0,65	0,29	1,94	
	LBR-4	7	1,09	0,54	0,20	1,79	
	LBR-10	7	0,39	0,25	0,02	0,80	
	LBR-DZM-4	7	0,69	0,39	0,11	1,34	
	LBR-DZM-10	7	0,65	0,23	0,21	0,95	
91-95	**KONT**	7	1,61	0,62	0,56	2,63	**<0,0001**
	DZM-4	7	0,50	0,29	0,18	1,01	
	DZM-10	7	0,75	0,48	0,26	1,45	
	LBR-4	7	1,04	0,51	0,16	1,68	
	LBR-10	7	0,54	0,37	0,01	1,06	
	LBR-DZM-4	7	0,62	0,34	0,13	1,21	
	LBR-DZM-10	7	0,51	0,24	0,21	0,93	
96-100	**KONT**	7	1,52	0,68	0,57	2,79	**0,0002**
	DZM-4	7	0,48	0,30	0,16	0,88	
	DZM-10	7	0,73	0,46	0,30	1,42	
	LBR-4	7	1,05	0,56	0,13	1,82	
	LBR-10	7	0,46	0,30	0,02	0,96	
	LBR-DZM-4	7	0,65	0,32	0,15	1,17	
	LBR-DZM-10	7	0,50	0,22	0,21	0,90	

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 86-90 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0003), (Çizelge 3.13). DZM-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0015, p=0,0003, p=0,0122 ve p=0,0078). Bu zaman diliminde diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 91-95 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p<0,0001), (Çizelge 3.13). DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0003, p=0,0086, p=0,0005, p=0,0016 ve p=0,0004). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 96-100 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0002), (Çizelge 3.13). DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0011, p=0,0225, p=0,0008, p=0,0092 ve p=0,0013). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 101-105 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0005), (Çizelge 3.14). DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0049, p=0,0377, p=0,0013, p=0,0079 ve p=0,0009). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.14. 101-120. dakikalar arasındaki kayıtlardan elde edilen epileptiform aktivite diken-dalga genliğine (mV) ait tanımlayıcı değerler ve grupların karşılaştırılmasına ait P değeri.

Periyot	Gruplar	N	Ortalama	SD	Min	Mak	P
101-105	**KONT**	7	1,48	0,69	0,55	2,79	**0,0005**
	DZM-4	7	0,58	0,24	0,33	0,93	
	DZM-10	7	0,75	0,51	0,28	1,59	
	LBR-4	7	1,00	0,51	0,14	1,72	
	LBR-10	7	0,47	0,27	0,01	0,87	
	LBR-DZM-4	7	0,62	0,34	0,10	1,11	
	LBR-DZM-10	7	0,45	0,21	0,22	0,82	
106-110	**KONT**	7	1,46	0,68	0,57	2,75	**0,0001**
	DZM-4	7	0,51	0,25	0,28	0,90	
	DZM-10	7	0,71	0,43	0,27	1,32	
	LBR-4	7	0,92	0,46	0,11	1,47	
	LBR-10	7	0,39	0,27	0,01	0,85	
	LBR-DZM-4	7	0,58	0,32	0,10	1,06	
	LBR-DZM-10	7	0,42	0,20	0,21	0,78	
1111-115	**KONT**	7	1,45	0,73	0,54	2,79	**0,0001**
	DZM-4	7	0,48	0,26	0,19	0,81	
	DZM-10	7	0,74	0,40	0,30	1,29	
	LBR-4	7	0,94	0,44	0,23	1,50	
	LBR-10	7	0,40	0,31	0,02	1,00	
	LBR-DZM-4	7	0,55	0,30	0,11	1,04	
	LBR-DZM-10	7	0,39	0,18	0,21	0,71	
116-120	**KONT**	7	1,42	0,75	0,52	2,78	**0,0002**
	DZM-4	7	0,52	0,24	0,29	0,84	
	DZM-10	7	0,64	0,36	0,29	1,17	
	LBR-4	7	0,90	0,36	0,28	1,28	
	LBR-10	7	0,42	0,28	0,01	0,90	
	LBR-DZM-4	7	0,54	0,27	0,10	1,00	
	LBR-DZM-10	7	0,46	0,18	0,24	0,78	

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 106-110 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0001), (Çizelge 3.14). DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0015, p=0,0209, p=0,0003, p=0,0040 ve p=0,0004). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 111-115 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0001), (Çizelge 3.14). DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0012, p=0,0381, p=0,0004, p=0,0034 ve p=0,0004). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Diken dalga genliği ortalamaları bakımından 116-120 dakikaları arasında gruplardan alınan veriler incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0,0002), (Çizelge 3.14). DZM-4, DZM-10, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının diken dalga genliği ortalamalarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla; p=0,0017, p=0,0089, p=0,0004, p=0,0022 ve p=0,0007). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

3.1.2. *L. rhamnosus Uygulamasının Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi*

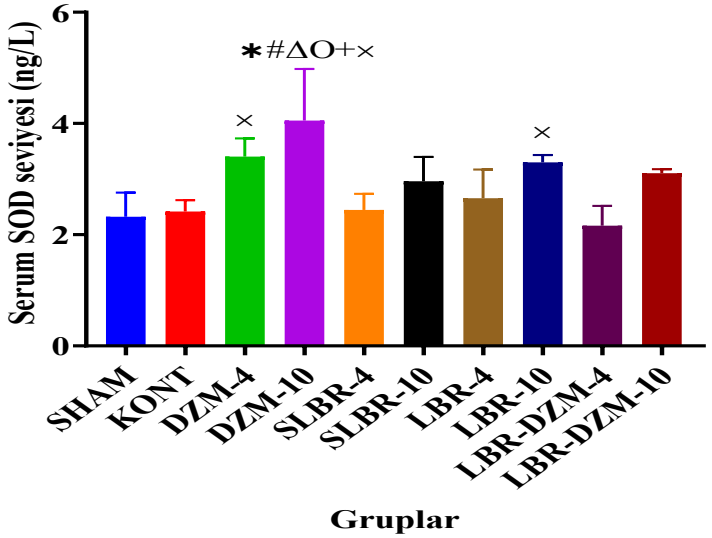
3.1.2.1. L. rhamnosus uygulamasının serum süperoksit dismutaz seviyesine etkisi

Gruplar SOD seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (P<0,0001) (Çizelge 3.15, Şekil 3.7). DZM-10 grubunun ortalama SOD seviyesi SHAM, KONT, SLBR-4, SLBR-10, LBR-4 ve LBR-DZM-4 gruplarına göre daha yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla p=0,0002, p=0,0004, p=0,0005, p=0,0469, p=0,0034 ve p<0,0001). Benzer şekilde DZM-4 grubunun ortalama SOD seviyesi LBR-DZM-4 grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu (p=0,0133). Aynı zamanda LBR-10 grubunun ortalama SOD seviyesi LBR-DZM-4 grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi (p=0,0320). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.15. *L. rhamnosus*'un serum SOD düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (ngl/L)	SD	Minimum (ng/L)	Maksimum (ng/L)	P
Serum SOD	**SHAM**	7	2,32	0,43	1,70	2,69	**<0,0001**
	KONT	7	2,42	0,20	2,12	2,58	
	DZM-4	7	$3,40^{x}$	0,33	3,10	3,69	
	DZM-10	7	$4,05^{*\#\Delta O+\times}$	0,93	2,88	5,11	
	SLBR-4	7	2,45	0,29	2,21	2,84	
	SLBR-10	7	2,96	0,44	2,62	3,57	
	LBR-4	7	2,66	0,51	2,16	3,38	
	LBR-10	7	$3,30^{x}$	0,13	3,13	3,45	
	LBR-DZM-4	7	2,16	0,36	1,70	2,46	
	LBR-DZM-10	7	3,11	0,07	3,01	3,17	

(*SHAM grubuna göre anlamlı; $^{\#}$KONT grubuna göre anlamlı; $^{\Delta}$SLBR-4 grubuna göre anlamlı; ^{O}SLBR-10 grubuna göre anlamlı; $^{+}$LBR-4 grubuna göre anlamlı; ^{x}LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı)



Şekil 3.7. *L. rhamnosus*'un serum SOD seviyesi üzerine etkisi.

(*SHAM grubuna göre anlamlı; $^{\#}$KONT grubuna göre anlamlı; $^{\Delta}$SLBR-4 grubuna göre anlamlı; ^{O}SLBR-10 grubuna göre anlamlı; $^{+}$LBR-4 grubuna göre anlamlı; ^{x}LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı)

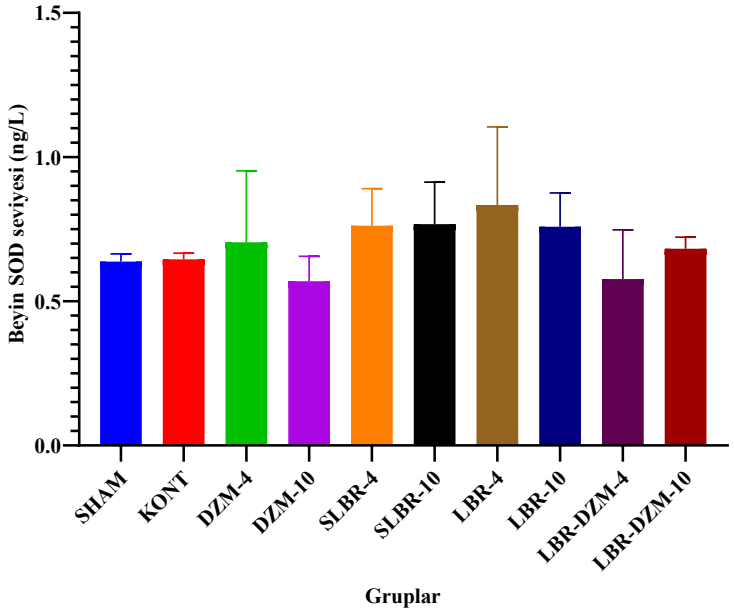
3.1.2.2. L. rhamnosus uygulamasının beyin süperoksit dismutaz seviyesine etkisi

Gruplar beyin SOD seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,2524) (Çizelge 3.16, Şekil 3.8).

