TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ SIÇANLARDA ARALIKLI AÇLIĞIN NÖROGENEZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN CİNSİYET FARKLILIĞI AÇISINDAN İNCELENMESİ

DAMLA KAYALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ÖZLEM TUĞÇE ÇİLİNGİR KAYA
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL- 2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ SIÇANLARDA ARALIKLI AÇLIĞIN NÖROGENEZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN CİNSİYET FARKLILIĞI AÇISINDAN İNCELENMESİ

DAMLA KAYALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ÖZLEM TUĞÇE ÇİLİNGİR KAYA
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL- 2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş 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.

Damla KAYALI

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen, akademik gelişimime katkıları ve ilham verici yaklaşımıyla bana yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem Tuğçe Çilingir-Kaya'ya,

Tez sürecimde bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Feriha Ercan'a, değerli bilgilerini benimle paylaşarak bu süreci daha verimli kılmamı sağlayan kıymetli hocalarım; Prof. Dr. Şule Çetinel, Prof. Dr. Dilek Akakın ve Prof. Dr. Serap Şirvancı'ya,

Çalışmalarım sürecinde her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında yanımda olan, sevgileri ve destekleriyle bana güç veren kıymetli aileme, hayatıma neşe katan Lidya ve Alinda'ma,

Hayatın tüm zorluklarına rağmen bana gülmeyi öğreten, enerjisiyle ve yaşam dolu haliyle her zaman örnek aldığım, yaşam enerjisi, sevgisi ve verdiği öğütlerle her zaman yanımda olacak canım babaanneme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez projesi Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 11023 sayılı proje ile desteklenmiştir. Projeye verdiği destekten ötürü Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimizi sunarız.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR LİSTESİ ..... **i**
TABLO LİSTESİ ..... **ii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **iii**
1. ÖZET **1**
2. SUMMARY **2**
3. GİRİŞ ve AMAÇ **3**
4. GENEL BİLGİLER **5**
4.1. Hipokampus Histolojisi 5
4.1.1 Hipokampal korteks 5
4.2. Nörogenez 8
4.2.1. Nörogenez belirteci olarak doublecortin ve kalbindin 9
4.3. Epilepsi 10
4.3.1. Normal EEG ve epilepside EEG değişiklikleri 12
4.3.2. Epilepsi ve nörogenez ilişkisi 13
4.3.3. Deneysel epilepsi modelleri 14
4.4. Bağırsak-Beyin İlişkisi 15
4.4.1. Diyet kısıtlaması, epilepsi ve nörogenez ilişkisi 16
4.5. Davranış Deneyleri 18
4.5.1. Açık alan lokomotor aktivite testi 19
4.5.2. Pasif kaçınma testi 19
5. GEREÇ ve YÖNTEM **20**
5.1. Deney Grupları 20
5.2. Epileptik Hayvanların EEG Kayıtlarının Alınması 21
5.2.1. Stereotaksik cerrahi işlemi 21
5.2.2. EEG kayıtlarının alınması 22
5.2.3. EEG analizi 22
5.3. Davranış Deneyleri 23
5.3.1. Pasif kaçınma testi 23
5.3.2. Açık alan lokomotor aktivite testi 24
5.4. Doku Örneklerinin Toplanması 24
5.5. Işık Mikroskopik Preparasyon ve Histopatolojik Değerlendirmeler 25

5.6. İmmünohistokimyasal İşaretlemeler 25
5.7. Doku Protein Düzeylerinin Western Blot Yöntemi ile İncelenmesi 26
5.8. Oksidatif Stres ve Antioksidan Parametrelerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi 27
5.8.1. Malondialdehit (MDA) tayini 27
5.8.2. Myeloperoksidaz (MPO) tayini 27
5.8.3. Glutatyon (GSH) tayini 27
5.8.4. Süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) tayini 28
5.9. Kolon Mikrobiyota Analizi 28
5.10. İstatistiksel Analiz 29
6. BULGULAR 30
6.1. EEG Kayıtları 30
6.2. Davranış Deneyleri 30
6.2.1 Açık alan testi 30
6.2.2. Pasif kaçınma testi 31
6.3. Beyin Dokusunun İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Analizi 32
6.4. Beyin Dokusu Western blot Bulguları 35
6.5. Beyin Dokusu Oksidatif Stres Seviyeleri ve Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi 35
6.6. Kolon Dokusu Histopatoloji Bulguları 37
6.7. Kolon Dokusu Goblet Hücrelerinin PAS Boyaması ile Değerlendirilmesi 40
6.8. Kolon Dokusu Okludin İmmünohistokimya Bulguları 42
6.9. Kolon Dokusu Oksidatif Stres Seviyeleri ve Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi 44
6.10. Mikrobiyota Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi 46
7. TARTIŞMA ve SONUÇ 47
8. KAYNAKLAR 60
9. ÖZGEÇMİŞ ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
10. BİLİMSEL FAALİYETLER 74
11. EKLER ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

KISALTMALAR LİSTESİ

CA	:	Cornu ammonis
EEG	:	Elektroensefalogram
DG	:	Dentat girus
DK	:	Diyet Kısıtlaması
AA	:	Aralıklı açlık
KB	:	Kalbindin
YHN	:	Yetişkin hipokampal nörogenez
AGA	:	Alternatif gün açlığı
LTP	:	Uzun süreli güçlenme
MDA	:	Malondialdehit
GSH	:	Glutatyon
MPO	:	Myeloperoksidaz
SOD	:	Süperoksitdismutaz
İHK	:	İmmünohistokimya
WB	:	Westernblot
SGZ	:	Subgranüler bölgr
SVZ	:	Subventiküler bölge

TABLO LİSTESİ

Sayfa Numarası

Tablo 1. Epileptik nöbetlerin ILEA 2017'ye göre sınıflandırması. 11
Tablo 2. Antikorların kullanım amaçları. 26
Tablo 3. Çalışmada kullanılan PCR primerleri ve ürün boyutları 29

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa Numarası

Şekil 1. Hipokampal Formasyon 6
Şekil 2. Perforan Yol 7
Şekil 3. Hipokampal Nörogenez Evreleri ve Belirteçleri 10
Şekil 4. Epileptiform Anormalliklere Ait Ham EEG Örnekleri 12
Şekil 5. Power analiz sonucu. 20
Şekil 6. Stereotaksik cerrahi sonrası, mikrokonnektör yerleştirilmiş hayvan. 21
Şekil 7. EEG kayıt düzeneği 22
Şekil 8. Pasif kaçınma deney düzeneği 23
Şekil 9. Açık alan test düzeneği. 24
Şekil 10. GAERS hayvanları deney gruplarına ait kümülatif nöbet analizleri, nöbet sıklığı ve nöbet süresini gösteren grafik. 30
Şekil 11. Açık alan testinde deney hayvanlarının lokomotor aktivite analizi 31
Şekil 12. Deney gruplarına ait pasif kaçınma testi geçiş gecikmesi sonuçları. 32
Şekil 13. Deney gruplarına ait IR açısından (A) DCX ve (B) KB karşılaştırılması. 32
Şekil 14. Deney gruplarına ait DCX immünoreaktivitesini gösteren temsili mikrograflar 33
Şekil 15. Deney gruplarına ait KB immünoreaktivitesini gösteren temsili mikrograflar 34
Şekil. 16. Wistar ve GAERS suşlarına ait dişi ve erkek sıçanlarda KB ve DCX protein ekspresyon seviyelerindeki değişimler. 35
Şekil 17. Deney gruplarına ait oksidatif stres ve inflamasyon seviyelerindeki gruplararası değişimin gösterimi 36
Şekil 18. Deney gruplarına ait antioksidan kapasite seviyelerinin istatistiksel gösterimi 37
Sekil 19. Kolon dokusuna ait semi-kantitatif histopatolojik skor değerlendirmesi 38
Şekil 20. Deney gruplarına ait kolon dokuları temsili fotomikrografları. 39
Sekil 21. Kolon dokusuna ait PAS+ hücre sayısının gruplar arasında karşılaştırmalı değerlendirilmesi 40
Şekil 22. Deney gruplarına ait kolon dokusu temsili fotomikrografları 41
Şekil 23. Deney gruplarının okludin IR açısından karşılatırılması 42
Şekil 24. Deney gruplarına ait Okludin immünoreaktivitesini gösteren temsili mikrograflar 43
Şekil 25. Deney gruplarına ait oksidatif stres seviyelerinin istatistiksel olarak gösterimi 44

Şekil 26. Deney gruplarına ait antioksidan kapasite seviyelerinin istatistiksel olarak gösterimi 45
Şekil 27. Deney gruplarına ait kolon mikrobiyota analizi. 46

1. ÖZET

Tezin başlığı : Genetik Absans Epilepsili Sıçanlarda Aralıklı Açlığın Nörogenez Üzerine Etkilerinin Cinsiyet Farklılığı Açısından İncelenmesi
Öğrencinin Adı Soyadı : Damla Kayalı
Danışmanın Adı Soyadı : Doç. Dr. Özlem Tuğçe Çilingir-Kaya
Programın Adı : Histoloji ve Embriyoloji Doktora Programı

Amaç Bu çalışma, aralıklı açlık (AA) ve nörogenez arasındaki patofizyolojik mekanizmaları, cinsiyet farklılığı açısından değerlendirerek araştırmayı amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 28 dişi ve 28 erkek sıçan dörder gruba ayrılmıştır: Wistar Kontrol (WK), Wistar + aralıklı açlık (WAA), GAERS + kontrol (GK), GAERS + aralıklı açlık (GAA). Sıçanlara pasif sakınma ve açık alan testleri uygulanmış, beyin ve kolon dokuları histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Nörogenezi incelemek için beyin dokusunda DCX ve KB proteinleri immünohistokimya (İHK) ve western blot (WB) yöntemleri ile, doku bütünlüğünü göstermek için kolon dokusunda okludin proteini İHK yöntemiyle incelenmiştir. Her iki dokuda da oksidatif stres belirteçleri, ELISA yöntemiyle ölçülmüştür.

Bulgular: GAERS sıçanların EEG analizinde, AA grubu sıçanların ortalama nöbet süresi, kontrol grubuna göre azalma eğilimi göstermiştir. Pasif sakınma testinde geçiş gecikmesi, GK grubunda tüm deney gruplarına göre bir düşüş sergilerken, GAA grubunda bu düşüş anlamlı olarak artmıştır ($p<0.001$). Açık alan testinde, WK grubuna göre WAA grubunda anlamlı derecede artan dolaşma mesafesi gözlenirken ($p<0,01$), GAERS sıçanlarda fark izlenmemiştir. İHK ve WB sonuçlarına göre, DCX ve KB ekspresyonlarında Wistar-Kontrol ve Wistar-AA arasında bir fark göstermezken; GAA grubunda, GK grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artmıştır. Kolon histopatolojisinde GAA grubunda, GK grubuna göre artan hasar skoru ve goblet hücre sayısı ($p<0,01$, $p<0,001$,$p<0,0001$) belirlendi. GAERS gruplarındaki azalmış okludin ekspresyonu, AA uygulamasıyla anlamlı derecede arttı ($p<0,05$, $p<0,01$). Beyin örneklerinde MPO, MDA değerlerinde anlamlı bir fark gözlenmezken, kolon dokusunda erkek gruplarda MDA seviyesinin GK gruplarda epileptik erkek hayvanlarda anlamlı bir şekilde arttı ($p<0,05$). GSH, SOD ve KAT düzeylerinin hem beyin hem kolon dokularında, her iki cinsiyette GAA gruplarında GK grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$).

Sonuç: Çalışmamızın verileri AA'nın epilepsi üzerindeki olası yararlı etkilerini, nörogenez ve bağırsak-beyin ekseni üzerinden gösterdiğini düşündürmektedir. Bu mekanizmanın aydınlatılması için ileride yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Aralıklı açlık, nörogenez, genetik absans epilepsi, hipokampus

2. SUMMARY

Title of Thesis: Investigation of the Effects of Intermittent Fasting on Neurogenesis in Rats with Genetic Absence Epilepsy in Terms of Gender Difference
Student Name, Surname: Damla Kayalı
Supervisor Name : Doç. Dr. Özlem Tuğçe Çilingir-Kaya
Program Name : Histology and Embryology PhD Program

Objective: This study aims to investigate the pathophysiological mechanisms linking epilepsy, intermittent fasting (AA), and neurogenesis with a focus on gender differences.

Materials and Methods: In this study, a total of 28 female and 28 male rats were divided into four groups: Wistar Control (WK), Wistar + Intermittent Fasting (WAA), GAERS + Control (GK), and GAERS + Intermittent Fasting (GAA). The rats underwent passive avoidance and open field tests, and their brain and colon tissues were histopathologically evaluated. To examine neurogenesis, DCX and KB proteins in brain tissue were analyzed using immunohistochemistry (IHC) and western blot (WB) methods. To assess tissue integrity, occludin protein in colon tissue was examined using the IHC method. Oxidative stress markers were measured using the ELISA method.

Results: In EEG analysis, the AA group showed a decreasing trend in seizure duration compared to the control. In the passive avoidance test, transition latency decreased in the GK group, whereas it significantly increased in the GAA group ($p<0.001$). In the open field test, locomotion distance was significantly higher in the WAA group compared to the WK group ($p<0.01$), with no difference in GAERS rats. IHC and WB analyses revealed no differences in DCX and KB expression between the Wistar-Control and Wistar-AA groups, but a significant increase in the GAA group compared to the GK group. Colon histopathology showed higher scores and goblet cell counts in the GAA group than in the GK group ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.0001$). Occludin expression, reduced in GAERS groups, significantly increased with AA treatment ($p<0.05$, $p<0.01$). While MPO and MDA levels in brain tissue showed no differences, kidney MDA levels were higher in male GK rats ($p<0.05$). GSH, SOD, and CAT levels were significantly elevated in the GAA group in both brain and colon tissues ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$).

Conclusion: The data from our study suggest that intermittent fasting may have beneficial effects on epilepsy via neurogenesis and the gut-brain axis.

Keywords: Intermittent fasting, neurogenesis, genetic absance epilepsy, hippocampus

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi, dünya çapında yaklaşık 50 milyon insanı etkileyen nörolojik bir hastalıktır. Anti-epileptik ilaçlar epilepsili hastaların yaklaşık %70'inde yeterli nöbet kontrolünü sağlasa da geriye kalan %30'u ilaçlara dirençlidir. Bu durum, farmakolojik tedaviye yanıt vermeyen dünya çapında yaklaşık 20 milyon insanın, epileptik nöbetlerden ani beklenmedik ölüm, artan yaralanma riski ve okul çağında öğrenme ve gelişim engelleri gibi yaşam boyu önemli olumsuz sonuçlarla karşı karşıya olduğu anlamına gelir (Mesraoua ve ark., 2023). Epilepsi, her yaştan ve her iki cinsiyetten insanı etkilemekle birlikte cinsiyetler arası farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Nöbet yatkınlığı ve epilepsi insidansı genellikle erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir (Beghi, 2019). Hipokampusa bağlı öğrenme ve hafıza ile ilişkili olan yetişkin hipokampal nörogenezinde de cinsiyet farklılıkları vardır (Yagi & Galea, 2019). Beyin sağlığı ve bilişsel işlev için diyetin ve bağırsak-beyin ekseninin önemi giderek daha fazla kabul edilmektedir. Diyet müdahaleleri, merkezi sinir sistemi bozukluklarını önleme ve/veya tedavi etme potansiyelleri taşımaktadır (Loh ve ark., 2024). Gıda kısıtlamasının, epilepsi hastalığına etkisi araştırılmıştır ancak cinsiyet farklılığı ve nörogenez üzerine etkisi, bizim bilgimize göre, literatürde bulunmamaktadır. Yapmayı planladığımız çalışmada aralıklı açlığın epileptik ve normal sıçanlarda nörogenez üzerindeki etkisi, cinsiyet farklılığı açısından incelenecektir.

Çalışmamızda aralıklı açlık (AA) uygulamasının epileptik ve normal sıçanlarda nörogenez üzerindeki etkisi, cinsiyet farklılığı açısından incelenmiştir. Çalışmamız; beyin ve bağırsaktaki değişiklikleri biyokimyasal, mikrobiyolojik, histolojik ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak kapsamlı bir şekilde ortaya koyması açısından önemlidir. Genetik absans epilepsili sıçanlarda, mekanizması tam olarak aydınlatılamamış yetişkin hipokampal nörogenezini, AA'nın nasıl etkilediğini cinsiyet farklılığı açısından değerlendirdiğimiz bu çalışmanın hedefleri şöyledir:

- AA uygulamasının epileptik hayvanarda nöbet sıklığı üzerindeki etkisinin belirlenmesi
- Tüm deney gruplarında öğrenme ve lokomotor aktivite farklılıklarının belirlenmesi,

- Kontrol ve epilepsi grupları arasında nörogenez sırasında eksprese olduğu bilinen kalbindin (KB) ve doublecortin (DCX) proteinlerinin düzeylerinin ve AA'nın bu antikor düzeylerine etkisinin belirlenmesi,
- Kontrol ve epilepsili sıçanların oksidatif stres değişiminin belirlenmesi ve AA'nın bu değişimdeki rolünün saptanması,
- Kontrol ve epilepsi gruplarının beyin ve bağırsak histopatolojisinin değerlendirilmesi ve AA'nın bu patolojideki olası koruyucu rolünün saptanması,

- Bahsedilen tüm parametrelerin, cinsiyet farklılığı açısından değerlendirilmesi.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Hipokampus Histolojisi

Hipokampus, temporal lobun medial kısmına gömülü limbik lobun bir parçasıdır ve hafıza işleme, öğrenme, mekansal navigasyon ve duygularda rol oynar (Khalaf-Nazzal & Francis, 2013). Kaba diseksiyonda bir denizatına benzemesi, bu deniz canlısının (cins *Hippocampus*) adını almasına neden olmuştur. Kemirgenlerde, hipokampus neokorteksin hemen altında nispeten büyük, kaju biçimli bir yapıdır (Knierim, 2015).