Çizelge 3.16. *Lactobacillus rhamnosus*'un beyin SOD düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (ng/L)	SD	Minimum (ng/L)	Maksimum (ng/L)	P
Beyin SOD	SHAM	7	0,64	0,03	0,61	0,67	0,2524
	KONT	7	0,65	0,02	0,63	0,68	
	DZM-4	7	0,70	0,25	0,35	0,89	
	DZM-10	7	0,57	0,09	0,50	0,70	
	SLBR-4	7	0,76	0,13	0,59	0,89	
	SLBR-10	7	0,77	0,15	0,61	0,90	
	LBR-4	7	0,83	0,27	0,61	1,21	
	LBR-10	7	0,76	0,12	0,64	0,89	
	LBR-DZM-4	7	0,58	0,17	0,41	0,75	
	LBR-DZM-10	7	0,68	0,04	0,62	0,71	

LBR-4 grubunun ortalama SOD seviyesi SHAM, KONT, SLBR-4, SLBR-10, LBR-4 ve LBR-DZM-4 gruplarına göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,0500).



Şekil 3.8. L. rhamnosus'un beyin SOD seviyesi üzerine etkisi.

3.1.2.3. L. rhamnosus uygulamasının serum katalaz seviyesine etkisi

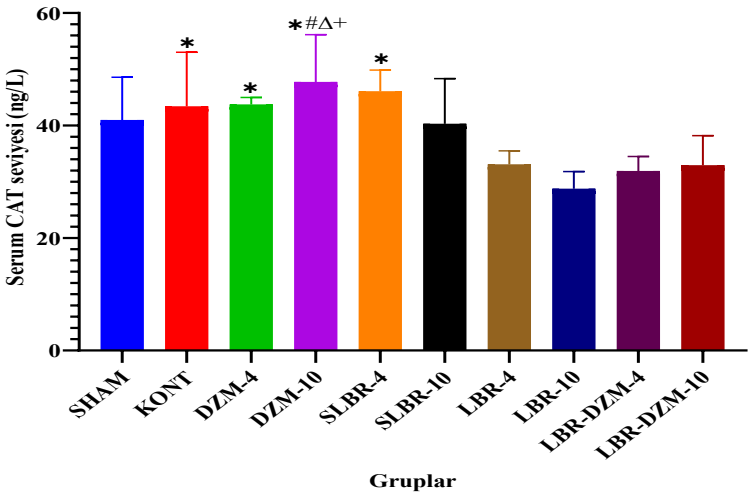
Gruplar CAT seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (P=0,0003) (Çizelge 3.17, Şekil 3.9).

Çizelge 3.17. *L. rhamnosus*'un serum CAT düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (ng/L)	SD	Minimum (ng/L)	Maksimum (ngL)	P
Serum CAT	**SHAM**	7	40,96	7,61	29,58	45,29	**0,0003**
	KONT	7	43,41*	9,61	32,38	55,69	
	DZM-4	7	43,74*	1,25	42,66	45,21	
	DZM-10	7	47,73*#Δ+	8,41	36,13	56,27	
	SLBR-4	7	46,09*	3,76	40,58	48,82	
	SLBR-10	7	40,30	8,03	31,75	48,82	
	LBR-4	7	33,09	2,40	30,14	36,01	
	LBR-10	7	28,75	3,05	25,38	32,26	
	LBR-DZM-4	7	31,89	2,59	29,34	35,50	
	LBR-DZM-10	7	32,93	5,25	26,07	38,84	

(*LBR-10 grubuna göre anlamlı; #LBR-4 grubuna göre anlamlı; Δ LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı; +LBR-DZM-10 grubuna göre anlamlı)

Sonuçlar daha ayrıntılı olarak incelendiğinde, KONT, DZM-4 ve SLBR-4 gruplarının ortalama serum CAT seviyesi LBR-10 grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla p=0,0407, p=0,0337 ve p=0,0083).



Şekil 3.9. *L. rhamnosus*'un serum CAT seviyesi üzerine etkisi (*LBR-10 grubuna göre anlamlı; #LBR-4 grubuna göre anlamlı; Δ LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı; +LBR-DZM-10 grubuna göre anlamlı)

LBR-4, LBR-10, LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının ortalama CAT seviyeleri DZM-10 grubuna göre daha düşük olduğu bulundu (p değerleri sırasıyla p=0,0410, p=0,0030, p=0,0025 ve p=0,0374). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

3.1.2.4. L. rhamnosus uygulamasının beyin katalaz seviyesine etkisi

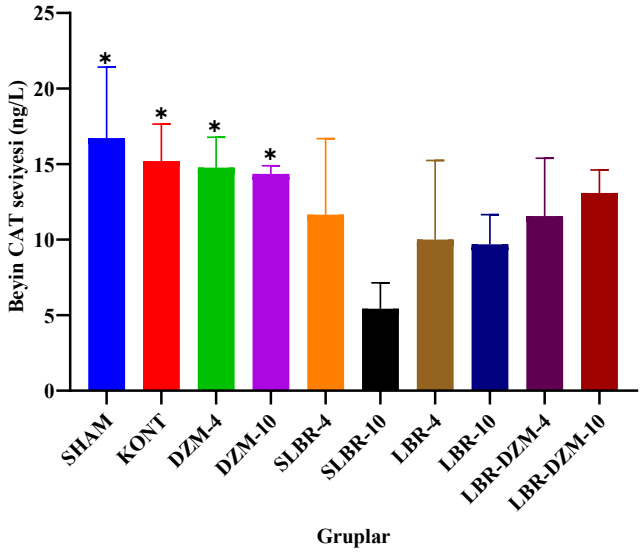
Gruplar CAT seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (P=0,0018) (Çizelge 3.18, Şekil 3.10).

Sonuçlar daha ayrıntılı olarak incelendiğinde, SHAM, KONT, DZM-4 ve DZM-10 gruplarının ortalama beyin CAT seviyesi SLBR-10 grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla p=0,0013, p=0,0075, p=0,0122 ve p=0,0190). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,0500).

Çizelge 3.18. *L. rhamnosus*'un beyin CAT düzeyi üzerine etkisi

Parametre	**Gruplar**	**N**	**Ortalama (ng/L)**	**SD**	**Minimum (ng/L)**	**Maksimum (ngL)**	**P**
Beyin CAT	**SHAM**	7	16,71*	4,706	13,66	23,69	**0,0018**
	KONT	7	15,2*	2,453	12,83	17,92	
	DZM-4	7	14,75*	2,028	11,78	16,24	
	DZM-10	7	14,34*	0,5392	13,99	15,14	
	SLBR-4	7	11,64	5,04	6,967	18,8	
	SLBR-10	7	5,42	1,718	3,549	6,967	
	LBR-4	7	9,995	5,242	5,422	17,54	
	LBR-10	7	9,677	1,973	7,397	11,42	
	LBR-DZM-4	7	11,55	3,835	8,436	17,12	
	LBR-DZM-10	7	13,08	1,529	11,11	14,68	

(*SLBR-10 grubuna göre anlamlı)



Şekil 3.10. *L. rhamnosus*'un beyin CAT seviyesi üzerine etkisi (*SLBR-10 grubuna göre anlamlı).

3.1.2.5. L. rhamnosus uygulamasının serum glutatyon peroksidaz seviyesine etkisi

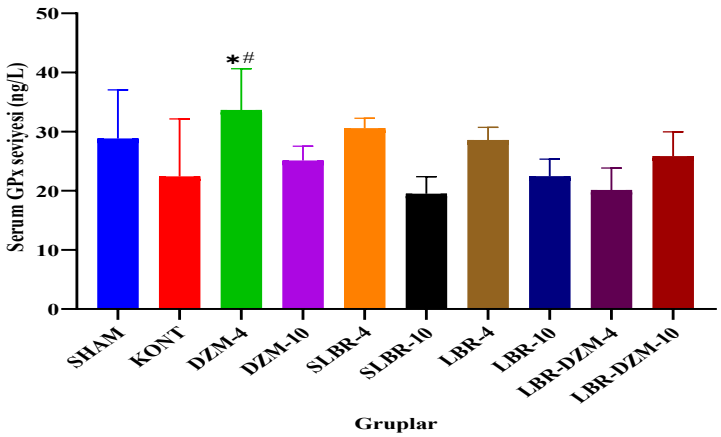
Gruplar GPx seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (P=0,0078) (Çizelge 3.19, Şekil 3.11).

Çizelge 3.19. *L. rhamnosus*'un serum GPx düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (ng/L)	SD	Minimum (ng/L)	Maksimum (ngL)	P
Serum GPx	**SHAM**	7	28,83	8,229	16,96	35,84	**0,0078**
	KONT	7	22,42	9,729	8,786	30,02	
	DZM-4	7	33,64	6,99	28,24	43,47	
	DZM-10	7	25,1	2,434	22,94	28,42	
	SLBR-4	7	30,57	1,688	28,83	32,16	
	SLBR-10	7	19,48	2,906	15,9	22,64	
	LBR-4	7	28,57	2,136	25,84	30,84	
	LBR-10	7	22,45	2,895	18,35	24,76	
	LBR-DZM-4	7	20,13	3,722	16,41	24,15	
	LBR-DZM-10	7	25,85	4,12	23,41	32,01	

(*LBR-10 grubuna göre anlamlı; #LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı)

Sonuçlar daha ayrıntılı olarak incelendiğinde, DZM-4 grubunun ortalama serum GPx seviyesi SLBR-10 ev LBR-DZM-4 gruplarına göre daha yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla p=0,0264 ve p=0,0412).Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).



Şekil 3.11. *L. rhamnosus*'un serum GPx seviyesi üzerine etkisi (*LBR-10 grubuna göre anlamlı; #LBR-DZM-4 grubuna göre anlamlı)

3.1.2.6. L. rhamnosus uygulamasının beyin glutatyon peroksidaz seviyesine etkisi

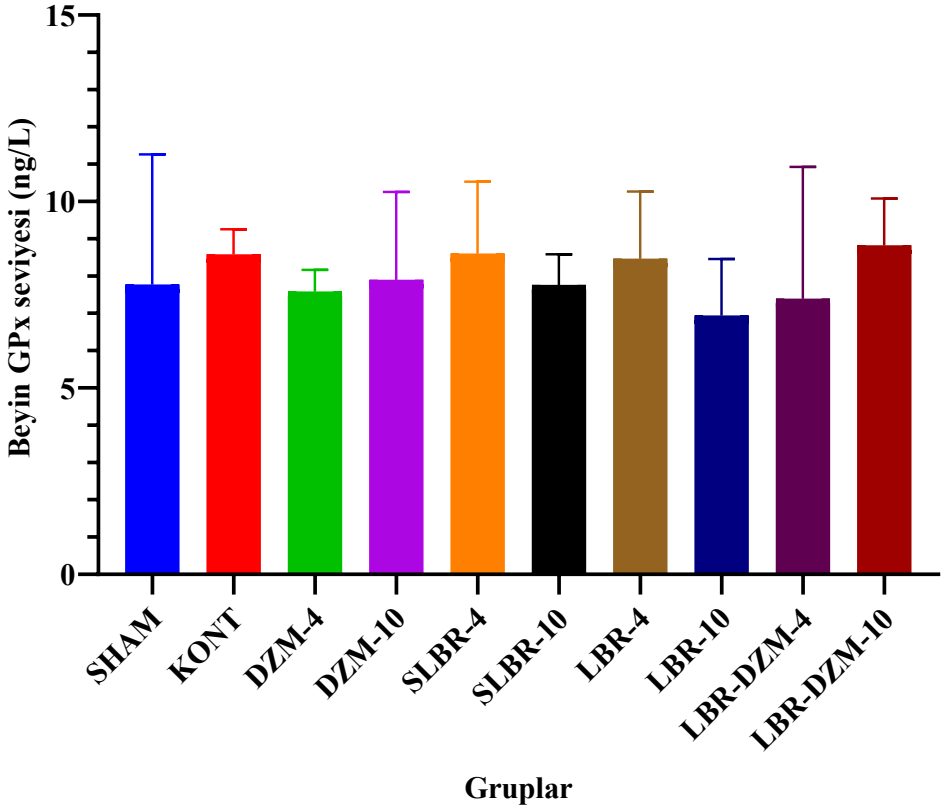
Gruplar GPx seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmedi (P=0,3508) (Çizelge 3.20, Şekil 3.12).

Çizelge 3.20. *L. rhamnosus*'un beyi CAT düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (ng/L)	SD	Minimum (ng/L)	Maksimum (ngL)	P
Beyin GPx	**SHAM**	7	7,772	3,493	4,599	11,13	0,3508
	KONT	7	8,576	0,6796	8,165	9,588	
	DZM-4	7	7,583	0,584	7,04	8,291	
	DZM-10	7	7,896	2,361	4,973	10,37	
	SLBR-4	7	8,598	1,93	6,071	10,6	
	SLBR-10	7	7,758	0,826	6,586	8,415	
	LBR-4	7	8,464	1,804	6,678	10,79	
	LBR-10	7	6,938	1,519	4,814	8,291	
	LBR-DZM-4	7	7,389	3,54	4,243	10,86	
	LBR-DZM-10	7	8,819	1,259	6,95	9,588	

(*SLBR-10 grubuna göre anlamlı)

Sonuçlar daha ayrıntılı olarak incelendiğinde, LBR-DZM-10 grubunun ortalama beyin GPx seviyesi diğer gruplara göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,0500). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,0500).



Şekil 3.12. *L. rhamnosus*'un beyin Gpx seviyesi üzerine etkisi.

3.1.3. *L. rhamnosus Uygulamasının GABA Düzeyi Üzerine Etkisi*

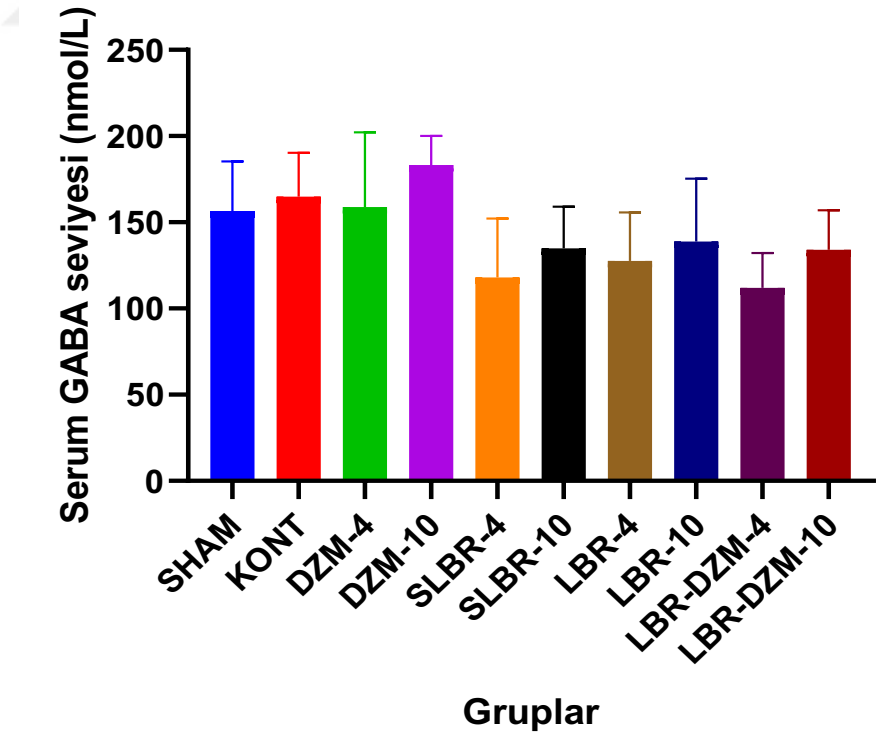
3.1.3.1. L. rhamnosus uygulamasının serum GABA düzeyi üzerine etkisi

Serum GABA seviyesi bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmedi (P=0,0549) (Çizelge 3.21, Şekil 3.13).

DZM-10 grubunun ortalama serum GABA seviyesi diğer gruplara göre yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (p>0,05).

Çizelge 3.21. *L. rhamnosus*'un serum GABA düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (nmol/L)	SD	Minimum (nmol/L)	Maksimum (nmol/L)	P
Serum GABA	SHAM	7	156,6	28,75	126,9	185,1	0,0549
	KONT	7	164,9	25,54	136,5	190,8	
	DZM-4	7	158,8	43,3	119,7	206	
	DZM-10	7	183,1	16,94	167,2	206	
	SLBR-4	7	118,1	34,17	86,39	163,1	
	SLBR-10	7	135	24,16	108,6	167,2	
	LBR-4	7	127,6	28,2	102,3	167,9	
	LBR-10	7	138,9	36,51	94,76	184	
	LBR-DZM-4	7	111,9	20,29	82,7	129,7	
	LBR-DZM-10		134,2	22,76	100,7	150,2	



Şekil 3.13. *L. rhamnosus*'un serum GABA düzeyi üzerine etkisi

3.1.3.2. L. rhamnosus uygulamasının beyin GABA düzeyi üzerine etkisi

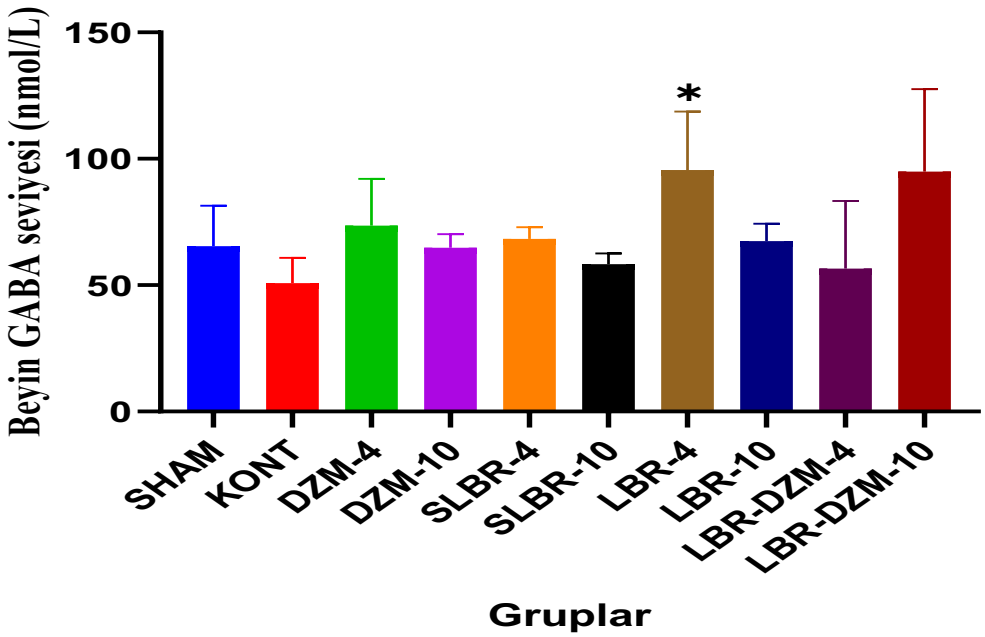
Gruplar beyin GABA seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (P=0,0139) (Çizelge 3.22, Şekil 3.14).