Hipokampus yetişkin insanlarda, 5 cm uzunluğa ve 1 cm genişliğe ulaşabilir ve iki allokorteks laminasından oluşur: cornu ammonis (CA) ve dentat girus (DG). CA, nöronların hücresel morfolojisine bağlı olarak CA1, CA2, CA3 ve CA4 (hilus) olmak üzere dört alt alana ayrılır (Chauhan, Jethwa, Rathawa, Chauhan, & Mehra, 2021).

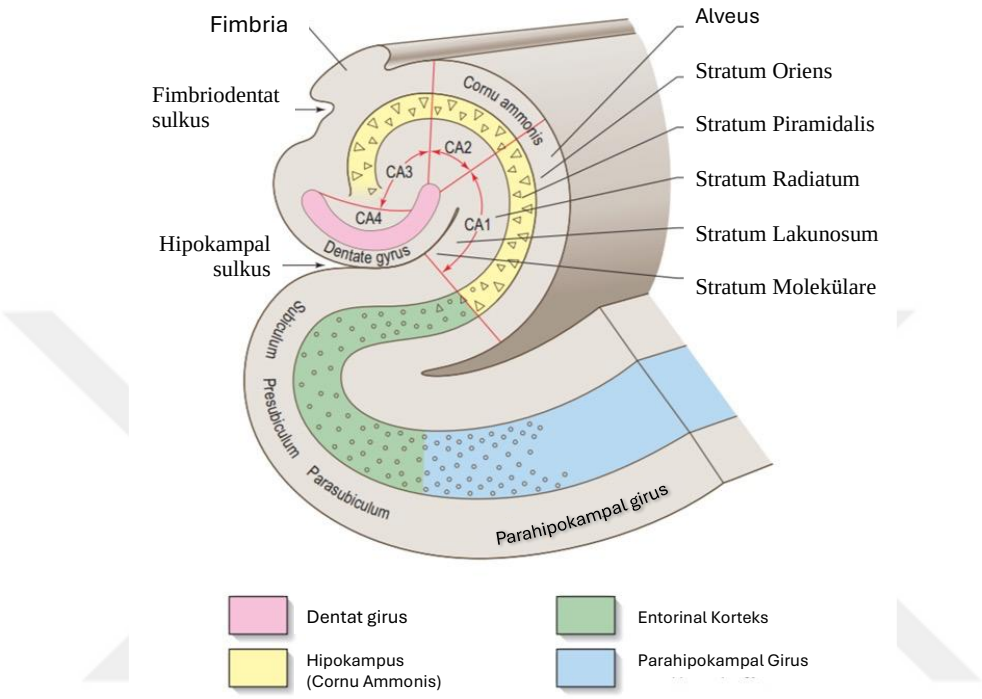
CA , DG, subikulum ve entorinal korteks birlikte hipokampal formasyon olarak adlandırılır (Şekil 1). Hipokampal formasyonun bölgeleri, entorinal korteksten DG' ye ve daha sonra subikulumdan talamus, amigdala, hipotalamus, septum ve prefrontal kortekse kadar çıktılarla CA alt alanlarına sıkı bir şekilde bağlı bir devre oluşturur (Moini, Avgeropoulos, & Samsam, 2021; T. A. White, Miller, Sutherland, Allison, & Camm, 2024).

4.1.1. Hipokampal korteks

Arkikorteks, hipokampal lobunun öncüsüdür. Hipokampus, pleksiform katmanlar arasında tek bir piramidal hücre tabakasından oluşan üç katmanlı arkikorteksten oluşur. Bu alan üçe ayrılır; CA1, CA2 ve CA3 (D'Antoni, 2016). Bazı araştırmacılar CA4'ü ayrı bir yapı olarak değerlendirirken, diğerleri onu CA3'ün bir uzantısı olarak görebilmektedir.

CA3 bölgesi, bir ucunda DG'nin hilus bölgesi, diğer ucunda ise CA2 alanı ile sınırlıdır. Bu bölgedeki piramidal hücreler, hipokampustaki en büyük hücreler olarak bilinir ve proksimal dendritleri aracılığıyla dentat granül hücrelerinden yosunsu lifler ile giriş alır. CA3 alanında piramidal hücre tabakası yaklaşık olarak 10 hücre kalınlığındadır. Ancak, CA3 ile CA2 arasındaki sınır kesin bir şekilde tanımlanmamıştır. CA2 bölgesi, piramidal hücrelerin en yoğun olarak bulunduğu tabakaya sahiptir. Bu bölge, dentat granül hücrelerinden gelen yosunsu lif girdilerinden tamamen yoksundur; bunun yerine, hipotalamustaki supramamiller bölgeden yoğun bir sinyal akışı alır.

Hipokampal alt bölümler arasında en karmaşık olanlardan biri olarak tanımlanan CA1 alanı, transvers ve rostrokaudal eksenlere göre görünüm açısından farklılık gösterir. CA1 ile CA2 arasındaki sınır keskin değildir ve CA1'in diğer ucunda, subikulum üzerine bir miktar uzantı yapar. CA1 bölgesindeki nöronların yaklaşık %10'unu internöronlar oluşturur.

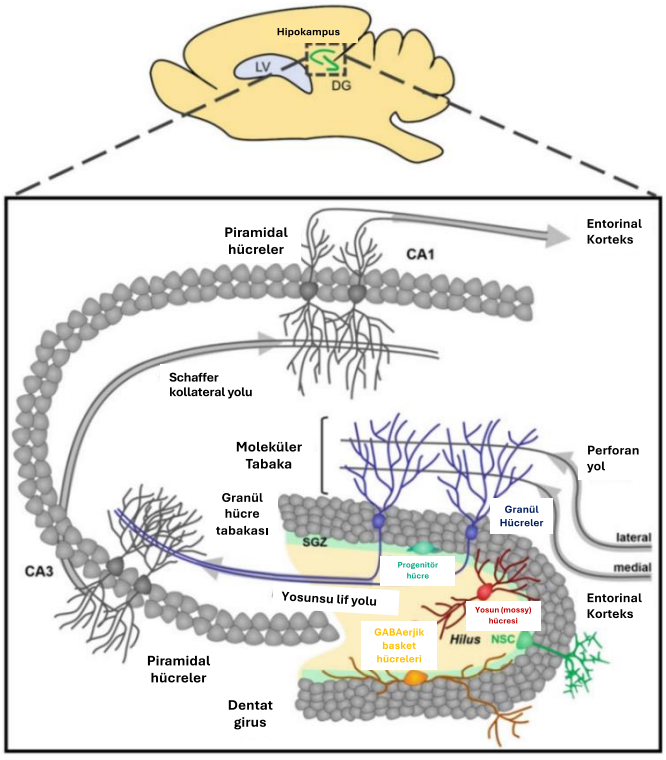


Şekil 1. Hipokampal Formasyon (Moini ve ark., 2021)

Hipokampusun katmanları yüzeyalden derine alveus (forniksin fimbrialarına doğru birleşen subiküler ve hipokampal piramidal hücre aksonlarını içerir); stratum oriens (çoğunlukla piramidal hücrelerin bazal dendritleri ve bazı internöronlar); stratum piramidalis; stratum lucidum (CA3 alanındaki piramidal hücrelerin proksimal dendritleriyle temas eden yosunsu lifler içerir); stratum radiatum ve stratum lakunosum-molekülare'dir. Stratum lucidum, insanlarda diğer primatlarda olduğu kadar belirgin değildir ve CA1 ile CA2 alanlarında mevcut değildir. Stratum radiatum ve stratum oriens'te, CA3 ve CA2 hücreleri hipokampusun diğer rostrokaudal subkortikal yapılardan gelen afferentlerden bağlantılar alır. CA3 ve CA2 alanlarının piramidal hücrelerinden CA1'e uzanan, genellikle Schaffer kollateralleri olarak adlandırılan projeksiyonlar da stratum radiatum ve stratum oriens'te sonlanır (D'Antoni*, 2016).

Entorinal korteksten DG'e (perforan yol) olan projeksiyonlar stratum lakunosum-moleküläre tabakasında ilerler ve burada hipokampus piramidal hücrelerinin distal apikal dendritleriyle sinaptik temas kurarlar (D'Antoni*, 2016) (Şekil 2).

DG'nin üç katmanlı korteksi, hipokampus alanlarının en az karmaşık olanıdır. Yüzeyde, hipokampal fissüre en yakın olan katman, nispeten hücresiz bir katman olan moleküler katmandır. Sıçanda, bu katmanın ortalama kalınlığı yaklaşık 250 µm'dir. Asıl hücre tabakası olan granüler hücre katmanı, moleküler katmanın derininde yer alır ve 4-8 granül hücre kalınlığında yoğun bir şekilde paketlenmiş bir tabakadan oluşur. Granüler hücrelerin, üstteki moleküler tabakaya uzanan tek kutuplu dendritleri vardır. Granüler hücre ve moleküler katmanlar (birlikte fascia dentata olarak da adlandırılır) septotemporal pozisyona bağlı olarak V veya U şeklinde bir yapı oluşturur ve bu yapı, DG'nin üçüncü katmanını oluşturan yosun hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinden oluşan bölge olan polimorfik hücre katmanını çevreler, DG'nin içinde kalırlar ve diğer hipokampal alanlara uzanmazlar (Amaral, Scharfman, & Lavenex, 2007; D'Antoni*, 2016; *The Hippocampus Book*, 2006).



Şekil 2. Perforan Yol (F. F. Ribeiro & Xapelli, 2021)

4.2. Nörogenez

Yetişkin memeli hipokampusunda, kök hücre ve progenitör hücrelerin bölünmesinden yeni nöronlar ortaya çıkar; bu süreç yetişkin nörogenezi olarak bilinir. Organizmanın yaşamı boyunca nörogeneze elverişli nişler içeren iki beyin bölgesi, hipokampus ve lateral ventriküldür. Özellikle, DG'nin subgranüler bölgesi (SGZ) ve lateral ventrikülün subventriküler bölgesi (SVZ) bu işlevi yerine getirir (F. F. Ribeiro & Xapelli, 2021). SVZ nörogenezinin insanlarda ve memelilerdeki rolü daha az net olsa da, yetişkin nörogenezinin hipokampal yapı ve işlevde önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Denoth-Lippuner & Jessberger, 2021; Snyder & Drew, 2020; Wooden, Thompson, Guerin, Nawarawong, & Nixon, 2021).

SGZ, DG'nin hilusu ve iç granül hücre tabakası arasındaki sınırda bulunan ince bir hücre bandıdır. SGZ'de bulunan nöronal kök hücreler , tip 1 hücreler olarak adlandırılır ve radyal glia benzeri öncül hücrelerdir. Tip 1 hücreler, yerel internöronlardan gelen GABA tarafından sessiz durumda tutulur ve bu hücreler aktif hale geldiğinde tip 2 hücreler üretirler. Tip 2 hücreler, yüksek proliferatif aktivite gösterirler ve tip 1 hücrelerden farklı olarak, daha basit bir morfolojiye sahiptirler. Tip 2 hücreler, tip 2a ve tip 2b olarak ikiye ayrılır. Tip 2b hücreler, tip 3 hücrelere dönüşür ve bu hücreler düşük proliferatif aktivite gösterir. Yeni doğan nöronlar, granül hücre tabakasına göç eder ve burada olgunlaşarak granül nöronları haline gelirler. Hipokampal aktivite, nörogenezi düzenler ve GABA'nın rolü farklı hücre türlerinde değişiklik gösterir. Yetişkin yeni doğan nöronlar, hipokampal devrelere dahil olarak çeşitli bilişsel ve duygusal işlevleri yerine getirmekte önemli rol oynar. Bu süreçte, birçok yeni nöron apoptoz ile elimine edilir ve sadece küçük bir yüzdesi hayatta kalarak granül hücre tabakasına entegre olur (F. F. Ribeiro & Xapelli, 2021).

Hipokampal nörogenez, dört farklı aşamayı içeren oldukça düzenli bir süreçtir: (1) öncü hücre aşaması; (2) erken hücre canlılığı aşaması; (3) mitoz sonrası aşama ve (4) geç hücre canlılığı aşaması (Bonaguidi, Song, Ming, & Song, 2012; Kempermann, Jessberger, Steiner, & Kronenberg, 2004).

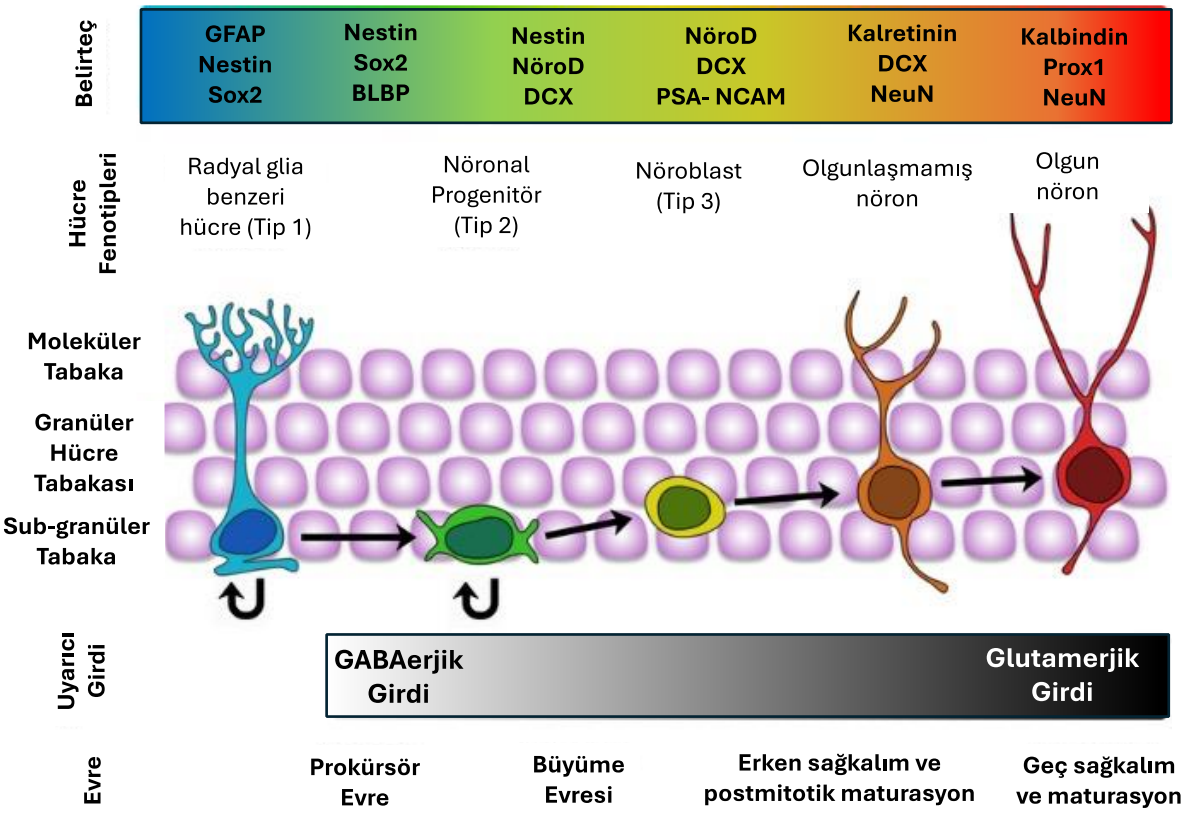
Perforan yol, entorhinal korteksten başlar ve sinyalleri hipokampusa iletir. Bu sinyaller, önce DG bölgesindeki granül hücrelerine ulaşır. Granül hücreleri, yosun lifleri aracılığıyla sinyalleri CA3 bölgesindeki piramidal nöronlara iletir (F. F. Ribeiro & Xapelli, 2021). CA3 piramidal nöronları ise Schaffer kolateralleri aracılığıyla sinyalleri CA1 bölgesindeki

piramidal nöronlara aktarır (Basu & Siegelbaum, 2015). Nörogenez tamamlandığında, granüler tabakaya entegre olan hücreler CA3 tabakası ile iletişim kurar.