Çizelge 3.22. *L. rhamnosus*'un beyin GABA düzeyi üzerine etkisi

Parametre	Gruplar	N	Ortalama (nmol/L)	SD	Minimum (nmol/L)	Maksimum (nmol/L)	P
Beyin GABA	**SHAM**	7	65,43	15,99	45,36	79,63	**0,0139**
	KONT	7	50,79	10,03	37,19	59,86	
	DZM-4	7	73,61	18,41	49,89	94,76	
	DZM-10	7	64,79	5,455	60,46	72,3	
	SLBR-4	7	68,27	4,688	64,7	75,04	
	SLBR-10	7	58,27	4,239	54,72	64,4	
	LBR-4	7	95,53*	23,2	74,13	117,5	
	LBR-10	7	67,44	6,838	62,58	77,49	
	LBR-DZM-4	7	56,51	26,83	30,19	79,94	
	LBR-DZM-10	7	94,99	32,54	67,74	138,3	

(*KONT grubuna göre anlamlı)

Gruplar daha ayrıntılı olarak incelendiğinde, LBR-4 grubunun ortalama beyin GABA seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi (p=0,0214). LBR-DZM-10 grubunun ortalama beyin GABA seviyesi KONT grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,1825). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,0500).



Şekil 3.14. *L. rhamnosus*'un beyin GABA düzeyi üzerine etkisi (*KONT grubuna göre anlamlı).

4. TARTIŞMA

Dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen epilepsi hastalığının altında yatan mekanizmaları incelemek amacı ile bilim insanları deneysel epilepsi modelleri geliştirmişlerdir. Deneysel epilepsi modelleri, epilepsi hastalığının anlaşılması, tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi ve epilepsiye yönelik yeni terapötik stratejilerin bulunması açısından önemlidir. Bu modeller, epilepsi araştırmalarında ve hastalığın nedenleri, mekanizmaları ve tedavi seçenekleri hakkında yeni bakış açısı kazandırır.

Bağırsak mikrobiyotası veya bağırsak florası, çeşitli bakteriler, arkealar ve mantarlar gibi mikroorganizmalardan oluşur. Bağırsak mikrobiyotası, özellikle bağırsak-beyin ekseni ile iki yönlü iletişiminden dolayı birçok nörodejeneratif hastalıkta kritik bir role sahip olabilir. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin bağırsak-beyin ekseninde düzensizliklere neden olarak depresyon, anksiyete, şizofreni, Alzheimer hastalığı, otizm ve Parkinson hastalığının patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir [156-159]. Bağırsak mikrobiyomu ile epilepsi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar çok sınırlıdır. Birçok çalışmada, bağırsak mikrobiyotasının ketojenik diyet, probiyotik takviyesi ve fekal mikrobiyota transplantasyonu ile yeniden yapılandırılmasının, ilaca dirençli epilepsi nöbet aktivitesinin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir [160, 161].

L. rhamnosus'un epileptiform aktivite üzerindeki etkilerini inceleyen ilk araştırmalardan biri olan bu çalışmada 70 adet ergin erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Deney gruplarının bir kısmına 4 hafta bir kısmına ise 10 hafta süresince oral LBR takviyesi uygulanmıştır. Penisilin epilepsisi oluşturmaksızın sadece LBR verilen LBR4 ve LBR10 gruplarında epileptiform aktivite gözlemlenmemiştir. Penisilin G ile oluşturulan epileptiform aktivite, kontrol grubunda 228-1080 saniye içinde meydana gelirken, LBR4 gruplarında bu değer 975-1982 saniye ve LBR10 gruplarında 922-2769 saniye olarak gözlenmiştir. Diken-dalgalar yaklaşık 50-60 dakika içinde maksimum sıklığa ve genliğe ulaşmıştır. LBR-DZM-4 ve LBR-DZM-10 gruplarının latensinin kontrol grubuna göre daha uzun olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda penisilin enjeksiyonundan ortalama 757 sn sonra gözlemlenen diken dalgalar LBR4 grubunda 1487 sn ve LBR-10 grubunda 1398 sn sonra gözlense de istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. LBR-DZM-4 grubunda 1624 sn ve LBR-DZM-10 grubunda 2101 sn olarak ölçülmüştür. LBR uygulamasının epilepsi latensini, kontrol grubuna göre daha fazla uzattığı gözlenmiştir. Bu durum LBR nin antiepileptik etkisinin olabileceğini

göstermektedir. Literatürde sadece LBR'nin epilepsi üzerine etkisi ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Genel olarak yapılan çalışmalar kombine probiyotik çalışmalarıdır. Sıçanlarda penisilin kaynaklı fokal nöbet modelinde probiyotiklerin etkisinin incelendiği bir çalışma 30 gün boyunca oral probiyotik verilen deney hayvanlarında, epileptiform aktivite latensinin kontrol grubuna göre uzadığı bildirilmiştir [162]. Bu veri mevcut çalışmada elde edilen bulguları desteklemektedir.

$GABA_A$ reseptörleri üzerinden etki gösteren inhibitör yolaklar, MSS'deki en önemli inhibitör kontrol sistemi olarak kabul edilmektedir. Epileptik deşarj aktivitelerinin altında yatan nedenin bu duraklatıcı etkinin zayıfladığı veya kaybolduğu durumlar olduğu bilinmektedir. Bazen de glutamaterjik NMDA reseptörlerinin aşırı etkinliği epileptiform aktiviteye sebep olmaktadır[163]. MSS'de $GABA_A$ ve $GABA_B$ reseptör antagonistleri olan pikrotoksin ve bikukuline uygulandığında da epileptiform aktivitenin oluştuğu gösterilmiştir. Tıpkı bikukuline gibi kortekse uygulanan penisilin de GABA reseptörlerinde inhibisyona sebep olur. GABA aktivitesi azalınca, beynin inhibitör sistemi baskılanır ve lokal başlayan epileptiform aktivite generalize devam eder. Penisilin $GABA_A$ reseptörlerinin alt birimlerine bağlanarak hücre içi Cl^- akışını azalttığı [164] gibi direk klor reseptörüne bağlanıp kanalın açılmasını engelleyebilir [165].

LBR'nin epileptiform aktivite diken dalga sıklığını 36-120 dakikaları arasında azalttığı gözlenirken bu etki LBR10 ve LBR-DZM-10 gruplarında daha belirgindir. Bagheri ve ark, 2 aylık Wistar cinsi sıçanlarda yaptıkları PTZ modelinde CFU ~ 109 dozunda kombine probiyotik (*L. rhamnosus* , *L. reuteri* ve *Bifidobacterium infantis*) uygulamasının nöbet aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir[166]. Benzer şekilde Kızılaslan ve arkadaşları oluşturdukları deneysel epilepsi modelinde kombine uyguladıkları probiyotiklerin diken dalga sıklığını azalttığını bildirmişlerdir [162]. Medel-Matus ve ark, dişi ve erkek Sprague-Dawley sıçanlarda mikrobiyal transplantasyonun amigdala tutuşma epilepsi modelindeki etkisini araştırmışlardır [167]. Çalışma sonucunda mikrobiyal transplantasyonun epileptik nöbetleri azalttığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada çörek otu ve probiyotiklerin PTZ ile oluşturulan epilepside nöbet sıklığını azalttığını göstermişlerdir [168]. Çalışmamızda LBR uygulanan gruplarda hem zamansal kesit verilerindeki frekanslar hem de ortalama diken dalga sıklığında kontrol grubuna göre azalma gözlenmiştir.

Kızılaslan ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptıkları çalışmada probiyotik takviyesinin epileptik nöbetlerin diken- dalga genliğini arttırdığını bildirmişlerdir [162]. Bunun

aksine, Bagheri ve ark PTZ modeli çalışmasında probiyotik takviyesinin diken dalga genliklerini önemli ölçüde azaldığı göstermişlerdir[166]. Benzer diğer bir çalışma Tahmasebi ve ark. tarafından yapılan ve probiyotiklerin nöbet şiddetini azalttığını bildirdiği çalışmadır [168]. Çalışmamızda LBR uygulamasının kontrol grubuna göre epileptiform aktivite diken dalga genliğini azalttığı gösterilmiştir. Özellikle LBR10 ve LBR-DZM-10 gruplarında daha etkili bir azalma olduğu saptanmıştır. Elde edilen diken dalgaların frekans ve genlikleri literatürle uyumluluk göstermektedir [3, 51].

Bağırsak mikrobiyota-beyin ekseni, beynin gastrointestinal sistemi modüle ettiği ve bağırsağın beyin işlevini ve davranışını etkilediği çift yönlü bir iletişimi tanımlar. Bağırsak mikrobiyotası içeriğinin, birçok hastalıkta farklılık gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle bağırsak mikroflorasının hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde büyük faydalar sağlayabileceği düşünülmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalardan elde edilen veriler, probiyotiklerin Alzheimer, bilişsel durumlarda tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermektedir [169]. Bununla birlikte, probiyotiklerin, nörotransmiterler ve nöromodülatörlerin salınımı kolaylaştıcı etkisi ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Diğer taraftan probiyotiklerin serbest radikaller üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma vardır. Bunlardan biri olan Athari ve ark. yaptıkları çalışmada deney hayvanlarına probiyotik verilmesinin, SOD, CAT ve MDA düzeyleri arasında fark olmadığını bildirmişlerdir [170]. Benzer şekilde Asl ve ark, salin verilen grup ile sadece probiyotik takviyesi alan grubu karşılaştırdıklarında plazma MDA ve total antioksidan kapasite (TAC) düzeylerinde değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir [169]. Bizim çalışmamızda LBR uygulanan gruplardan elde edilen dokularda SOD, CAT ve GPx düzeyleri kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Tüm çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde tek başına probiyotik takviyesinin oksidatif stres üzrine etkisinin olmadığı görülmüştür.

Çalışmamızda *L. rhamnosus* uygulanan sıçanların serum GABA düzeyinde istatistiksel bir anlamlılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte LBR-4 grubunun beyin GABA seviyesinde anlamlı bir artışın gözlendiği tespit edilmiştir. Bu sonuç Bagheri ve arkadaşlarının beyin dokularında GABA düzeyindeki artışla uyumluluk göstermektedir [166].

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

LBR tek başına uygulanması herhangi bir epileptiform aktiviteye neden olmamaktadır,

LBR ve penisilinin birlikte uygulandığı gruplarda epileptiform aktivite latensini uzattığı, fakat bu durumun anlamlı olmadığı görülmüştür,

LBR ve DZM'nin birlikte uygulandığı gruplarda epileptiform aktivite latensini uzattığı görülmüştür. Bu durum büyük olasılıkla LBR'nin DZM üzerinde sinerjik etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir,

LBR uygulanan epilepsi modelinde zamana bağlı diken dalga sıklığı azalmıştır,

LBR uygulanan epilepsi modelinde toplam diken dalga sıklığı azalmıştır,

LBR uygulanan epilepsi modelinde zamana bağlı diken dalga genliği azalmıştır,

LBR uygulanan grupların serum SOD, CAT ve GPx düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında benzer bulunmuştur,

LBR uygulanan grupların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında beyin SOD, CAT ve GPx düzeyleri benzer bulunmuştur,

LBR uygulanan grupların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum CAT düzeyleri benzer bulunmuştur,

LBR-4 uygulanan grupların beyin GABA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur,

Sonuç olarak, önemi yeni kavranmaya başlanan probiyotiklerin, nörodejenaratif hastalıkların tedavilerindeki yerinin gösterilmesi için daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

[1] D. H. Tekgül, "Çocukluk Çağı EEG si : İnteriktal Aktiviteler," (in Türkçe), *13. Ulusal Çocuk Nöroloji Kongresi* ss. 6-13, 2011.

[2] J.-P. Barral and A. Croibier, "Chapter 7 - Functional pathology of cranial nerves," in *Manual Therapy for the Cranial Nerves*, J.-P. Barral and A. Croibier Eds. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2009, ss. 31-35.

[3] E. Beyazcicek, S. Ankarali, O. Beyazcicek, H. Ankarali, S. Demir, and R. Ozmerdivenli, "Effects of thymoquinone, the major constituent of Nigella sativa seeds, on penicillin-induced epileptiform activity in rats," *Neurosciences Journal,* c. 21, sayı. 2, ss. 131-137, 2016.

[4] W. A. Hauser, J. F. Annegers, and W. A. Rocca, "Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota," in *Mayo Clinic Proceedings*, 1996, vol. 71, no. 6: Elsevier, pp. 576-586, rişim: URL

[5] B. F. Shneker and N. B. Fountain, "Assessment of acute morbidity and mortality in nonconvulsive status epilepticus," *Neurology,* c. 61, sayı. 8, ss. 1066-1073, 2003.

[6] C. E. Begley *et al.*, "The cost of epilepsy in the United States: an estimate from population-based clinical and survey data," *Epilepsia,* c. 41, sayı. 3, ss. 342-351, 2000.

[7] C. J. Murray, A. D. Lopez, and W. H. Organization, "Global comparative assessments in the health sector: disease burden, expenditures and intervention packages," 1994.

[8] E. Eşkazan, "Tarihte Epilepsi ve Epileptolojinin Kısa Tarihçesi," *İçinden: Epilepsi (Ed: Bora İ, Yeni SN, Gürses C.) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s,* c. 3, 2008.

[9] S. M. LaRoche and S. L. Helmers, "The new antiepileptic drugs: scientific review," *Jama,* c. 291, sayı. 5, ss. 605-614, 2004.

[10] Ş. Bilen, "Antiepileptik İlaç Tedavisi " *Türkiye Klinisyenleri Nöroloji Dergisi Epilepsi* c. 2, sayı. Özel Sayısı 2004, ss. 143-148, 2004.

[11] A. K. Ngugi, S. Kariuki, C. Bottomley, I. Kleinschmidt, J. Sander, and C. Newton, "Incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis," *Neurology,* c. 77, sayı. 10, ss. 1005-1012, 2011.

[12] F. E. Dudek, "Epileptogenesis: a new twist on the balance of excitation and inhibition," *Epilepsy currents,* c. 9, sayı. 6, ss. 174-176, 2009.

[13] K. Kaila, E. Ruusuvuori, P. Seja, J. Voipio, and M. Puskarjov, "GABA actions and ionic plasticity in epilepsy," *Current opinion in neurobiology,* c. 26, ss. 34-41, 2014.

[14] D. Marques-da-Silva and C. Gutierrez-Merino, "Caveolin-rich lipid rafts of the plasma membrane of mature cerebellar granule neurons are microcompartments for calcium/reactive oxygen and nitrogen species cross-talk signaling," *Cell Calcium,* c. 56, sayı. 2, ss. 108-123, 2014.

[15] A. Rahal *et al.*, "Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay," *BioMed research international,* c. 2014, 2014.

[16] J. F. Turrens, "Mitochondrial formation of reactive oxygen species," *The Journal of physiology,* c. 552, sayı. 2, ss. 335-344, 2003.

[17] F. L. Muller, Y. Liu, and H. Van Remmen, "Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane," *Journal of Biological Chemistry,* c. 279, sayı. 47, ss. 49064-49073, 2004.

[18] B. Halliwell, "Reactive oxygen species and the central nervous system," *Journal of neurochemistry,* c. 59, sayı. 5, ss. 1609-1623, 1992.

[19] M. Valko, C. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, and M. Mazur, "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer," *Chemico-biological interactions,* c. 160, sayı. 1, ss. 1-40, 2006.

[20] E. R. Stadtman, "Protein oxidation in aging and age-related diseases," *Annals of the new York Academy of Sciences,* c. 928, sayı. 1, ss. 22-38, 2001.

[21] J. Wong-Ekkabut, Z. Xu, W. Triampo, I.-M. Tang, D. P. Tieleman, and L. Monticelli, "Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study," *Biophysical journal,* c. 93, sayı. 12, ss. 4225-4236, 2007.

[22] C. Henchcliffe and M. F. Beal, "Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis," *Nature clinical practice Neurology,* c. 4, sayı. 11, ss. 600-609, 2008.

[23] B. Uttara, A. V. Singh, P. Zamboni, and R. Mahajan, "Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options," *Current neuropharmacology,* c. 7, sayı. 1, ss. 65-74, 2009.

[24] U. Pamukçu, F. N. YILDIZ, D. Tuba, and İ. Peker, "Oral Mikrobiyota Araştırmaları Işığında Ağız Sağlığına Yeni Bakış Açısı: Derleme," *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research,* c. 2, sayı. 3, ss. 128-137, 2018.

[25] A. Evrensel and M. E. Ceylan, "Bağırsak beyin aksı: Psikiyatrik bozukluklarda bağırsak mikrobiyotasinin rolü," 2015.

[26] A. Evrensel and M. E. Ceylan, "Bağırsak beyin ekseni: Psikiyatrik bozukluklarda bağırsak mikrobiyotasının rolü," *Psikiyatride güncel yaklaşımlar,* c. 7, sayı. 4, ss. 461-472, 2015.

[27] Z. He *et al.*, "Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: the first report," *World Journal of Gastroenterology,* c. 23, sayı. 19, ss. 3565, 2017.

[28] E. Sherwin, K. V. Sandhu, T. G. Dinan, and J. F. Cryan, "May the force be with you: the light and dark sides of the microbiota–gut–brain axis in neuropsychiatry," *CNS drugs,* c. 30, sayı. 11, ss. 1019-1041, 2016.

[29] E. Beghi, "The epidemiology of epilepsy," *Neuroepidemiology,* c. 54, sayı. 2, ss. 185-191, 2020.

[30] B. Tatlı and S. Güler, "Çocukluk çağında non epileptik paroksismal olaylar," *Turkish Archives of Pediatrics,* c. 52, sayı. 2, 2017.

[31] A. Neligan, W. A. Hauser, and J. W. Sander, "The epidemiology of the epilepsies," *Handbook of clinical neurology,* c. 107, ss. 113-133, 2012.

[32] J. Longrigg, "Epilepsy in ancient Greek medicine—the vital step," *Seizure,* c. 9, sayı. 1, ss. 12-21, 2000.

[33] "Epilepsi Tarihçesi." https://www.yeditepeepilepsisiz.com/epilepsi/5/ (Erişim 2021).

[34] M. Critchley, *John Hughlings Jackson: Father of English Neurology*. Oxford University Press 1998.

[35] L. Prilipko, *Atlas epilepsy care in the world 2005*. World Health Organization 2005.

[36] Y. Gurses C. https://www.noroloji.org.tr/haber/106/22-temmuz-dunya-beyin-gunu-epilepsi-bizim-beynimiz-bizim-gelecegimiz#:~:text=D%C3%BCnyada%20epilepsi%20prevalans%C4%B1%20yakla%C5%9F%C4%B1k%20%251,de%20700.000%20ki%C5%9Fide%20epilepsi%20mevcuttur. (Erişim 2021).