4.2.1. Nörogenez belirteci olarak doublecortin ve kalbindin

Mikrotübül ilişkili bir protein olan DCX yenidoğanlarda ve göç eden nöronlarda geçici olarak eksprese edilir ve ayrıca olgunlaşmamış nöronlar için bir işaretleyici olarak kullanılır. Progenitör hücrelerin ve yenidoğan nöroblastlarının çoğalmasıyla sentezlenir. DCX, mikrotübüllerin düzenlenmesinde ve stabilizasyonunda, nöral hücre göçünde ve dendritik dallanmada önemli bir rol oynar. Kemirgen sinir sisteminde DCX ekspresyonu, progenitör hücrelerin bölünmesiyle indüklenir ve 30 gün boyunca devam ederek nöral olgunlaşmadan sonra sona erer (Ozlem Tugce Cilingir-Kaya ve ark., 2021). DCX+ hücreler, korteks ve striatumdaki nörogenezin ana habercileridir ve genellikle yetişkin nörogenezinin immünohistokimyasal tespiti için bir belirteç görevi görürler. SVZ'de DCX+ hücrelerinin oluşumu ve bariz göç etme yetenekleri nedeniyle, bu nöronal hücreler muhtemelen korteks ve striatumdaki en önemli yeni nöron kaynaklarıdır. DCX+ hücreleri, genellikle tespit edilmesi zor olan ve düşük bir hayatta kalma oranına sahip olan olgun nöronların öncüleridir (Ceanga, Dahab, Witte, & Keiner, 2021).

KB, DG tabakalarının uyarıcı granüler hücrelerinde eksprese edilen kalsiyum bağlayıcı bir proteindir ve granül hücre olgunluğunun bir belirtecini oluşturur. Nöral fonksiyon ve plastisite için gerekli olan KB, hipokampusun DG ve CA1'i dahil olmak üzere çeşitli beyin bölgelerinde bulunur (Kozareva, Cryan, & Nolan, 2019). Bununla birlikte, CA1 bölgesinin piramidal nöronları ve DG'nin granül hücreleri, çarpıcı biçimde farklı KB seviyelerine sahiptir. DG'nin hemen hemen tüm granül hücrelerinde yüksek konsantrasyonda KB bulunurken, CA1 alanındaki piramidal nöronların sadece yaklaşık üçte birinde bulunur (Alkadhi, 2019). DG'de KB ekspresyonunun azalması, epilepsi hayvan modellerinde ve hipokampal sklerozlu ve hipokampal sklerozsuz insan temporal lob epilepsisinde gözlenen erken ve yaygın bir morfolojik işaret oluşturur. Hayvan modellerinde, DG'de KB eksikliği ve KB aşırı ekspresyonunun uzun süreli güçlenmeyi (LTP) ve hafızayı azaltabileceği gözlemlenmiştir (Hagihara ve ark., 2019) (Şekil 3).



Şekil 3. Hipokampal Nörogenez Evreleri ve Belirteçleri (Kozareva ve ark., 2019)

4.3. Epilepsi

Nörodejeneratif hastalıklar, belirli nöronların kaybı ve işlevlerinin yavaş yavaş bozulmasına yol açan ilerleyici ve kronik seyirle karakterize edilen bir gup hastalıktır (Neri, Mastroianni, Gardella, Aguglia, & Rubboli, 2022). Epilepsi doğrudan nörodejeneratif bir hastalık olarak sınıflandırılmasa da şiddetli epilepsi formlarında nörodejenerasyon görülür (Engel, Pedley, & Aicardi, 2008). Epilepsi sürecinde meydana gelen nöroinflamasyon, hipokampal nörodejenerasyon ve oksidatif stres, nörodejeneratif mekanizmalarla örtüşmektedir (Pitkänen & Lukasiuk, 2011; Thom, 2014)

Epilepsi; nöbet adı verilen, motor kontrolün ve sıklıkla bilincin kaybolduğu, tekrarlayan anormal aşırı nöronal aktivite patlamaları ile karakterize nörolojik bir hastalık grubudur. Epilepsi, bu nöbetlerin oluşumuna sürekli bir yatkınlık ile kendini gösterir ve bu durum bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlara yol açabilir. Epileptik nöbetler, beynin anormal, aşırı veya senkronize sinirsel aktivitesinden kaynaklanan, geçici davranış değişiklikleriyle ortaya çıkar (Devinsky ve ark., 2018). Nöbetler, fokal (beynin belirli bir bölgesinde başlayan), jeneralize (her iki yarımkürede yaygın olarak başlayan) ya da bilinmeyen başlangıçlı olabilir (Beghi, Giussani, & Sander, 2015).

Dünya genelinde, insanların yaklaşık %10'u hayatları boyunca en az bir kez nöbet geçirir (Devinsky ve ark., 2018). Epilepsi, nörolojik bozukluklar arasında küresel hastalık yüküne en fazla katkıda bulunan üçüncü hastalıktır ve yaklaşık 50 milyon insanı etkilemektedir. Bir meta-analize göre, epilepsinin prevalansı 1.000 kişide 4-10 vaka, yıllık insidansı ise 100.000 kişide 50-60 vaka olarak belirlenmiştir (Chen, Brodie, Ding, & Kwan, 2023). Düşük ve orta gelirli ülkelerde prevalans ve insidans, yüksek gelirli ülkelere göre daha yüksektir. Epilepsinin nedenleri arasında yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik ve bağışıklık kökenli etkenler yer almaktadır (Devinsky ve ark., 2018).

Epileptik nöbetler, Uluslararası Epilepsi Ligi (ILEA) 2017 sınıflandırmasına göre genel olarak Tablo 1'deki gibi sınıflandırılmaktadır (Fisher ve ark., 2017).

Tablo 1. Epileptik nöbetlerin ILEA 2017'ye göre sınıflandırması.

Nöbet Türü	Alt Türler	Açıklama
Fokal Nöbetler	Fokal Bilinçli Nöbetler	Bilinç korunur; kişi çevresinin farkındadır.
	Fokal Bilinç Bozukluğu Nöbetleri	Bilinç kısmen veya tamamen bozulur; kişi çevresindeki olaylara tepki veremez.
Jeneralize Nöbetler	Tonik-Klonik Nöbetler	Kaslarda sertleşme (tonik faz) ve ardından kasılmalar (klonik faz) görülür; bilinç kaybı ile birlikte gerçekleşir.
	Absans Nöbetler	Kısa süreli bilinç kaybı; genellikle çocuklarda görülür; kişi aniden dalar ve hemen uyanır.
	Miyoklonik Nöbetler	Kısa süreli kas seğirmeleri; bilinç genellikle korunur.
	Atonik Nöbetler	Ani kas tonusu kaybı; kişi düşebilir; bilinç kaybı olabilir.
Bilinmeyen Başlangıçlı Nöbetler	Belirlenemeyen Nöbetler	Nöbetin başlangıç türü belirlenemez; hem fokal hem de genel özellikler taşıyabilir.

Absans nöbetleri, davranış duraklaması ile karakterize edilen kısa süreli nöbetlerdir. (Matricardi, Verrotti, Chiarelli, Cerminara, & Curatolo, 2014). Bu nöbetler, çocukluk absans epilepsisi (CAE), ergenlik absans epilepsisi (JAE) ve ergenlik miyoklonik epilepsi (JME) gibi çok sayıda genetik jeneralize epilepsi türünde görülmektedir. Genetik jeneralize epilepsiler, tüm epilepsi vakalarının yaklaşık dörtte birini oluşturur (Unterberger ve ark., 2018).

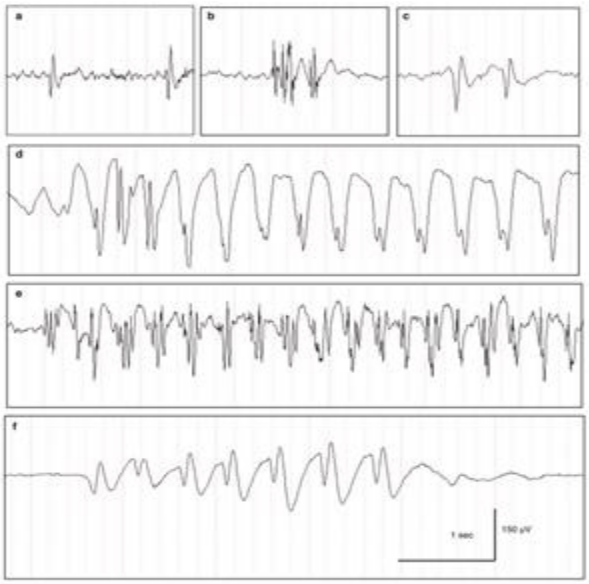
Absans nöbetler, nonkonvülsif doğaları nedeniyle genellikle "zararsız" olarak kabul edilmektedir. Ancak, absans nöbeti geçiren çocukların %60'ına kadar ulaşabilen bir oranda ciddi nöropsikiyatrik belirtiler, dikkat, biliş, hafıza ve ruh hali bozuklukları gibi sorunlar

yaşanmaktadır. Absans epilepsisi, bir çocuğun psikososyal ve akademik işlevini etkiler ve tedavi gerektirir (Albuja, Ighodaro, & Khan, 2024).

4.3.1. Normal EEG ve epilepside EEG değişiklikleri

Elektroensefalogram (EEG), beynin elektriksel aktivitesini ölçen önemli bir tanı aracıdır. Normal bir EEG kaydı, bireyin yaşına, bilinç durumuna ve çevresel etkenlere bağlı olarak değişiklik gösterir. Sağlıklı bir bireyde EEG'de çeşitli frekans bantları gözlemlenir. Alfa dalgaları (8-13 Hz), dinlenme sırasında özellikle oksipital bölgede belirginleşirken, gözler kapalı olduğunda daha baskın hale gelir ve stres veya dikkat gerektiren durumlarda azalır. Beta dalgaları (13-30 Hz), frontal bölgelerde görülür ve uyanıklık ya da yoğun mental aktivite sırasında artış gösterir. Teta dalgaları (4-8 Hz), hafif uyku ve gevşeme anlarında ortaya çıkarken, çocuklarda daha yaygındır. Delta dalgaları (0.5-4 Hz) ise derin uyku evrelerinde belirgin hale gelir ve uyanıklık durumunda görülmesi patolojik bir duruma işaret edebilir (Mari-Acevedo, Yelvington, & Tatum, 2019; Mecarelli, 2019).

Epilepsiden şüphelenilen bireylerde EEG, en değerli tanı yöntemlerinden biridir. EEG, üç ana konuda yardımcı olur: (1) hastada epilepsi olup olmadığını belirlemek, (2) nöbet tipini saptamak ve (3) özellikle bazı epilepsi türlerinde uygulanan tedavinin hastalara fayda sağlayıp sağlamadığını değerlendirmek.



Şekil 4. Epileptiform Anormalliklere Ait Ham EEG Örnekleri: (a) diken, (b) çoklu dikenler, (c) keskin dalga, (d) Diken ve Yavaş Dalga Kompleksi (DYD), (e) çoklu diken ve yavaş dalga kompleksi, (f) keskin ve yavaş dalga kompleksi, (g) tipik DYD (3 Hz), (h) atipik yavaş DYD (<3 Hz).

EEG'de epileptiform deşarjlar; diken (20-70 milisaniye süren sivri dalga), keskin dalga (20-200 milisaniye süren dalga), yavaş dalga (200 milisaniyeden uzun süren dalga) veya bunların kombinasyonlarından oluşur. Keskin dalgalar ve dikenler arasında epilepsiyle ilişkili olma açısından fark yoktur. Diken-dalga, keskin-yavaş dalga gibi kompleks aktiviteler de benzer şekilde değerlidir. Dikenler, bazen arka arkaya gelir ve üç ya da daha fazlası çoklu (multiple) diken olarak adlandırılır; eğer yavaş dalga ile birlikteyse, çoklu diken-dalga kompleksi olarak tanımlanır. Absans nöbetlerin görüldüğü epilepsi, EEG'de yaygın ve saniyede 3-4 kez yinelenen (3-4 Hz) DDD ile ilişkilidir.

4.3.2. Epilepsi ve nörogenez ilişkisi

Epilepsi ve nörogenez arasındaki ilişki oldukça karmaşık olup, hem olumlu hem de olumsuz etkileri içermektedir. Özellikle temporal lob epilepsisi gibi nöbet odaklı epilepsi türlerinde, hipokampal nörogenez üzerinde belirgin değişiklikler gözlemlenmektedir. Normal şartlarda nörogenez, hipokampusun dentat girus (DG) bölgesindeki nöral kök hücrelerden başlamakta ve bu hücreler olgun granüler hücrelere dönüşerek mevcut nöronal döngüye entegre olmaktadır. Ancak epilepsi durumunda bu süreçte çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir (Parent & Lowenstein, 2002).

Epileptik nöbetler genellikle nörogenezde bir artışa neden olur. Bu artış, nöbetlerin neden olduğu glutamat aracılı hiperaktivite ve bunun sonucu olarak artan nörotrofik faktörlerle, özellikle beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi moleküllerle ilişkilendirilmektedir (S. H. Choi, Y. Li, L. F. Parada, & S. S. Sisodia, 2009). Bununla birlikte, nörogenezdeki artış her zaman olumlu sonuçlar doğurmaz. Epilepsiye bağlı olarak yeni oluşan nöronlar bazen anormal bir yerleşim gösterebilir ve hatalı bağlantılar kurabilir. Bu durum, epileptik döngülerin pekişmesine ve nöbetlerin sıklığının artmasına yol açabilir (Jessberger & Parent, 2015).

Artan nörogenez, bağlamına ve kontrol mekanizmalarına bağlı olarak hem olumlu hem de olumsuz etkiler yaratabilir. Olumlu etkiler arasında nöroplastisite ve onarım süreçleri yer alır. Nörogenez, beyin hasarının onarılmasına katkı sağlayarak kaybolan nöral devrelerin yeniden oluşturulmasına yardımcı olabilir. Özellikle epilepsiye eşlik eden bilişsel bozukluklarda, artan nörogenez bellek ve öğrenme işlevlerini destekleyebilir (Jessberger & Parent, 2015; Yagi & Galea, 2019). Ayrıca, eksitotoksisite ve inflamasyon nedeniyle ölen hücrelerin yerine yeni nöronların gelmesi, hipokampal işlevlerin stabilize olmasına katkı sağlayabilir.

Ancak nörogenez artışının olumsuz etkileri de göz ardı edilemez. Olumsuz etkiler arasında epilepsi sırasında artan nörogenezin dentat girusta "mossy fiber sprouting" olarak bilinen anormal bağlantılar oluşturması yer alır. Bu tür bağlantılar, epileptik aktiviteyi destekleyerek nöbetlerin sıklığını ve şiddetini artırabilir (Parent & Lowenstein, 2002; Jessberger & Parent, 2015). Bunun yanı sıra, yeni oluşan nöronların olgunlaşma ve entegrasyon süreçlerinde meydana gelen aksaklıklar, hipereksitabiliteye katkıda bulunarak epileptojenik etkiler yaratabilir ve nöbet döngüsünü sürdürebilir.

Epilepsi ile nörogenez arasındaki çift yönlü ilişki konusunda kesin bir görüş birliği bulunmamaktadır. Eğer nörogenez doğru bir şekilde düzenlenebilirse, nörolojik onarım süreçlerini destekleyerek bilişsel iyileşmeye katkıda bulunabilir. Ancak kontrolsüz veya anormal bir nörogenez süreci, epilepsi patofizyolojisine katkıda bulunarak nöbetlerin daha da kötüleşmesine yol açabilir (Lybrand ve ark., 2021). Bu nedenle, epilepsi tedavisinde nörogenez düzenleyici stratejilerin, özellikle nörotrofik faktör modülasyonu ve inflamasyon kontrolü gibi yaklaşımların dikkatlice incelenmesi ve detaylı araştırmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

4.3.3. Deneysel epilepsi modelleri

In vivo hayvan modelleri, insan hastalıkları üzerine yapılan temel araştırmalar, preklinik çalışmalar ve yeni ilaçların geliştirilmesi için gereklidir (Caldarone, Zachariou, & King, 2015; Dawson, Ko, & Dawson, 2010; Keeler & Robbins, 2011; van der Staay, Arndt, & Nordquist, 2009). Nöropsikiyatrik bozukluklar ve epilepsiye yönelik iki ana hayvan modeli türü vardır. Birincisi, patolojik bir durumun mekanik, kimyasal veya elektriksel yollarla (örneğin, kindling veya farmakolojik epilepsi modelleri) indüklendiği uyarılmış deneysel modeler, ikincisi patolojik süreçlerin genetik olarak önceden belirlendiği doğal genetik modellerdir. Her iki model de davranışsal ve bilişsel komorbiditeler sergiler.

1980'lerde iki genetik absans epilepsi sıçan modeli tanımlanmıştır: Strasburg Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar (GAERS) ve Wistar Albino Glaxo/Rijswijk (WAG/Rij) sıçanları (Caldarone ve ark., 2015; Vergnes ve ark., 1982). Bu sıçanlar, genetik jeneralize epilepsinin ideal modelleri olarak kabul edilmektedir, çünkü nöbet profili, elektrofizyolojik özellikleri ve farmakolojik tedavilere yanıtları insanlardaki absans epilepsisini iyi yansıtır (Coenen & Van Luijtelaar, 2003; C Marescaux & Vergnes, 1995).

Bu modellerde, EEG'de görülen DDD ile eş zamanlı olarak, hayvanlarda donakalma davranışı, yüz seğirmeleri, bıyık titremesi, hızlı nefes alıp verme ve göz seğirmesi ile karakterize nöbetler gözlenmektedir. İnsanlarda olduğu gibi, deşarjların sona ermesiyle birlikte hayvanlar, hareketlerine kesintiye uğradıkları noktadan devam ederler. Nöbetler genellikle hayvanlar sakin bir haldeyken ortaya çıkar; ancak, güçlü uyaranlar, hareket ve dikkat gerektiren davranışlar sırasında veya hayvan ajite olduğunda genellikle izlenmez (G. van Luijtelaar ve ark. 2006).

Tüm yetişkin GAERS'lerin kortikal EEG'lerinde frekansı 7-11 Hz, voltajı 300-1000 μV arası değişen ve temel aktivitenin 3-10 katı kadar, ortalama süresi 17±10 saniye olan DDD'den oluşan bir aktivite izlenir (C. Marescaux, Vergnes, & Depaulis, 1992). DDD, GAERS'lerde WAG/Rij'lara göre süre ve sayı bakımından daha fazladır (Onat ve ark. 2022).

4.4. Bağırsak-Beyin İlişkisi

Bağırsak yapısının ve florasının beyin fonksiyonunun düzenlenmesindeki önemi, son zamanlarda büyük ilgi görmüştür (Yue, Cai, Xiao, Zhan, & Zeng, 2022). Aslında, bu karşılıklı iletişime aracılık eden mekanizmalar büyük ölçüde bilinmemekle birlikte, bir mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseni tanımlanmıştır (Mayer, Nance, & Chen, 2022). Bu nedenle, bu simbiyotik mikrobiyota-konak ilişkisindeki bozukluklar, beyin de dahil olmak üzere farklı organlarda patolojik bozukluklara yol açabilmektedir ki, bağırsak disbiyozunun psikiyatrik bozukluklar, depresyon ve anksiyete, otizm ve nörodejeneratif hastalıklar gibi nörolojik bozukluklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Duncan, Sander, Sisodiya, & Walker, 2006). Möhle ve ark. antibiyotikle tedavi edilen farelerde, mikrobiyotanın etkilenmesi nedeniyle, davranış kusurlarının oluştuğunu ve nörogenezde uzun süreli bir bozulma olduğunu bildirmiştir. Bu değişikliklerin, egzersiz (koşu) ve probiyotik uygulamasıyla kısmen geri dönüşlü olabileceği de belirtmektedir (Möhle ve ark., 2016).

Mikrobiyoloji ve sinirbilimin kesiştiği noktada yapılan çalışmalarda, bağırsak bakterilerinin, 'bağırsak-beyin ekseni' boyunca dinamik ve çift yönlü bir iletişim yoluyla bağışıklığı, metabolik aktiviteyi ve sinir sistemi gelişimini ve işlevini düzenlemek için konakçılarıyla işbirliği yapabildiği belirlenmiştir (Morais, Schreiber, & Mazmanian, 2021). Bu karmaşık immünolojik, nöronal ve kimyasal etkileşim dilini anlamak, sağlığı ve nörolojik hastalıkları nasıl tanımlayacağımız üzerine çok önemli etki potansiyeline sahiptir. Tarihsel olarak, nörolojik hastalıkların yalnızca beyin süreçlerindeki kusurlardan kaynaklandığı

öngörülmüştür. Ancak bu beyin merkezli bakış açısı, sinir sisteminin gelişiminin ve işlevinin, vücudun metabolik ve bağışıklık durumundan etkilendiği gerçeğini göz ardı eder (Cryan ve ark., 2019). Yeni nesil araştırmalar, mikroorganizmaların bağırsakta nihai olarak sinir sistemini etkileyen birçok metabolik, immünolojik ve nörokimyasal faktörü üretme ve değiştirme yetenekleri aracılığıyla beyni etkilediğini kabul etmektedir. Örneğin, sinir siteminde miyelin sentezinde, rejenerasyonda, nöbet oluşumunda, bilişsel fonksiyonların devamlılığında ve ayrıca gastrointestinal mukoza bütünlüğünde önemli rolleri bulunan B12 vitaminini oluşturmak için anahtar enzimler, bağırsak bakterilerinde bulunur (Calderón-Ospina & Nava-Mesa, 2020; Erny ve ark., 2015; Lyte, 2014). Birçok çalışma, çeşitli nörodejeneratif hastalıklara sahip kişilerin sağlıklı bireylerden farklı bağırsak mikrobiyotasına sahip olduğunu göstermiştir (Sampson ve ark., 2016).

Çalışmamızda, Bacteroidetes, Proteobacteria ve Actinobacteria filumları üzerine odaklanılmıştır. Bacteroidetes, bağırsak mikrobiyotasının önemli bir bileşenidir ve polisakkarit metabolizması, kısa zincirli yağ asidi (SCFA) üretimi ve konakçı enerji dengesine katkıda bulunur. Bu filumda yer alan bakteriler, özellikle lif ve kompleks karbonhidratları parçalayan enzimlere sahiptir, bu nedenle beslenme ile doğrudan ilişkilidir. Düşük Bacteroidetes seviyeleri, obezite ve metabolik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Hou ve ark., 2022; Rinninella ve ark., 2019). Proteobacteria, bağırsak mikrobiyotasının minör fakat önemli bir bileşenidir. Genellikle bağırsak disbiyozisi (dengesiz mikrobiyota) durumlarında artış gösterir ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları, irritabl bağırsak sendromu ve kolit gibi durumlarla bağlantılıdır. Bu grup, Escherichia, Salmonella, Helicobacter ve Pseudomonas gibi patojenik türleri de içerdiğinden, bağırsak sağlığının belirleyicisi olarak incelenmektedir (Bradley & Pollard, 2017). Actinobacteria, bağırsak florasının probiyotik etkili bakteri gruplarından biridir. Özellikle Bifidobacterium türleri, bağırsak bariyer fonksiyonlarını destekler ve anti-inflamatuar etkileri nedeniyle bağırsak sağlığı için kritik öneme sahiptir. Bu bakteriler, mukus tabakasını güçlendirerek patojen bakterilere karşı koruyucu bir bariyer oluşturur. Düşük Actinobacteria seviyeleri, bağırsak geçirgenliğinin artmasına ve kronik inflamasyona neden olabilir (T.-T. Huang ve ark., 2019).

4.4.1. Diyet kısıtlaması, epilepsi ve nörogenez ilişkisi

Birçok tedavi seçeneği olmasına rağmen, epileptogenez sürecinin tam olarak anlaşılamamasından dolayı, nöbetlerin kontrolü ve tedavisi istendiği gibi yapılamamaktadır. Tipik absans epilepsi, çocukluk çağında görülmeye başlayan ve absans nöbetlere eşlik eden

DDD sergilemektedir (Karson, Onat, Balcı, & Ateş, 2008). Yapılan çalışmalarda absans epilepsili vakalarda dikkat bozukluğu, anksiyete, hiperaktivite gibi bozuklukların görülme sıklığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Plioplys, Dunn, & Caplan, 2007). Bu bireyler görsel uzaysal yetenek testlerinde de daha düşük bir performans sergilemektedirler (Nolan ve ark., 2004). Bu durumlar dikkate alınarak, çalışmamızda öğrenme, hafıza ve lokomotor aktivite yeteneklerinin belirlenmesi için hayvanlara, pasif sakınma (passive avoidance) ve açık alan (open-field) testleri uygulanmıştır.

Epilepside anormal olarak gerçekleşen nöron uyarılabilirliğinin, karbonhidrat metabolizması ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Rubio, Luna, Rosiles, & Rubio-Osornio, 2020). Dolayısıyla kalori kısıtlaması ya da ketojenik beslenme gibi diyet terapilerinin, nöbetler üzerindeki olumlu etkileri, alternatif tedaviler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Dorsal hipokampusa kainat enjeksiyonu uygulanarak oluşturulmuş beyin hasarı hayvan modelinde, birkaç ay boyunca AA'ya maruz kalan sıçanların, daha az nöronal hipokampal hasar sergilediği gösterilmiştir ve nöbetle uyarıldıktan sonra, *ad libitum* ile beslenen nöbet geçiren sıçanlara kıyasla, Morris su tankında daha iyi performans gösterdiği bildirilmiştir (Bruce-Keller, Umberger, McFall, & Mattson, 1999). Epileptik sıçanlarda, 7-10 hafta ve 6 ay olarak uygulanan AA için benzer sonuçlar bulunmuştur (Youssef, Ramchandani, Manswell, & McRae, 2008). Antiepileptik tedaviye yanıt vermeyen epilepsili çocuklarda, iki aylık periyodik açlık rejiminin, altı çocuktan dördünde nöbet kontrolünü iyileştirdiği gösterilmiştir (Hartman, Rubenstein, & Kossoff, 2013). Magdy ve arkadaşlarının Ramazan orucu tutan 321 epilepsi hastası ile gerçekleştirdiği çalışmada, Ramazan ayında fokal nöbeti olan 224 hastanın 86'sında, miyoklonik nöbeti olan 38 hastanın 17'sinde ve absans nöbeti olan 10 hastanın 6'sında nöbet sıklığında %50 azalma olduğunu göstermişlerdir (Magdy ve ark., 2022).

Etkileyici bir şekilde, yetişkin hipokampal nörogenezini etkilediği bilinen faktörlerin birçoğu, bağırsak mikrobiyomunun bileşimini veya işlevini etkilemek için paralel etki göstermektedir (Sarubbo, Cavallucci, & Pani, 2022). Bağırsak yapı ve organizasyonunun, mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseni yoluyla, yetişkin hipokampal nörogenezi de dâhil olmak üzere, beyindeki birçok hücresel süreci ve biyolojik işlevleri manipüle ettiği gösterilmiştir (Cryan ve ark., 2019). Stres, antidepresan kullanımı, egzersiz, ortam değişkenleri, yaş, antibiyotik kullanımı ve diyet gibi faktörler hem nörogenezi hem de bağırsak mikrobiyotasını etkileyen ortak faktörlerdendir. Bu veriler, AA gibi bağırsak florasını manipüle edecek yöntemlerin nörodejeneratif hastalıklarda da etkili olabileceğini göstermektedir.

Hipokampus, olfaktör korteksin bir parçası olarak gelişmiştir. En ilkel hayvanlarda hangi yiyeceklerin yenmesi gerektiğini, hangi nesnelerin kokuları nedeniyle tehlikeli olabileceğini, cinsel çekici kokuyu ve birçok hayati kararı belirlemede önemli bir rol oynar (Mineur ve ark., 2013). Bu nedenle hipokampusun yeme dürtüsü ve yönelimleri ilgisi bulunmaktadır.

4.5. Davranış Deneyleri

Merkezi sinir sistemi, memelilerde bilgi depolama ve işleme yeteneğine sahiptir. İnsanlarda öğrenme ve bellek üzerine yapılan araştırmalar bilindiği gibi etik kurallar nedeniyle sınırlıdır. Bu nedenle, etkili tedavi stratejilerini bulmak amacıyla kemirgelerde öğrenme ve bellek durumlarını değerlendiren farklı deneysel testler tasarlanmıştır. Kemirgenlerin bilişsel ve lokomotor yeteneklerini değerlendirmek için bugüne kadar birçok hayvan davranışı deneysel modeli tanımlanmıştır. Bu modellerle, sıçanlarda anksiyete, otonom fonksiyonlar, öğrenme, bellek ve lokomotor aktivite gibi birçok özellik değerlendirilir. Şu ana kadar tüm bilişsel yetenek kriterlerini aynı anda karşılayan bir davranış test modeli bulunmamaktadır ve çoğu model %100 doğrulukla sonuçlar sağlayamaz (Dalkiran, Açıkgöz, & Dayı, 2022). Ancak amaca yönelik seçilen ve birbirini destleyecek ve/veya doğrulayacak test kombinasyonları ile yalancı sonuçların bertaraf edildiği veriler bu alana çok kıymetli katkılar sağlayacaktır (Bourin & Hascoët, 2003).

Nörogelişimsel, nöropsikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklar dâhil olmak üzere beyin bozukluklarının kemirgen modelleri, altta yatan patolojiyi daha iyi anlamamız ve potansiyel tedavilerin preklinik testleri için gereklidir ve bu çalışmaların önemli bir parçası davranış deneyleridir (Saré, Lemons, & Smith, 2021). AA uygulamasının Alzheimer hastalığının bir fare modelinin davranışsal eksikliklerini iyileştirdiği gösterilmiştir (Halagappa ve ark., 2007). Diyet türü, yiyecek miktarı ve uygulama zamanlaması, bir hayvanın davranışını belirlemede kritik faktörlerdendir. Diyetteki küçük değişikliklerin de bilişsel gelişimlere yol açabileceğini ve bazı hastalık modellerinde terapötik etkilerinin olabileceğini düşünmek de heyecan vericidir (Saré ve ark., 2021). Yetişkinde nörogenezin devam ettiği bölge olan hipokampus, yeni bilgilerin depolanmasında çok önemlidir. Çünkü hipokampus, limbik ödül ve ceza sisteminin en önemli yollarından biridir. Limbik ödül merkezi, zevk, mutluluk ve ödül duygusuyla uyarılır. Limbik ceza merkezi ise acı ve rahatsızlık yaratan uyarıcılara ve düşüncelere tepki gösterir. Özellikle hipokampus, talamus medial dorsal çekirdek ile birlikte, düşüncelerin ödül ve ceza temelinde hangilerinin hafızada tutulmaya yeterli derecede önemli olduğuna karar vermede etkilidir (Pittenger & Kandel, 2003).

Çalışmamızda deney gruplarının öğrenme, hafıza ve lokomotor aktivite farklılıklarını belirlemek amacıyla aşağıda açıklanan davranış testleri uygulanmıştır.

4.5.1. Açık alan lokomotor aktivite testi

Duyusal motor bir test olan açık alan testi , bilinmeyen bir ortamda keşif isteğiyle motive edilen genel motor aktiviteyi ve keşfetme alışkanlıklarını kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirmek için kullanılır (Jänicke & Coper, 1996). Test, deneğin kaçmasını önlemek için yeterli yükseklikte duvarla çevrili bir alandan oluşur ve farklı motor aktivite türlerini içeren birçok parametre (katedilen mesafe, belirlenen bölgelerde geçirilen zaman, hareket hızı, dışkılama gibi) değerlendirilebilir.

4.5.2. Pasif kaçınma testi

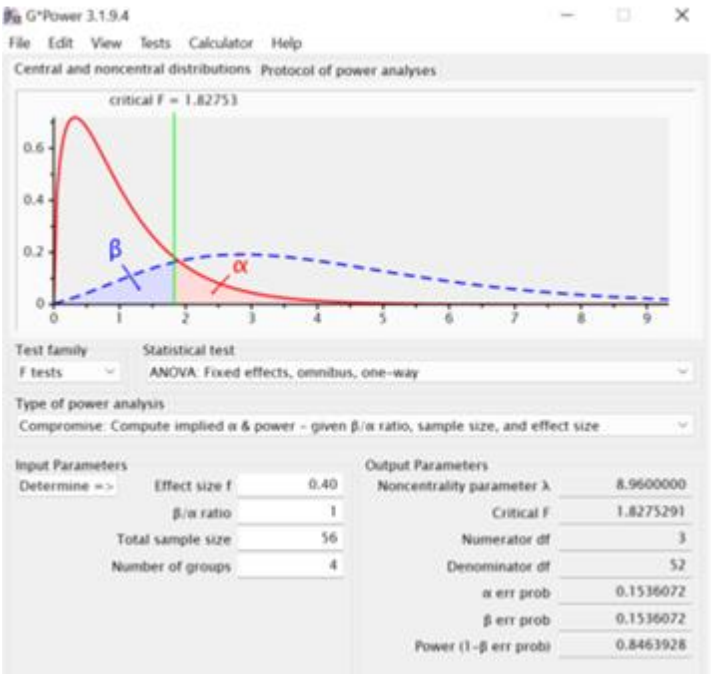
Merkezi sinir sistemi bozukluklarının kemirgen modellerinde stres yanıtı, öğrenme ve hafızayı değerlendirmek için kullanılan, bir testtir. Bu testte denekler, daha önce caydırıcı bir uyaranın (ayak şoku gibi) verildiği bir ortamdan kaçınmayı öğrenirler (Maniscalco & Rinaman, 2018). Uygulanan bu test davranış deneyi çalışmalarında hafızayı ve öğrenme yeteneğini değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir testtir ki beynin hipokampus bölgesi bu yeteneklerle doğrudan ilişkilidir. Pasif kaçınma testi ile incelenecek olan koşullu kaçınma tepkileri, hem bilinçli hem de bilinçaltı bileşenleri içeren öğrenme ve hafıza süreçlerine dayanır. Duygusal tepkilerin öğrenilmesi ve ifade edilmesi sırasında vücuttan beyne duyusal geri bildirim, motive edilmiş davranışın bilinçaltı modülasyonunda önemli bir rol oynar Bu çalışmanın sonuçları, ghrelin sinyalinin, açlığın öğrenilmiş pasif kaçınma davranışı üzerindeki engelleyici etkisine katkıda bulunduğunu belirtmektedir (Maniscalco & Rinaman, 2018).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Deney Grupları

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol No: 47.2022MAR). Planlanan çalışmada ikiden fazla grup için Fixed effects, omnibus One Way ANOVA testi baz alınarak Cohen'in d=0.4 etki büyüklüğü ile hesaplanan güç, %84 olarak bulundu (Şekil 4). Buna göre, her gruptaki hayvan sayısı n=7 olarak belirlendi.