[37] C. R. Newton and H. Masanja, "Prevalence of active convulsive epilepsy in sub-Saharan Africa and associated risk factors: cross-sectional and," *Lancet Neurol,* c. 12, ss. 253-63, 2013.

[38] N. Çalişir, I. Bora, E. Irgil, and M. Boz, "Prevalence of epilepsy in Bursa city center, an urban area of Turkey," *Epilepsia,* c. 47, sayı. 10, ss. 1691-1699, 2006.

[39] R. S. Fisher *et al.*, "Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types," *Epilepsia,* c. 58, sayı. 4, ss. 531-542, 2017.

[40] C. C. T. Aguiar *et al.*, "Oxidative stress and epilepsy: literature review," *Oxidative medicine and cellular longevity,* c. 2012, 2012.

[41] R. Aslankoç *et al.*, "Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX)," *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi,* c. 26, sayı. 3, ss. 362-369, 2019.

[42] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur, and J. Telser, "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease," *The international journal of biochemistry & cell biology,* c. 39, sayı. 1, ss. 44-84, 2007.

[43] E. Mtui, G. Gruener, and P. Dockery, *Fitzgerald's Clinical Neuroanatomy and Neuroscience E-Book*. Elsevier Health Sciences 2020.

[44] L. Sherwood, *Human physiology: from cells to systems*. Cengage learning 2015.

[45] E. G. Gray, "Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study," *Journal of anatomy,* c. 93, sayı. Pt 4, ss. 420, 1959.

[46] B. A. Barres, "The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease," *Neuron,* c. 60, sayı. 3, ss. 430-440, 2008.

[47] H. Raff, K. T. Strang, and A. J. Vander, *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. McGraw-Hill 2014.

[48] O. A. Timofeeva and C. J. Gordon, "Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to the acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine," *Brain research,* c. 893, sayı. 1-2, ss. 165-177, 2001.

[49] H. Wallace, S. Shorvon, and R. Tallis, "Age-specific incidence and prevalence rates of treated epilepsy in an unselected population of 2 052 922 and age-specific fertility rates of women with epilepsy," *The Lancet,* c. 352, sayı. 9145, ss. 1970-1973, 1998.

[50] E. rol Başar, M. artin Schürmann, T. amer Demiralp, C. anan Başar-Eroglu, and A. hmet Ademoglu, "Event-related oscillations are 'real brain responses'—wavelet analysis and new strategies," *International Journal of Psychophysiology,* c. 39, sayı. 2-3, ss. 91-127, 2001.

[51] E. Beyazçiçek, "SIÇANLARDA AKUT VE KRONİK UYGULANAN

ELAJİK ASİDİN PENİSİLİN İLE OLUŞTURULMUŞ EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİ," (in Türkçe), ss. 42-77, 2017.

[52] G. Bambal, D. Çakıl, and F. Ekici, "Deneysel epilepsi modelleri," 2011.

[53] A. E. WALKER, H. C. JOHNSON, and W. H. Funderburk, "Convulsive factor in commercial penicillin," *Archives of Surgery,* c. 50, sayı. 2, ss. 69-73, 1945.

[54] I. Akdogan, E. Adiguzel, I. Yilmaz, M. B. Ozdemir, M. Sahiner, and A. C. Tufan, "Penicillin-induced epilepsy model in rats: dose-dependant effect on hippocampal volume and neuron number," *Brain research bulletin,* c. 77, sayı. 4, ss. 172-177, 2008.

[55] C. Rubio, M. Rubio-Osornio, S. Retana-Márquez, M. López, V. Custodio, and C. Paz, "In vivo experimental models of epilepsy," *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents),* c. 10, sayı. 4, ss. 298-309, 2010.

[56] M. A. Castro-Alamancos, "Origin of synchronized oscillations induced by neocortical disinhibition in vivo," *Journal of Neuroscience,* c. 20, sayı. 24, ss. 9195-9206, 2000.

[57] N. Leresche, R. C. Lambert, A. C. Errington, and V. Crunelli, "From sleep spindles of natural sleep to spike and wave discharges of typical absence seizures: is the hypothesis still valid?," *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology,* c. 463, ss. 201-212, 2012.

[58] G. A. Johnston, "Advantages of an antagonist: bicuculline and other GABA antagonists," *British journal of pharmacology,* c. 169, sayı. 2, ss. 328-336, 2013.

[59] R. W. Olsen, "Picrotoxin-like channel blockers of GABAA receptors," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* c. 103, sayı. 16, ss. 6081-6082, 2006.

[60] R. Sharma, "Consice textbook of forensic medicine & toxicology, 2008," *Elsevier, New Delhi,* c. 110, sayı. 065, ss. 74-75, 2008.

[61] R. H. Waring, G. B. Steventon, and S. C. Mitchell, *Molecules of death*. Imperial College Press 2007.

[62] L. M. KOPELOFF, J. G. CHUSID, and N. KOPELOFF, "Epilepsy in Macaca mulatta after cortical or intracerebral alumina," *AMA Archives of Neurology & Psychiatry,* c. 74, sayı. 5, ss. 523-526, 1955.

[63] C. R. Craig and B. K. Colasanti, "Reduction of frequency of seizures by carbamazepine during cobalt experimental epilepsy in the rat," *Pharmacology Biochemistry and Behavior,* c. 41, sayı. 4, ss. 813-816, 1992.

[64] M. Onozuka and S. Imai, "Induction of epileptic seizure activity by a specific protein from cobalt-induced epileptogenic cortex of rats," *Brain research,* c. 507, sayı. 1, ss. 143-145, 1990.

[65] R. P. Constantin *et al.*, "Prooxidant activity of fisetin: effects on energy metabolism in the rat liver," *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology,* c. 25, sayı. 2, ss. 117-126, 2011.

[66] J. Das, R. Singh, and D. Sharma, "Antiepileptic effect of fisetin in iron-induced experimental model of traumatic epilepsy in rats in the light of electrophysiological, biochemical, and behavioral observations," *Nutritional Neuroscience,* c. 20, sayı. 4, ss. 255-264, 2017.

[67] H. Loiseau, N. Averet, E. Arrigoni, and F. Cohadon, "The early phase of cryogenic lesions: an experimental model of seizures updated," *Epilepsia,* c. 28, sayı. 3, ss. 251-258, 1987.

[68] R. Carrea and A. Lanari, "Chronic effect of tetanus toxin applied locally to the cerebral cortex of the dog," *Science,* c. 137, sayı. 3527, ss. 342-343, 1962.

[69] E. Bertram, "The relevance of kindling for human epilepsy," *Epilepsia,* c. 48, ss. 65-74, 2007.

[70] R. Naquet and B. Meldrum, "Photogenic seizures in Baboon. In experimental models of epilepsy," ed: Raven Press, New York, 1972.

[71] C. Faingold, "Neuronal networks in the genetically epilepsy-prone rat," *Advances in neurology,* c. 79, ss. 311-321, 1999.

[72] K. K. Borowicz, J. J. Luszczki, G. Sobieszek, N. Ratnaraj, P. N. Patsalos, and S. a. J. Czuczwar, "Interactions between zonisamide and conventional antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock test model," *European neuropsychopharmacology,* c. 17, sayı. 4, ss. 265-272, 2007.

[73] J. E. Toman, E. A. Swinyard, and L. S. Goodman, "Properties of maximal seizures, and their alteration by anticonvulsant drugs and other agents," *Journal of neurophysiology,* c. 9, sayı. 3, ss. 231-239, 1946.

[74] M. A. Erdoğan and O. Erbaş, "Pentilentetrazol ile Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modelinde Oksolamin Sitratın Antikonvulsan Etkisi," *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,* c. 11, sayı. 1, ss. 92-99, 2020.

[75] A. Ali, F. J. Ahmad, K. K. Pillai, and D. Vohora, "Amiloride protects against pentylenetetrazole-induced kindling in mice," *British journal of pharmacology,* c. 145, sayı. 7, ss. 880, 2005.

[76] M. A. Cortez, G. K. Kostopoulos, and O. C. Snead III, "Acute and chronic pharmacological models of generalized absence seizures," *Journal of neuroscience methods,* c. 260, ss. 175-184, 2016.

[77] N. Y. Walton and D. M. Treiman, "Experimental secondarily generalized convulsive status epilepticus induced by D, L-homocysteine thiolactone," *Epilepsy research,* c. 2, sayı. 2, ss. 79-86, 1988.

[78] F. Malard, J. Dore, B. Gaugler, and M. Mohty, "Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease," *Mucosal Immunology,* c. 14, sayı. 3, ss. 547-554, 2021.

[79] E. Thursby and N. Juge, "Introduction to the human gut microbiota," *Biochemical journal,* c. 474, sayı. 11, ss. 1823-1836, 2017.

[80] A. Anadón, M. R. Martínez-Larrañaga, I. Arés, and M. A. Martínez, "Prebiotics and probiotics: An assessment of their safety and health benefits," *Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Bioactive foods in health promotion,* c. 1, sayı. 3, 2016.

[81] J. A. Vanderhoof and R. Pauley-Hunter, "Small Intestinal Bacterial Overgrowth," in *Textbook of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: A Comprehensive Guide to Practice*, S. Guandalini, A. Dhawan, and D. Branski Eds. Cham: Springer International Publishing, 2016, ss. 487-494.

[82] A. Duncan, R. Hilary, A. Dunn, M. Vella, and L. Stratton, "Functional foods for healthy aging: A toolkit for Registered Dietitians," *Ontario: Department of Human Health and Nutritional Sciences, University of Guelph,* 2012.

[83] F. KIRAN and Ö. OSMANAĞAOĞLU, "Ağız ve Diş Sağlığında Probiyotiklerin Etkisi," *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* c. 6, sayı. 1, ss. 56-62, 2016.

[84] B. Uymaz, "Probiyotikler ve Kullanım Alanları," *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences,* c. 16, sayı. 1, 2010.

[85] B. Yaşar and O. Kurdaş, "Probiyotikler ve gastrointestinal sistem," *Güncel gastroenteroloji,* c. 13, sayı. 1, ss. 23-28, 2009.

[86] M. F. Fernández, S. Boris, and C. Barbes, "Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract," *Journal of applied microbiology,* c. 94, sayı. 3, ss. 449-455, 2003.

[87] P. S. Begum, G. Madhavi, S. Rajagopal, B. Viswanath, M. A. Razak, and V. Venkataratnamma, "Probiotics as functional foods: potential effects on human health and its impact on neurological diseases," *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases,* c. 7, sayı. 2, ss. 23-33, 2017.

[88] M. R. I. Shishir, L. Xie, C. Sun, X. Zheng, and W. Chen, "Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters," *Trends in Food Science & Technology,* c. 78, ss. 34-60, 2018.

[89] J. Zheng *et al.*, "A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae," *International journal of systematic and evolutionary microbiology,* c. 70, sayı. 4, ss. 2782-2858, 2020.

[90] M. Silva, N. Jacobus, C. Deneke, and S. Gorbach, "Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain," *Antimicrobial agents and chemotherapy,* c. 31, sayı. 8, ss. 1231-1233, 1987.

[91] F. Dal Bello and C. Hertel, "Oral cavity as natural reservoir for intestinal lactobacilli," *Systematic and applied microbiology,* c. 29, sayı. 1, ss. 69-76, 2006.

[92] R. M. Duar *et al.*, "Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus Lactobacillus," *FEMS microbiology reviews,* c. 41, sayı. Supp_1, ss. S27-S48, 2017.

[93] G. Licitra and S. Carpino, "The microfloras and sensory profiles of selected protected designation of origin Italian cheeses," *Cheese and Microbes,* ss. 151-165, 2014.

[94] B. Madalı, "Farklı yöntemler ile enkapsüle edilen probiyotiklerin in vitro ve in vivo etkinliğinin belirlenmesi," 2021.

[95] D. Gao *et al.*, "Study of the immunoregulatory effect of Lactobacillus rhamnosus 1.0320 in immunosuppressed mice," *Journal of Functional Foods,* c. 79, ss. 104423, 2021.

[96] P. Vajro *et al.*, "Effects of Lactobacillus rhamnosus strain GG in pediatric obesity-related liver disease," *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* c. 52, sayı. 6, ss. 740-743, 2011.

[97] K. Wickens *et al.*, "A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial," *Journal of Allergy and Clinical Immunology,* c. 122, sayı. 4, ss. 788-794, 2008.

[98] P. Österlund *et al.*, "Lactobacillus supplementation for diarrhoea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomised study," *British journal of cancer,* c. 97, sayı. 8, ss. 1028-1034, 2007.

[99] S. Di Caro *et al.*, "Effects of Lactobacillus GG on genes expression pattern in small bowel mucosa," *Digestive and Liver Disease,* c. 37, sayı. 5, ss. 320-329, 2005.

[100] I. S. Ludwig, F. Broere, S. Manurung, T. T. Lambers, R. Van der Zee, and W. Van Eden, "Lactobacillus rhamnosus GG-derived soluble mediators modulate adaptive immune cells," *Frontiers in immunology,* c. 9, ss. 1546, 2018.

[101] S. R. Konstantinov, E. J. Kuipers, and M. P. Peppelenbosch, "Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening," *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology,* c. 10, sayı. 12, ss. 741-745, 2013.

[102] A. Gonca and M. ATAMANALP, "Su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotik ve prebiyotik kullanımı," *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences,* c. 22, sayı. 1, ss. 62-68, 2012.

[103] J. A. Vanderhoof and R. J. Young, "Probiotics in pediatrics," *PEDIATRICS-SPRINGFIELD-,* c. 109, sayı. 5, ss. 956-958, 2002.

[104] S. Doğu Özbay and C. Sarıçoban, "Probiyotik et ürünleri ve beslenme," 2015.

[105] S. Arslan, Z. Erginkaya, M. Özaslan, H. Kılıç, and E. Ünal, "LactoBacillus rhamnosus' un sünme (rope) hastalığı etkeni olan Bacillus cinsi bakteriler üzerine inhibitör etkisinin unlarda araştırılması," *Türk Mikrobiyol Cem Derg,* c. 43, sayı. 4, ss. 155-64, 2013.

[106] H. Serçe, "Kistik Fibrozisli Hastalarda Lactobacillus Rhamnosus Gg Desteğinin Gastrointestinal Sistem ve Pulmoner İnflamasyon ile Beslenme Durumuna Etkisi," 2021.

[107] L. Capurso, "Thirty years of Lactobacillus rhamnosus GG: a review," *Journal of clinical gastroenterology,* c. 53, ss. S1-S41, 2019.

[108] T. C. Fung, C. A. Olson, and E. Y. Hsiao, "Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease," *Nature neuroscience,* c. 20, sayı. 2, ss. 145-155, 2017.

[109] R. Yunes *et al.*, "GABA production and structure of gadB/gadC genes in Lactobacillus and Bifidobacterium strains from human microbiota," *Anaerobe,* c. 42, ss. 197-204, 2016.

[110] E. Barrett, R. Ross, P. W. O'Toole, G. F. Fitzgerald, and C. Stanton, "γ-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine," *Journal of applied microbiology,* c. 113, sayı. 2, ss. 411-417, 2012.

[111] L. A. David *et al.*, "Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome," *Nature,* c. 505, sayı. 7484, ss. 559-563, 2014.

[112] M. Dahlin, Å. Elfving, U. Ungerstedt, and P. Åmark, "The ketogenic diet influences the levels of excitatory and inhibitory amino acids in the CSF in children with refractory epilepsy," *Epilepsy research,* c. 64, sayı. 3, ss. 115-125, 2005.

[113] R. S. Kootte *et al.*, "Improvement of insulin sensitivity after lean donor feces in metabolic syndrome is driven by baseline intestinal microbiota composition," *Cell metabolism,* c. 26, sayı. 4, ss. 611-619. e6, 2017.

[114] P. Strandwitz, "Neurotransmitter modulation by the gut microbiota," *Brain research,* c. 1693, ss. 128-133, 2018.

[115] G. Stefano, N. Pilonis, R. Ptacek, J. Raboch, M. Vnukova, and R. Kream, "Gut, microbiome, and brain regulatory axis: relevance to neurodegenerative and psychiatric disorders," *Cellular and molecular neurobiology,* c. 38, sayı. 6, ss. 1197-1206, 2018.

[116] J. R. Kelly, P. J. Kennedy, J. F. Cryan, T. G. Dinan, G. Clarke, and N. P. Hyland, "Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders," *Frontiers in cellular neuroscience,* ss. 392, 2015.

[117] R. D. Moloney, L. Desbonnet, G. Clarke, T. G. Dinan, and J. F. Cryan, "The microbiome: stress, health and disease," *Mammalian genome,* c. 25, ss. 49-74, 2014.

[118] A. Sarkar, S. M. Lehto, S. Harty, T. G. Dinan, J. F. Cryan, and P. W. Burnet, "Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals," *Trends in neurosciences,* c. 39, sayı. 11, ss. 763-781, 2016.

[119] T. R. Sampson *et al.*, "Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease," *Cell,* c. 167, sayı. 6, ss. 1469-1480. e12, 2016.

[120] L. M. Dicks, "Gut Bacteria and Neurotransmitters," *Microorganisms,* c. 10, sayı. 9, ss. 1838, 2022.

[121] T. Bansal, D. Englert, J. Lee, M. Hegde, T. K. Wood, and A. Jayaraman, "Differential effects of epinephrine, norepinephrine, and indole on Escherichia coli O157: H7 chemotaxis, colonization, and gene expression," *Infection and immunity,* c. 75, sayı. 9, ss. 4597-4607, 2007.

[122] E. A. Tsavkelova, I. Botvinko, V. Kudrin, and A. Oleskin, "Detection of neurotransmitter amines in microorganisms with the use of high-performance liquid chromatography," in *Doklady Biochemistry*, 2000, vol. 372, no. 1-6: Общество с ограниченной ответственностью Международная академическая …, pp. 115-117, rişim: URL

[123] V. Shishov, T. Kirovskaya, V. Kudrin, and A. Oleskin, "Amine neuromediators, their precursors, and oxidation products in the culture of Escherichia coli K-12," *Applied biochemistry and microbiology,* c. 45, ss. 494-497, 2009.

[124] F. Özoğul, "Production of biogenic amines by Morganella morganii, Klebsiella pneumoniae and Hafnia alvei using a rapid HPLC method," *European Food Research and Technology,* c. 219, ss. 465-469, 2004.

[125] F. Özoğul, E. Kuley, Y. ÖZOĞUL, and İ. ÖZOĞUL, "The function of lactic acid bacteria on biogenic amines production by food-borne pathogens in arginine decarboxylase broth," *Food Science and Technology Research,* c. 18, sayı. 6, ss. 795-804, 2012.

[126] K. Pokusaeva *et al.*, "GABA-producing Bifidobacterium dentium modulates visceral sensitivity in the intestine," *Neurogastroenterology & Motility,* c. 29, sayı. 1, ss. e12904, 2017.