1- WK-D: Normal şekilde (*ad libitum*) beslenen non-epileptik Wistar dişi sıçanlar
2- WK-E: Normal şekilde (*ad libitum*) beslenen non-epileptik Wistar erkek sıçanlar
3- WAA-D: Gün aşırı beslenen (24 saat aç / 24 saat tok) non-epileptik Wistar dişi sıçanlar
4- WAA-E: Gün aşırı beslenen (24 saat aç / 24 saat tok) non-epileptik Wistar erkek sıçanlar
5- GK-D: Normal şekilde (*ad libitum*) beslenen epileptik GAERS dişi sıçanlar
6- GK-E: Normal şekilde (*ad libitum*) beslenen epileptik GAERS erkek sıçanlar
7- GAA-D: Gün aşırı beslenen (24 saat aç / 24 saat tok) epileptik GAERS dişi sıçanlar
8- GAA-E: Gün aşırı beslenen (24 saat aç / 24 saat tok) epileptik GAERS erkek sıçanlar

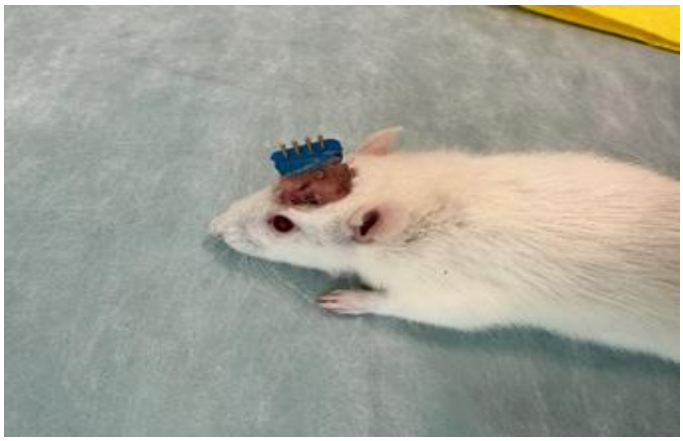


Şekil 5. Power analiz sonucu.

5.2. Epileptik Hayvanların EEG Kayıtlarının Alınması

5.2.1. Stereotaksik cerrahi işlemi

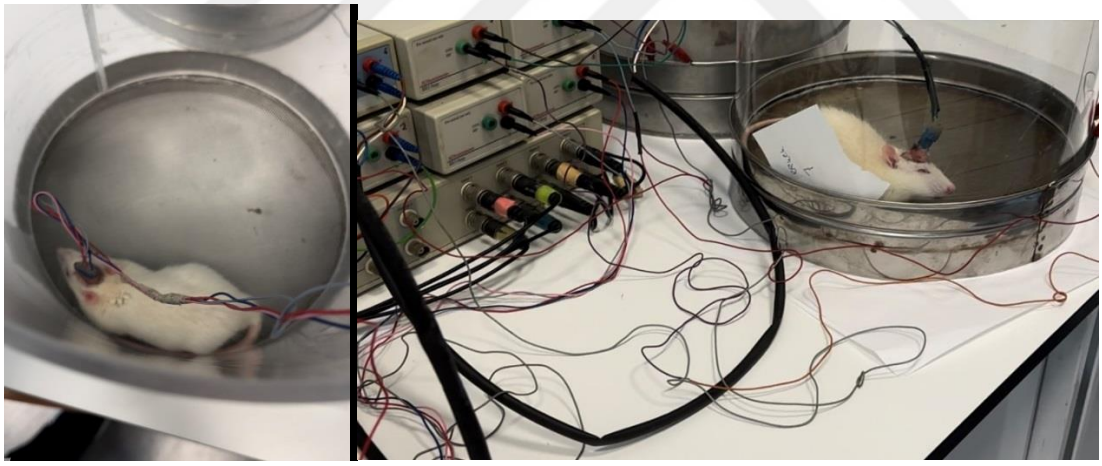
Stereotaksik cerrahi işlemi, deney başlamadan bir hafta önce yapıldı. İşlem, intraperitoneal (i.p.) 100 mg/kg ketamin (Alfamine; Alfasan Int.) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne; Alfasan Int.) anestezisi altında gerçekleştirildi. Anestezinin derinliği kornea ve pençe refleksleri ile kontrol edildikten sonra, hayvanlar, stereotaksi aletine (Stoelting, Model 51600, Wood-Dale; A.B.D.) yerleştirildi. Kafa üzerindeki tüyler kesildikten sonra kafa derisi antiseptik solüsyonla temizlenip longitüdinal olarak insizyon açıldı. Periost kaldırılarak kafatası ortaya çıkarıldı. Bregma noktası referans alınarak sıçan beyin atlasından (Paxinos, 1982) belirlenen koordinatlara göre frontal (AP:2, ML:±3,5) ve parietal (AP:-6, ML:±4) kemiklere 1 mm çapında delikler açıldıktan sonra kayıt elektrotu olarak kullanılan vida elektrotlar takıldı. Vida elektrotlar mikrokonnektöre lehimlendi. Tüm lehim işlemleri, elektrotların kafatasına implante edilmesinden önce yapıldı. Bu şekilde hayvanlar herhangi bir ısıya maruz kalmadı. Hayvanların kafataslarında açılacak delikler, oldukça yüzeyel olup bizim çalışmayı amaçladığımız hipokampus bölgesine herhangi bir zarar vermemiştir. Hayvanın kafasına yerleştirilen mikrokonnektörler, soğuk dental akrilik ile kafatasına sabitlendi. EEG kaydında kullanılacak mikrokonnektörler el yapımı olarak tasarlandı. Mikrokonnektörler, dört dişten oluşan aparata dışı yalıtkan plastik kaplı çoklu iletken telden oluşan kabloların lehim ile implante edilmesinden oluşmaktadır (Şekil 6) (Akin ve ark., 2011). Cerrahi sonrası sıvı kayıpları için subkutan 2 ml %0,9'luk serum fizyolojik verildi ve ardından hayvanlar ayrı ayrı kafeslere yerleştirilerek hayvan takip odasında barınmaları sağlandı.



Şekil 6. Stereotaksik cerrahi sonrası, mikrokonnektör yerleştirilmiş hayvan.

5.2.2. EEG kayıtlarının alınması

Stereotaksik cerrahi işlemi sonrası, hayvanlar bir hafta dinlendirildi. Daha sonra AA deneyine başlamadan önce ve 30 günlük AA uygulaması sonrasında, toplamda 2 kez, sabah 9.00-12.00 saatleri arasında üç saatlik EEG kaydı alındı (Şekil 7). 30 cm'lik pleksiglas silindir kafeslere alınan hayvanlar EEG kabloları aracılığıyla EEG sistemine (PowerLab/8SP, ADInstruments, Oxford, Birleşik Krallık) bağlanıp, Labchart v7 (ADInstruments, Oxford, Birleşik Krallık) programı aracılığıyla kayıtlar bilgisayar ortamında alındı. AA deneyine başlamadan önce ve 30 günlük AA uygulaması sonrasında, toplamda 2 kez, sabah 9.00-12.00 saatleri arasında üç saatlik EEG kaydı alındı. 30 cm'lik pleksiglas silindir kafeslere alınan hayvanlar EEG kabloları aracılığıyla EEG sistemine (PowerLab/8SP, ADInstruments, Oxford, Birleşik Krallık) bağlandı. Kortikal elektriksel aktivite, 1–40 Hz'de filtre edilerek ve BioAmp ML 136 amplifikatörü kullanılarak güçlendirildi. Veriler, Chart v.7 programını çalıştıran bir PowerLab 8S Sistemi ile kaydedildi. Üç saat boyunca korteksten, bir önceki bölümde belirtilen koordinatlara göre (frontal (AP:2, ML:±3,5) ve parietal (AP:-6, ML:±4)) sağ ve sol olmak üzere çift kanal olarak bilateral frontoparietal EEG kayıtları alındı (Şekil 7) (Akin ve ark., 2011).



Şekil 7. EEG kayıt düzeneği

5.2.3. EEG analizi

GAERS grubunda, absans epilepsisinde görülen yavaş diken-dalga deşarjlarının (DDD) toplam süresi, toplam sayısı ve nöbet süresinin ortalaması olarak analiz edildi. DDD'ler, birçok epilepsi tipinde ve özellikle tipik absans nöbetlerinde düzenli, simetrik, genelleştirilmiş ve geçici elektroensefalografik paternlerdir. İnsan absans epilepsi nöbetinde, DDD'ler tipik olarak yaklaşık 3 Hz'lik yavaş bir frekansta tekrarlarken, genetik absans epilepsili sıçan suşlarında daha hızlı ortaya çıkarlar (7—11 Hz) (Akman, Karson, Aker, Ates, & Onat, 2010;

Danober, Deransart, Depaulis, Vergnes, & Marescaux, 1998). DDD aktivitesinin belirlenmesi, Onat ve arkadaşlarının 2007 yılında bildirildiği gibi yapıldı (Onat, Aker, Gurbanova, Ateş, & van Luijtelaar, 2007). Buna göre, DDD kompleksi, en az 1 s süreli keskin ani yükselmeler ve yavaş dalgalar (7.5-9 Hz) dizisi ve EEG arka plan aktivitesinin en az iki katı genlik ile tanımlanmıştır (Akin ve ark., 2011).

5.3. Davranış Deneyleri

Tüm davranış deneyleri her grup için n=7 hayvan üzerinde gerçekleştirildi.

5.3.1. Pasif kaçınma testi

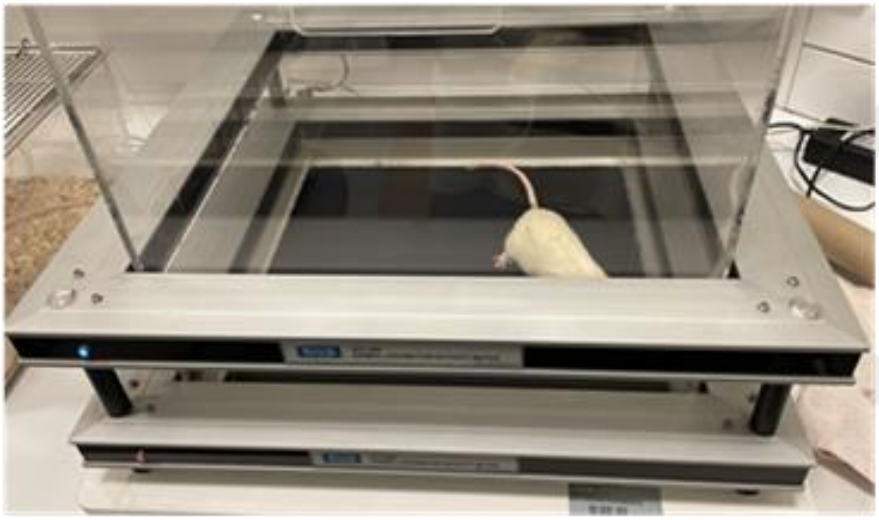
Çalışmamızda 30 gün boyunca uygulanan AA modelinin hayvanların stres, öğrenme ve hafıza gibi bilişsel yetenekleri üzerindeki etkileri, literatürde de kullanılan pasif kaçınma yöntemi ile test edildi. Test, deney başlangıcında ve bitiminde gerçekleştirildi. Sıçanlar aydınlık/karanlık şeklinde iki yerleşik bölmeli (her bir bölme 20 cm x 20 cm x20 cm) pasif kaçınma aparatının aydınlık bölmesine yerleştirildi (Şekil 8). Bu düzenekte sıçanların içgüdüsel olarak aydınlık bölgeden elektrik sistemli zemin ile donatılmış olan karanlık bölmeye geçmeleri beklendi. Sıçan, karanlık bölgeye geçtikten sonra, aydınlık ve karanlık bölmeyi birbirinden ayıran giyotin kapı kapandı ve sıçana 5 saniye boyunca ayağından elektrik (0,3 – 0,6 mA) verildi. Pasif kaçınma cevabı test edilmek üzere, sıçanlar 24 saat içinde tekrar aydınlık bölmeye yerleştirildi. 300 saniyenin üzerinde bir gecikme ile karanlık odaya girmekten kaçınan sıçanların normal öğrenme ve hafıza performansına sahip olduğu, karanlık odaya girmek için daha kısa bir gecikme süresi ise hafıza disfonksiyonu olarak kabul edildi (Elrod & Buccafusco, 1988).



Şekil 8. Pasif kaçınma deney düzeneği

5.3.2. Açık alan lokomotor aktivite testi

Hayvanların lokomotor performans düzeylerini test etmek amacıyla açık alan testi uygulandı. Sıçanlar, kafes ortamlarından belirgin bir şekilde daha büyük, aydınlatılmış bir kutuya yerleştirildi (Şekil 9). Hayvanların 5 dakikalık sürede, alan içerisindeki hareketleri bilgisayar programı yardımı ile kaydedilip değerlendirildi. **Dolaşma mesafesi**, sıçan tarafından test süresince kat edilen toplam mesafe olarak tanımlandı.Herbir hayvanın testi başlamadan önce alan, %70 etil alkol ile sterilize edildi. Sterilizasyon işleminden sonra diğer deneye geçmeden önce, alkolün muhtemel etkilerini bertaraf edebilmek adına 5 dakika beklendi.



Şekil 9. Açık alan test düzeneği.

5.4. Doku Örneklerinin Toplanması

Deney protokolü sonunda sıçanlar, ketamin (100 mg/kg/ip) + ksilazin (10 mg/kg/ip) kokteyl anestezisi sonrası derin anestezideyken kardiyak ponksiyon yoluyla alınan kan numuneleri ile öldürüldü. Kan numuneleri +4°C'de 3,000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Kafa gövdeden ayrıldı ve beyin dokusu nazikçe çıkarılıp 0 derecede soğutulmuş tabla üzerine alınarak metrik üzerinde doku örneklemesi gerçekleştirildi. Hipokampus western blot analizleri için sıvı nitrojene daldırılıp hemen -80ºC'ye kaldırılırken, histopatolojik analizler için %10'luk tamponlu formaldehit içerisine alınarak fiksasyon yapıldı. Beyin dokusunun kalan kısımları ve kolon dokusu her parametre için hep aynı bölge olacak şekilde malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD**),** katalaz (KAT), düzeyleri ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü için pasajlanarak -80°C'de saklandı. Kolon dokusunun aynı

bölgelerinden alınan örnekler, histopatolojik değerlendirmeler için %10'luk tamponlu formaldehit içerisine alındı.

5.5. Işık Mikroskopik Preparasyon ve Histopatolojik Değerlendirmeler

Dekapite edilen tüm gruplardaki hayvanlardan kolon dokuları ışık mikroskopik incelemeler için nötral tamponla hazırlanmış %10'luk formalin içine alınıp en az 72 saat immersiyon metodu ile fikse edildi. Fikse edilen doku örnekleri, yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi, ksilende şeffaflandırmanın ardından bir gece boyunca 60°C'lik etüvde parafin içerisinde bekletildi. Ardından bloklanan bağırsak dokulardan alınan ortalama 4 µm kalınlığındaki kesitler, morfolojik değerlendirme ve histopatolojik semikantitatif analizlerde kullanılmak üzere hematoksilen ve eozin (H-E), goblet hücre dağılımının belirlenmesi ve mukus tabakasının incelenebilmesi için ise Periodic Acid-Schiff (PAS) boyaları ile boyandı. Boyanan kesitler, kamera ataçmanlı (DP72) Olympus BX51 mikroskobu (Tokyo, Japonya) ile görüntülenip, fotoğraflandı. Kolon dokularında literatüre uygun olarak nekroz, submukozal ödem, vaskülit ve inflamatuar hücre filtrasyonu parametreleri açısından semikantitatif olarak skorlandı (Pamukcu, Kumral, Ercan, Yegen, & Ertem, 2013). Her bir örnek için birbirinin benzeri en az beş farklı alan incelendi ve goblet hücre sayımı yapıldı. Elde edilen veriler, ortalama goblet hücre sayısı olarak hesaplandı (Ma, Yeom, & Lim, 2020).

5.6. İmmünohistokimyasal İşaretlemeler

Deney gruplarından alınan beyin dokuları, DCX ve KB immünohistokimyası, kolon dokuları okludin immünohistokimyası için %10'luk nötral tamponlu formalin içerisinde 72 saat fikse edildi. İşaretlenen antikorların ne amaçla kullanıldığı aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo 2).

4 µm kalınlığında alınan parafin kesitler, 1 gece boyunca 37°C'lik etüvde bekletildikten sonra deparafinize etmek amacıyla ksilende 3x5 dakika tutulup, %96'lık alkolde 2 kere 10 dakika bekletildikten sonra endojen enzim blokajı yapmak için metanol ile hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletildi. Önce musluk suyu sonra distile suda yıkama işleminden sonra antijen geri kazanımı için ısıtılmış sitrat tamponda (pH 6,0-60°C'de) 20 dakika 200 W mikrodalgaya maruz bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakılan kesitler, PBS ile 2x5 dakika yıkandıktan sonra bloklama solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Beyin kesitleri, gece boyunca DCX ve KB ile kolon dokuları okludin ile inkübe edilirken kolon dokuları ise okludin antikoru ile inkübe edildi. Primer antikorlara işaretlenmenin

ardından beyin ve kolon örnekleri biyotinlenmiş sekonder antikorlar ve streptavidin-peroksidaz konjugatları (HistostainPlus Kit, Invitrogen, CA, USA) ile inkübasyona bırakıldı. PBS içinde yıkanan kesitler, sıvı diaminobenzidin (DAB) (Histostain Plus Kiti, Invitrogen, CA, ABD) ile ortaya çıkarılıp hematoksilen ile zıt boyama yapıldı (Babayev ve ark., 2021). İmmünohistokimyasal boyama yoğunluğu, kamera ataçmanlı (DP72) Olympus BX51 mikroskobu (Tokyo, Japonya) kullanılarak 20x büyütmede elde edilen dijital görüntülerle analiz edildi. Beyin kesitlerinde hipokampusta DG, kolon kesitlerinde ise mukozal alanlar değerlendirme kapsamına alındı. Her numunede rastgele seçilen 5 farklı bölgede immün boyama yoğunluğu ImageJ (NIH, v1.49) yazılımı kullanılarak ölçüldü. Analiz öncesinde tüm görüntüler ImageJ yazılımında 8-bit gri tonlamalı formata dönüştürüldü. Hipokampusta DG ve kolon mukozasında analiz edilecek alanlar otomatik olarak belirlendi. İmmünohistokimyasal boyama alanlarının tanımlanabilmesi için "Threshold" (Eşikleme) aracı kullanıldı ve ölçüme uygun hale getirildi. Daha sonra, belirlenen alanların ortalama piksel yoğunluğu otomatik olarak hesaplandı. Arka plan düzeltmesi için negatif kontrol kesitlerinden elde edilen görüntüler kullanılarak ortalama arka plan yoğunluğu belirlendi. Boyama tutarlılığını sağlamak amacıyla, her görüntü için aynı eşik değeri kullanıldı (J. Yuan & Munson, 2017).

Tablo 2. Antikorların kullanım amaçları.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL AJAN	KULLANIM AMACI
Doublecortin (DCX)	Nöroprogenitör hücre ve olgunlaşmamış nöron farklılaşmasının belirlenmesi
Kalbindin (KB)	Olgunlaşmamış ve olgun/yetişkin nöron farklılaşmasının belirlenmesi
Okludin	Kolon dokusu epitelyal sıkı bağlantıların durumunun belirlenmesi

5.7. Doku Protein Düzeylerinin Western Blot Yöntemi ile İncelenmesi

Deney süreci sonrası toplanan hipokampus ve bağırsak dokularının bir kısmı sıvı nitrojenle hemen dondurularak -80°C'de saklandı ve Western blot analizlerinde kullanıldı.

Protein ekspresyonunun kontrol edilmesi amacı ile -80°C'den çıkartılan dokularda protein izolasyonu gerçekleştirildi. Yaklaşık 15 mg beyin dokusu 100 µl lizis tamponu (RIPA Buffer 10X, Cell Signalling) içerisinde ultraturrax homojenizatörü kullanılarak homojenize edilip, devamında üretici firmanın önerdiği protokole göre lizis işlemi yapıldı.

Protein miktarı Lowry kiti (Bio-rad) ile analiz edildi. 25 µg protein örneği denatürasyonun ardından akrilamid jele yüklenerek SDS-PAGE elektroforez yapılacak ve blotlama işleminin

ardından DCX ve KB primer antikorları ile üretici firmanın belirttiği dilüsyonlarda muamele edildi. Sonrasında sekonder antikor bağlandı ve kemiluminisans tamponu ile bant görüntüleri elde edildi. Elde edilen sonuçlar, pozitif kontrol olarak kullanılan GAPDH bantları ile karşılaştırıldı ve hesaplanan optik yoğunluklara göre kantitatif sonuçlar verildi (Karademir ve ark., 2018).

5.8. Oksidatif Stres ve Antioksidan Parametrelerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

5.8.1. Malondialdehit (MDA) tayini

Beyin ve kolon dokularında lipit peroksidasyonunun belirteci olan son ürün MDA tayini, Beuge yöntemine göre yapıldı (Buege & Aust, 1978). MDA tayininde GSH tayini için hazırlanan %10'luk homojenatlar, 1 ml %0,375 tiyobarbitürik asit (TBA) ile karıştırılıp 15 dakika kaynar su banyosuna bırakıldı. Tüpler oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 10 dakika 3000 devir/dakikada santrifüj edildi. Üst faz alınarak oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede okundu.

5.8.2. Myeloperoksidaz (MPO) tayini

Dokuda MPO tayini, Hillegass yöntemi ile yapıldı (Hillegass, Griswold, Brickson, & Albrightson-Winslow, 1990). Dekapitasyondan hemen sonra çıkarılan dokular kan ve çevre artıklarından temizlenmesi için serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kâğıdı ile kurutulup tartıldı. Beyin ve kolon dokusu, 50 mM K_2HPO_4 (pH:6) ile homojenize edilip, % 10'luk homojenat hazırlanıp, 3 mL %10'luk doku homojenatı 41400 g de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz atılıp, çökeltiye 3 mL %0,5'lik hekzadesiltrimetil-amonyum bromid (HETAB) eklenerek homojenizasyonu yapılıp 3 kez dondurulup – çözündürülüp – sonike edildi. 41400 g de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilip, 0,3 mL üst faz ile çalışıldı. Bu aşamadan sonraki işlemler, 37 °C'lik su banyosunda yapıldı. 0,2 mL % 2'lik sodyum azid ile renk reaksiyonu durduruldu. 37°C lik su banyosundan alınıp ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında bekletildi, 3000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz alınarak oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede okundu.

5.8.3. Glutatyon (GSH) tayini

Dokuda GSH tayini, Ellman yöntemine göre yapıldı (Awasthi, Beutler, & Srivastava, 1975). Dekapitasyondan hemen sonra çıkarılan beyin ve kolon dokuları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kâğıdı ile kurutulup tartıldı. Homojenizatörde (Ika Werk) buz üstünde 150 mM KCl çözeltisiyle %10'luk homojenat hazırlanıp, 0,4 mL % 10'luk homojenata 0,2

mL %20'lik Trikloroasetik asit (TCA) eklenerek karıştırılıp, 15 dakika 3000 devir/dakikada santrifüj edildi. Üst fazda GSH çalışılacak, çökelti atılıp, 1 ml 0,3 M Na 2 HPO 4 + 0,05 ml Ellman çözeltisi ilave edilerek karıştırılıp ardından 5 dakika bekletilip oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede okundu.

5.8.4. Süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) tayini

Dokuda SOD aktivitesi tayini, daha önce tarif edilen yönteme göre ölçüldü (Mylroie, Collins, Umbles, & Kyle, 1986). Kısaca, ölçümler 0,1 mM EDTA'lı 2,8 mL 50 mM potasyum fosfat (pH 7,8), 0,1 mM 0,39 mM riboflavinli 10 mM potasyum fosfat (pH 7,5) deiyonize su içinde 0,1ml 6 mM o-dianisidin 2HCI ve doku ekstraktı içeren küvetlerde gerçekleştirildi (50, 100µl). Tüm bileşenleri içeren küvetler 5cm yukarıya yerleştirilmiş olan 20-W Sylvania Grow Lux floresan ile aydınlatılıp ve 37ºC'de muhafaza edildi. Absorbanslar Shimadzu UV-02 model spektrofotometreyle okundu. Standart eğri, sığır SOD (Sigma–Aldrich; S-2515-3000 U) referansı ile rutin olarak hazırlandı. Absorbans okumaları alınıp net absorbans hesaplandı. Aynı doku homojenatlarının 240 nm absorbansda okunan değerlerin farkı ilk 1 dakikada gözlenen H_2O_2'nin, H_2O'ya dönüşüm reaksiyonunun kinetiğinin analizi olarak ifade edilip ve ekstinksiyon katsayısı 0,004 (0,00394) mM -1/mm -1 olarak hesaplandı ve KAT aktivitesi (U/mg protein, dk.) şeklinde ifade edildi (Aebi, 1984).

5.9. Kolon Mikrobiyota Analizi

Dekapitasyon sonrası, tüm hayvanların gaita örneklerinden 1 gram tartılarak steril örnek tüplerine aktarıldı (her denekten 2 örnek olacak şekilde) ve çalışılıncaya dek -20°C'de saklandı. Fekal DNA ekstraksiyonu, ticari kit kullanılarak üretici firma yönergesi doğrultusunda gerçekleştirildi. Örneklerden elde edilen DNA konsantrasyonları, NanoDrop (ND-1000) spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, A.B.D.) cihazında ölçüldü. Elde edilen ölçüm değerlerine göre tüm DNA örneklerinin son konsantrasyonu 100 ng/µL olacak şekilde DNA sulandırımları hazırlandı. DNA ekstraktlarında saflık tayini ve protein kontaminasyonu, spektrofotometrede 260/280 nm'de ölçüm ile belirlendi. 260/280 nm oranı 1,9-2,1 olarak saptanan örnekler, "iyi kalite" olarak tanımlanarak ileri işleme alındı. DNA miktarı yetersiz olan ya da DNA ekstraksiyonunun uygun olmadığı belirlenen durumlarda, yedek fekal örneklerden tekrar DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA örnekleri, çalışılıncaya dek -20°C'de saklandı. Fekal mikrobiyotada yer alan farklı bakteri gruplarını saptamak için kantitatif Real-Time PCR (qPCR) kullanıldı. Bacteroides, Actinobacteria ve Proteobacteria bakteri grupları, Tablo 3'de belirtilen primerler kullanılarak araştırıldı ve miktarları belirlendi.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan PCR primerleri ve ürün boyutları

Bakteri Grubu	Forward Primer	Reverse Primer	Büyüklük (bp)
Bacteroides	GGTGTCGGC TTAAGTGCCAT	CGGAYGTAAGGGCCGTGC	177
Actinobacteria	CGGTACTGACTAAGAAGAC	AGTTTYATCTTCTGCAACG	429
Proteobacteria	ATGGGCTGCGTCAGCTCGT	CCTACTTCTTTTGCAACCCACTC	151

Tüm Real-Time qPCR reaksiyonları için SYBR green içeren qPCR kiti kullanıldı. PCR karışımı, toplam 20 µL hacim içerisinde, 1 µL fekal DNA ekstraktı ve her bir primerden 200 nM olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon, RotorgeneQ (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) termal döngü cihazında gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu, 95°C'de 10 dakika süren ilk denatürasyon aşamasının ardından, 95°C'de 10 saniye, 55°C'de 20 saniye ve 72°C'de 15 saniye olacak şekilde, toplam 40 döngü halinde tamamlandı. Elde edilen ürünler, termal döngü cihazının yazılımı ile analiz edildi. Analiz edilen örneklerin fekal mikrobiyota kompozisyonu, karşılaştırmalı olarak incelendi (Hartman ve ark., 2009).

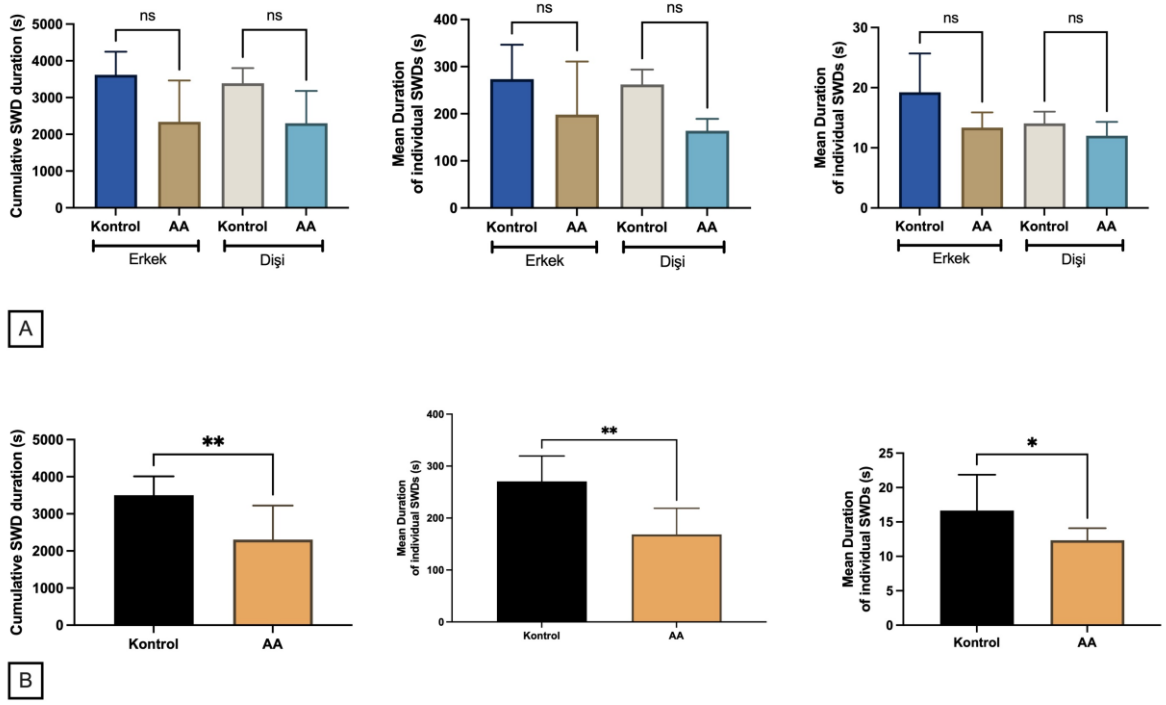
5.10. İstatistiksel Analiz

Gruplar arası değerlendirmeler tek yönlü,iki yönlü ve üç yönlü varyans analizi (ANOVA) ve t testi kullanılarak değerlendirildi. Yapılan testlerin istatistiksel analizleri GraphPad Prism 10 programı kullanılarak yapıldı. $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. EEG Kayıtları

Tüm deney gruplarının EEG kayıtlarına göre yapılan kümülatif nöbet analizleri, nöbet sıklığı ve nöbet süresi incelendiğinde, GAA-D ve -E gruplarında GK-D ve -E gruplarına kıyasla bir düşüş eğilimi gözlendi, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 10B). Epileptik ve non-epileptik hayvanların EEG verileri, cinsiyetler arası farklılık göstermedi. Bu bulgular, cinsiyet bağımsız olarak incelendiğinde, kümülatif nöbet analizleri, nöbet sıklığı ve nöbet süresi AA gruplarında anlamlı olarak düşmüştür ($p<0,01$, $p<0,05$) (Şekil 10A).



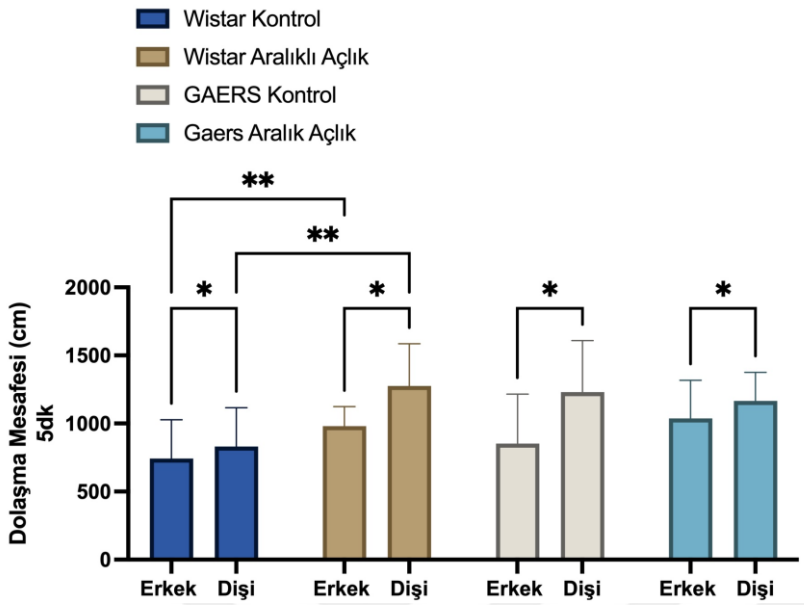
Şekil 10. GAERS hayvanları deney gruplarına ait kümülatif nöbet analizleri, nöbet sıklığı ve nöbet süresini gösteren grafik. Dişi ve erkek hayvanların verileri ayrı ayrı analiz edilerek sunulmuştur (A), dişi ve erkek hayvanların verileri birleştirilmiş şekilde sunulmuştur (B) , * :$p<0,05$, ** : $p<0,01$.