[127] Y. R. Cho, J. Y. Chang, and H. C. Chang, "Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by Lactobacillus buchneri isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells," *Journal of Microbiology and Biotechnology,* c. 17, sayı. 1, ss. 104-109, 2007.

[128] N. Komatsuzaki, J. Shima, S. Kawamoto, H. Momose, and T. Kimura, "Production of γ-aminobutyric acid (GABA) by Lactobacillus paracasei isolated from traditional fermented foods," *Food microbiology,* c. 22, sayı. 6, ss. 497-504, 2005.

[129] S. Siragusa, M. De Angelis, R. Di Cagno, C. G. Rizzello, R. Coda, and M. Gobbetti, "Synthesis of γ-aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses," *Applied and environmental microbiology,* c. 73, sayı. 22, ss. 7283-7290, 2007.

[130] Y.-C. Su, J.-J. Wang, T.-T. Lin, and T.-M. Pan, "Production of the secondary metabolites γ-aminobutyric acid and monacolin K by Monascus," *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology,* c. 30, sayı. 1, ss. 41-46, 2003.

[131] S.-Y. Yang *et al.*, "Production of γ-aminobutyric acid by Streptococcus salivarius subsp. thermophilus Y2 under submerged fermentation," *Amino acids,* c. 34, ss. 473-478, 2008.

[132] S.-H. Kim, K. G. Field, M. T. Morrissey, R. J. Price, C.-I. Wei, and H. An, "Source and identification of histamine-producing bacteria from fresh and temperature-abused albacore," *Journal of food protection,* c. 64, sayı. 7, ss. 1035-1044, 2001.

[133] J. Landete, S. Ferrer, and I. Pardo, "Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine," *Food Control,* c. 18, sayı. 12, ss. 1569-1574, 2007.

[134] J. Landete, S. Ferrer, and I. Pardo, "Which lactic acid bacteria are responsible for histamine production in wine?," *Journal of Applied Microbiology,* c. 99, sayı. 3, ss. 580-586, 2005.

[135] C. R. Martin, V. Osadchiy, A. Kalani, and E. A. Mayer, "The brain-gut-microbiome axis," *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology,* c. 6, sayı. 2, ss. 133-148, 2018.

[136] L. H. Morais, H. L. Schreiber IV, and S. K. Mazmanian, "The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders," *Nature Reviews Microbiology,* c. 19, sayı. 4, ss. 241-255, 2021.

[137] J. A. Bravo *et al.*, "Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* c. 108, sayı. 38, ss. 16050-16055, 2011.

[138] J. M. Yano *et al.*, "Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis," *Cell,* c. 161, sayı. 2, ss. 264-276, 2015.

[139] V. Singh *et al.*, "Microbiota dysbiosis controls the neuroinflammatory response after stroke," *Journal of Neuroscience,* c. 36, sayı. 28, ss. 7428-7440, 2016.

[140] A. Haghikia *et al.*, "Dietary fatty acids directly impact central nervous system autoimmunity via the small intestine," *Immunity,* c. 43, sayı. 4, ss. 817-829, 2015.

[141] B. S. Samuel *et al.*, "Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* c. 105, sayı. 43, ss. 16767-16772, 2008.

[142] E. Boonstra, R. De Kleijn, L. S. Colzato, A. Alkemade, B. U. Forstmann, and S. Nieuwenhuis, "Neurotransmitters as food supplements: the effects of GABA on brain and behavior," *Frontiers in psychology,* ss. 1520, 2015.

[143] J. F. Cryan and T. G. Dinan, "Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour," *Nature reviews neuroscience,* c. 13, sayı. 10, ss. 701-712, 2012.

[144] R. Mazzoli and E. Pessione, "The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling," *Frontiers in microbiology,* c. 7, ss. 1934, 2016.

[145] W. R. Wikoff *et al.*, "Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites," *Proceedings of the national academy of sciences,* c. 106, sayı. 10, ss. 3698-3703, 2009.

[146] Y.-K. Mao, D. L. Kasper, B. Wang, P. Forsythe, J. Bienenstock, and W. A. Kunze, "Bacteroides fragilis polysaccharide A is necessary and sufficient for acute activation of intestinal sensory neurons," *Nature communications,* c. 4, sayı. 1, ss. 1465, 2013.

[147] D. Elphick and Y. Mahida, "Paneth cells: their role in innate immunity and inflammatory disease," *Gut,* c. 54, sayı. 12, ss. 1802-1809, 2005.

[148] M. E. Keir, T. Yi, T. T. Lu, and N. Ghilardi, "The role of IL-22 in intestinal health and disease," *Journal of Experimental Medicine,* c. 217, sayı. 3, 2020.

[149] N. Di Tommaso, A. Gasbarrini, and F. R. Ponziani, "Intestinal barrier in human health and disease," *International journal of environmental research and public health,* c. 18, sayı. 23, ss. 12836, 2021.

[150] V. Braniste *et al.*, "The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice," *Science translational medicine,* c. 6, sayı. 263, ss. 263ra158-263ra158, 2014.

[151] T. Poutahidis *et al.*, "Microbial symbionts accelerate wound healing via the neuropeptide hormone oxytocin," *PloS one,* c. 8, sayı. 10, ss. e78898, 2013.

[152] M. Sgritta *et al.*, "Mechanisms underlying microbial-mediated changes in social behavior in mouse models of autism spectrum disorder," *Neuron,* c. 101, sayı. 2, ss. 246-259. e6, 2019.

[153] P. Bercik *et al.*, "The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice," *Gastroenterology,* c. 141, sayı. 2, ss. 599-609. e3, 2011.

[154] E. Y. Hsiao *et al.*, "Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders," *Cell,* c. 155, sayı. 7, ss. 1451-1463, 2013.

[155] D. Erny *et al.*, "Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS," *Nature neuroscience,* c. 18, sayı. 7, ss. 965-977, 2015.

[156] J. A. Foster and K.-A. M. Neufeld, "Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression," *Trends in neurosciences,* c. 36, sayı. 5, ss. 305-312, 2013.

[157] K. Nemani, R. H. Ghomi, B. McCormick, and X. Fan, "Schizophrenia and the gut–brain axis," *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry,* c. 56, ss. 155-160, 2015.

[158] C. A Kohler *et al.*, "The gut-brain axis, including the microbiome, leaky gut and bacterial translocation: mechanisms and pathophysiological role in Alzheimer's disease," *Current pharmaceutical design,* c. 22, sayı. 40, ss. 6152-6166, 2016.

[159] H. E. Vuong and E. Y. Hsiao, "Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder," *Biological psychiatry,* c. 81, sayı. 5, ss. 411-423, 2017.

[160] R. Citraro *et al.*, "First evidence of altered microbiota and intestinal damage and their link to absence epilepsy in a genetic animal model, the WAG/Rij rat," *Epilepsia,* c. 62, sayı. 2, ss. 529-541, 2021.

[161] Y. Fan, H. Wang, X. Liu, J. Zhang, and G. Liu, "Crosstalk between the ketogenic diet and epilepsy: from the perspective of gut microbiota," *Mediators of inflammation,* c. 2019, 2019.

[162] N. Kızılaslan, O. Sumbul, and H. Aygun, "The Beneficial Effect of Probiotics Supplementation on Penicillin-Induced Focal Seizure in Rats," *Neurochemical Research,* c. 47, sayı. 5, ss. 1395-1404, 2022.

[163] C. G. Parsons, A. Stöffler, and W. Danysz, "Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the

glutamatergic system-too little activation is bad, too much is even worse," *Neuropharmacology,* c. 53, sayı. 6, ss. 699-723, 2007.

[164] A. Erfanparast and E. Tamaddonfard, "Effects of intracortical microinjection of vitamin B12 on penicillin-induced epileptiform activity in rats," *Acta Neurobiol Exp (Wars),* c. 75, sayı. 2, ss. 200-207, 2015.

[165] A. E. Arık, F. Bağırıcı, F. Sefil, and C. Marangoz, "Effect of levetiracetam on penicillin induced epileptic activity in rats," *Acta Neurobiol Exp (Wars),* c. 74, sayı. 3, ss. 266-75, 2014.

[166] S. Bagheri, A. Heydari, A. Alinaghipour, and M. Salami, "Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling," *Epilepsy & Behavior,* c. 95, ss. 43-50, 2019.

[167] J. S. Medel-Matus, D. Shin, E. Dorfman, R. Sankar, and A. Mazarati, "Facilitation of kindling epileptogenesis by chronic stress may be mediated by intestinal microbiome," *Epilepsia Open,* c. 3, sayı. 2, ss. 290-294, 2018.

[168] S. Tahmasebi, S. Oryan, H. R. Mohajerani, N. Akbari, and M. R. Palizvan, "Probiotics and Nigella sativa extract supplementation improved behavioral and electrophysiological effects of PTZ-induced chemical kindling in rats," *Epilepsy & Behavior,* c. 104, ss. 106897, 2020.

[169] Z. R. Asl, G. Sepehri, and M. Salami, "Probiotic treatment improves the impaired spatial cognitive performance and restores synaptic plasticity in an animal model of Alzheimer's disease," *Behavioural brain research,* c. 376, ss. 112183, 2019.

[170] S. Athari Nik Azm *et al.*, "Lactobacilli and bifidobacteria ameliorate memory and learning deficits and oxidative stress in β-amyloid (1–42) injected rats," *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism,* c. 43, sayı. 7, ss. 718-726, 2018.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Murat TEKBAŞ

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Fizyoloji	Düzce Üniversitesi	2023
Y. Lisans	Fizyoloji	Düzce Üniversitesi	2018
Lisans	Biyoloji Öğretmenliği	Atatürk Üniversitesi	1997
Lise		Şişli Kurtuluş Lisesi	1993