6.2. Davranış Deneyleri

6.2.1 Açık alan testi

Hem erkek hem de dişi WAA gruplarında, WK gruplarına kıyasla dolaşma mesafesinde anlamlı derecede bir artış görüldü ($p<0,01$). GAA grubu sıçanlarda, hem erkeklerde hem de dişilerde GK grubuna kıyasla görülen artma eğilimi istatistiksel olarak anlamlı

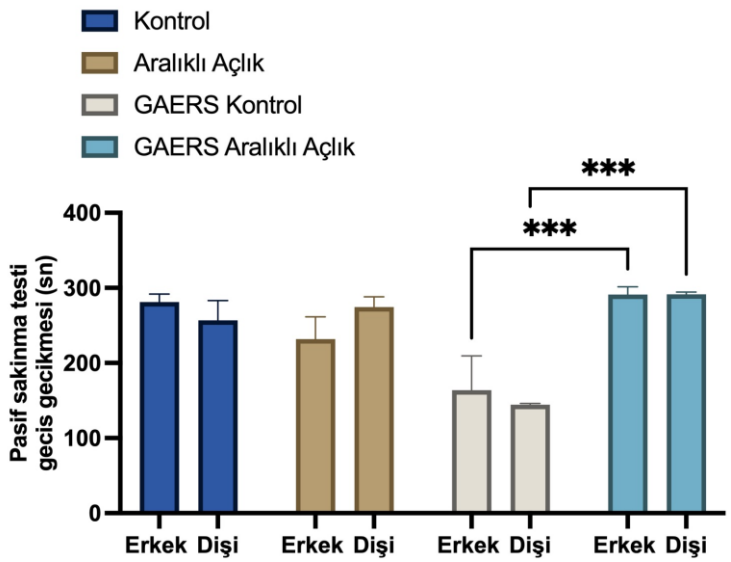
bulunmadı. Tüm deney gruplarında, dişi sıçanlarının dolaşma mesafesinin, erkeklere kıyasla anlamlı derecede arttığı belirlendi ($p<0,05$) (Şekil 10).



Şekil 11. Açık alan testinde deney hayvanlarının lokomotor aktivite analizi, * :$p<0,05$, ** : $p<0,01$.

6.2.2. Pasif kaçınma testi

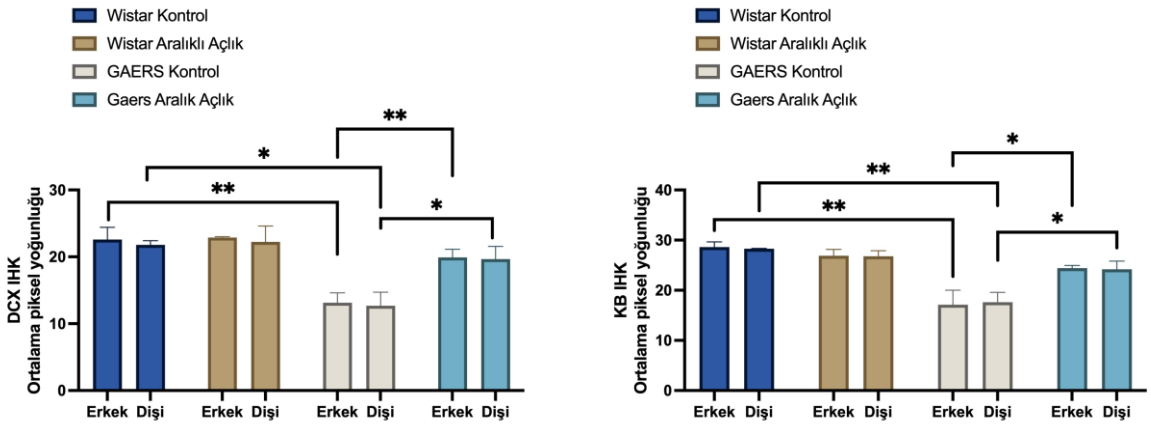
Pasif kaçınma testi sonuçlarına göre WK ve WAA gruplarında cinsiyetler arasında geçiş gecikme süresinde anlamlı bir fark izlenmedi. Ancak hem dişi hem erkek GAERS gruplarında, tüm Wistar gruplarına göre geçiş gecikmesinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Ayrıca, AA uygulaması sonrasında bu düşüşün her iki cinsiyette de anlamlı bir artış gösterdiği belirlendi ($p < 0,001$) (Şekil 12).



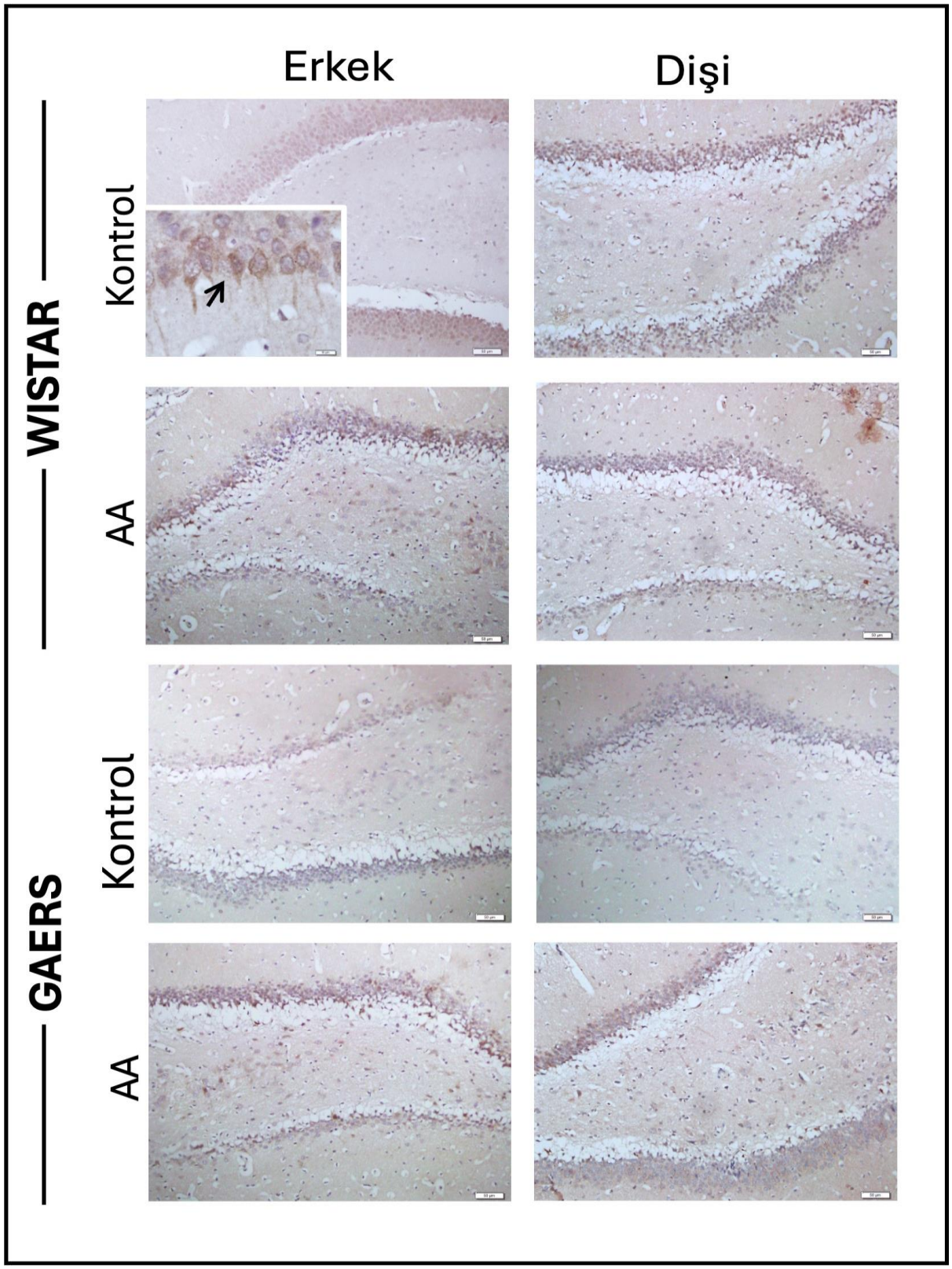
Şekil 12. Deney gruplarına ait pasif kaçınma testi geçiş gecikmesi sonuçları, *** :p<0,001.

6.3. Beyin Dokusunun İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Analizi

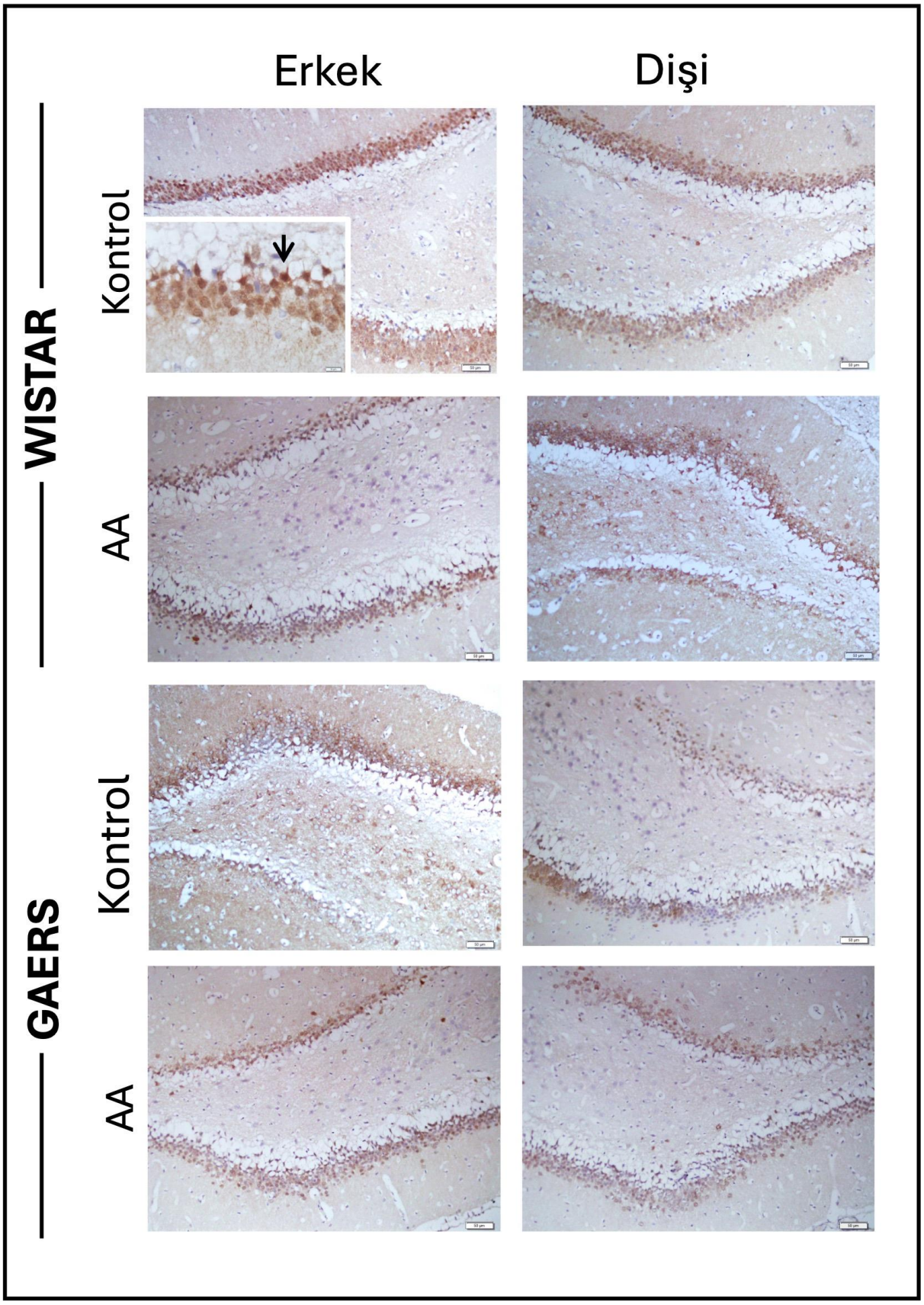
Hipokampal nörogenezi immünohistokimyasal olarak incelemek amacıyla beyin dokularında DCX ve KB işaretlemeleri gerçekleştirildi ve boyanma younlukları Image J yazılımı ile sayısal olarak değerlendirildi. Hipokampusun DG bölgesindeki immünoreaktivite, hem DCX hem de KB antikorları açısından, tüm WK ve WAA gruplarında benzer şekilde gözlemlendi. GK grubunda ise, hem dişi hem de erkeklerde DCX ve KB ekspresyonlarının anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (p<0,5, p<0,01). AA uygulamasıyla birlikte, DCX ve KB ekspresyonlarının tüm GAA gruplarında arttığı görüldü (p<0,5, p<0,01). (Şekil 13, 14 ve 15).



Şekil 13. Deney gruplarına ait IR açısından (A) DCX ve (B) KB karşılaştırılması, * :p<0,05, ** : p<0,01.



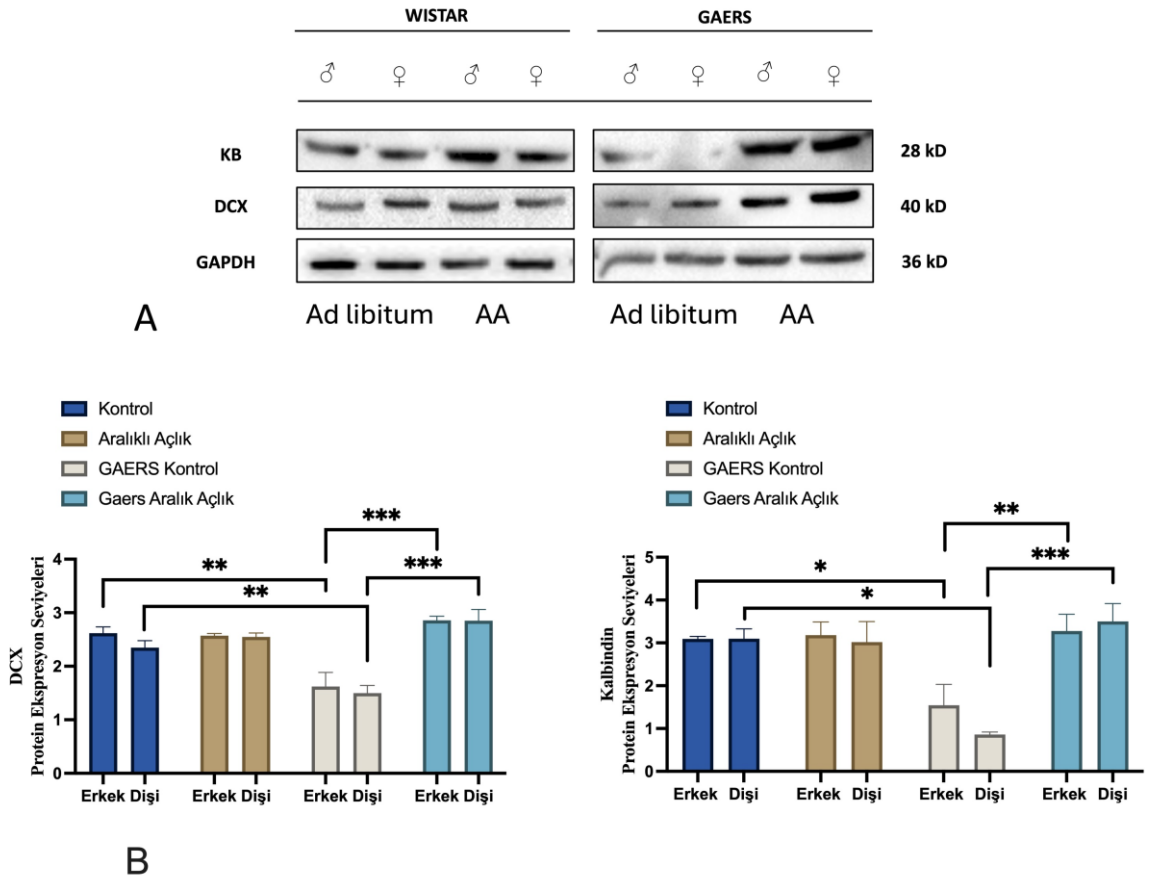
Şekil 14. Deney gruplarına ait DCX immünoreaktivitesini gösteren temsili mikrograflar. Ok : DCX+ hücreler Ölçek: 100 µm, inset: 20 µm



Şekil 15. Deney gruplarına ait KB immünoreaktivitesini gösteren temsili mikrograflar. Ok : KB + hücreler Ölçek: 100 µm, inset: 20 µm

6.4. Beyin Dokusu Western blot Bulguları

DCX protein seviyelerinde, hem dişi hem de erkek Non-epileptik Wistar hayvanlarda, KB protein seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Ancak, epileptik GAERS hayvanlarda non-epileptik Wistar gruplarına göre anlamlı bir azalma gösteren DCX protein seviyesi (p DĞERİ?), AA uygulaması ile hem dişi hem de erkek gruplarda anlamlı bir artış gösterdi ($p<0,05$, $p<0,001$). Epileptik ve non-epileptik deney gruplarında dişi ve erkek sıçanlar arasında DCX protein seviyelerinde herhangi bir fark bulunmadı. (Şekil 16).

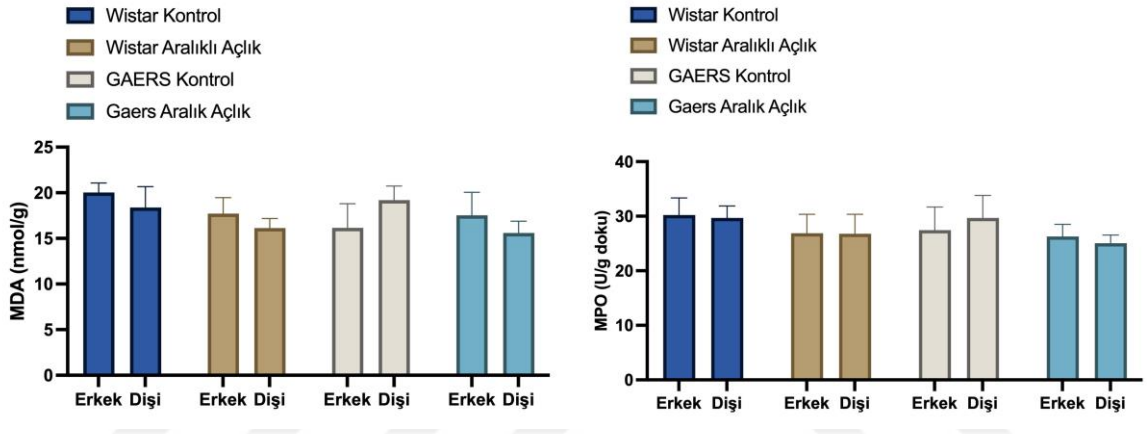


Şekil. 16. Wistar ve GAERS suşlarına ait dişi ve erkek sıçanlarda KB ve DCX protein ekspresyon seviyelerindeki değişimler. (Membranlar şeklin daha anlaşılabilir olmasını sağlamak için kesilmiştir) (Veriler ortalama ± % SD olarak verilmiştir, n= 7, $p<0.05$) (A). Deney gruplarına ait DCX ve KB protein seviyelerinin Western blot analiz sonuçları (B).

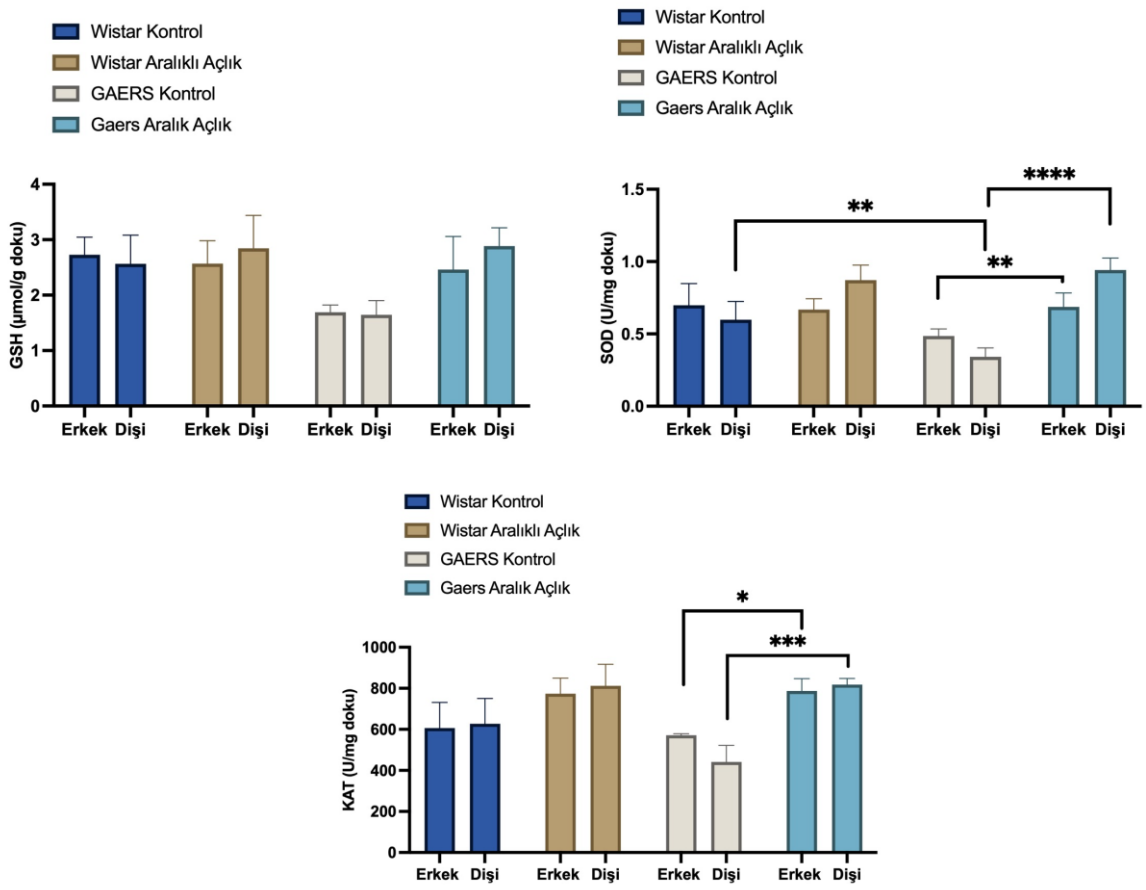
6.5. Beyin Dokusu Oksidatif Stres Seviyeleri ve Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarından elde edilen beyin dokularında, oksidatif stres belirteçleri olan MDA, MPO ve antioksidan molekül GSH seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı

bir fark izlenmedi. WK-E grubuna kıyasla, GK-E grubunda azalma eğilimi gösteren SOD seviyesi, AA uygulaması ile anlamlı bir artış gösterdi ($p < 0,05$). Non-epileptik erkek hayvanlarda bir fark görülmezken, dişi WAA grubunda, WK-D grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlendi ($p < 0,01$). GK-D sıçanlarda, WK grubuna göre anlamlı bir düşüş belirlendi (p DEĞERİ). Epileptik dişi hayvanlarda görülen bu düşüşün AA uygulaması ile anlamlı olarak arttığı görüldü ($p < 0,0001$). WK gruplarında, KAT enzim seviyesi açısından dişi ve erkekler arasında anlamlı bir fark izlenmezken, GK gruplarında hem dişi hem de erkeklerde Wistar kontrollere kıyasla azalma eğilimi belirlendi. Tespit edilen bu azalmanın, AA uygulaması ile birlikte anlamlı şekilde arttığı bulundu (erkek: 0.05; dişi: $p < 0,001$). (Şekil 17 ve 18).



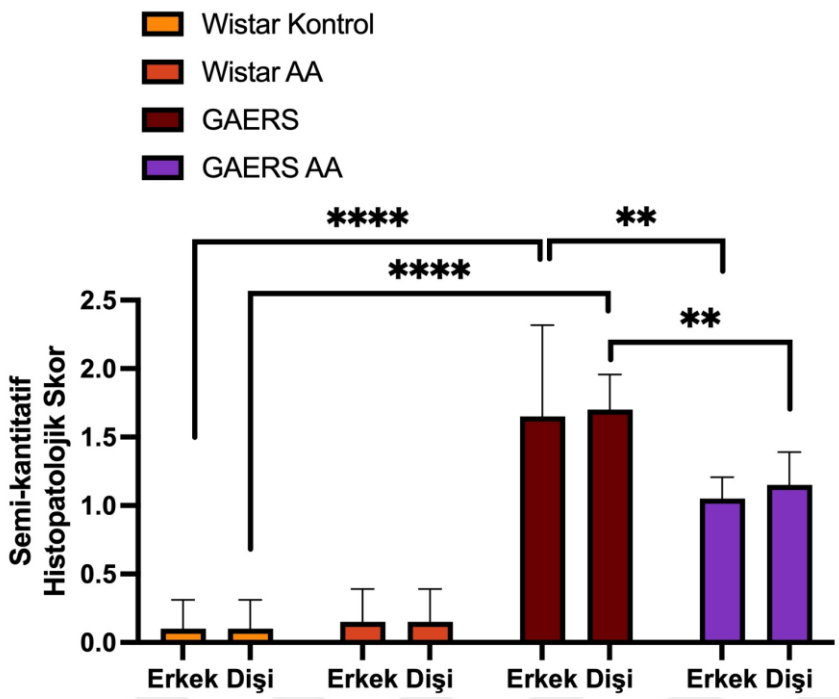
Şekil 17. Deney gruplarına ait oksidatif stres ve inflamasyon seviyelerindeki gruplararası değişimin gösterimi (MDA, MPO).



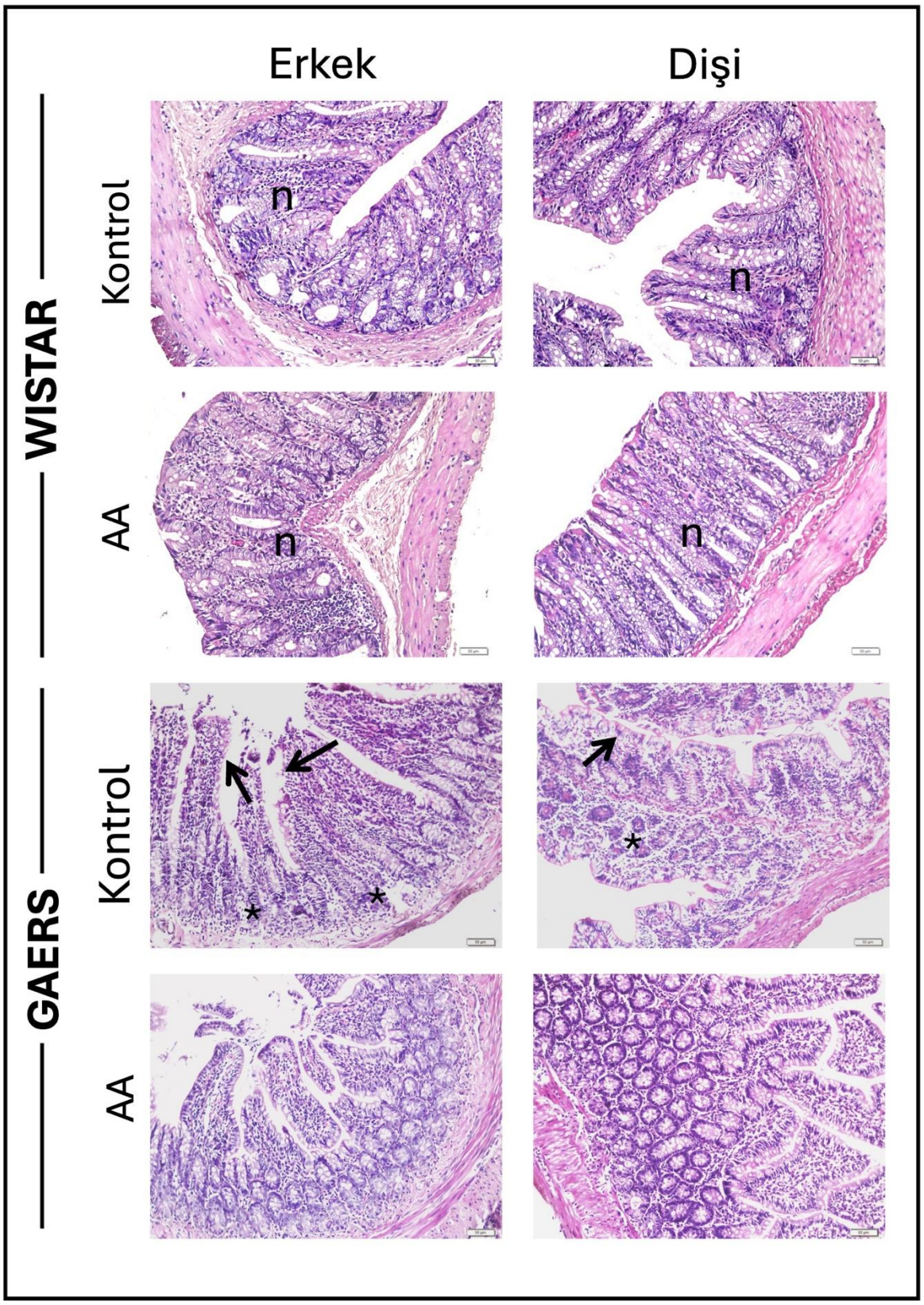
Şekil 18. Deney gruplarına ait antioksidan kapasite seviyelerinin istatistiksel gösterimi (GSH, SOD, KAT), (*<p<0,05, **: p<0,01, ***: p<0,001, ****:p<0,0001).

6.6. Kolon Dokusu Histopatoloji Bulguları

Kolon dokularında yapılan histopatolojik değerlendirmelerde, tüm non-epileptik deney gruplarında normal morfolojiye sahip bağırsak yapısı görüldü. Semikantitatif hasar değerlendirmesinde, tüm epileptik GAERS hayvanlarda hasar skorunun Wistar gruplarına kıyasla anlamlı bir artış olduu belirlendi (p<0,0001). GAERS grubu hayvanlarının kolon dokularının mikroskopik incelemesinde, orta derecede mukoza hasarı, hafif submukozal ödem ve epitel bütünlüğünde orta dereceli kayıplar izlendi. Ayrıca, kript yapılarında hafif bozulma tespit edildi. AA uygulaması sonrası, tüm GAA gruplarında mukoza hasarının hafiflediği ve epitel bütünlüğünün korunduğu ve histopatolojik skorun anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (p<0,01). Tüm bu parametreler, dişi ve erkek hayvanlar arasında farklılık göstermedi.



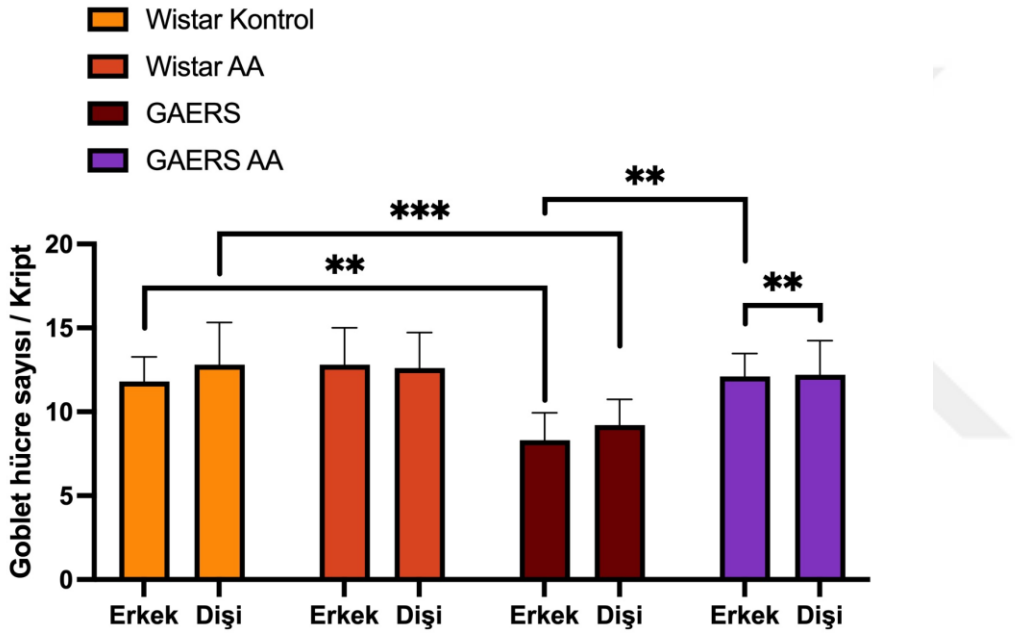
Sekil 19. Kolon dokusuna ait semi-kantitatif histopatolojik skor değerlendirmesi (**: p<0,01, ****: p<0,0001).



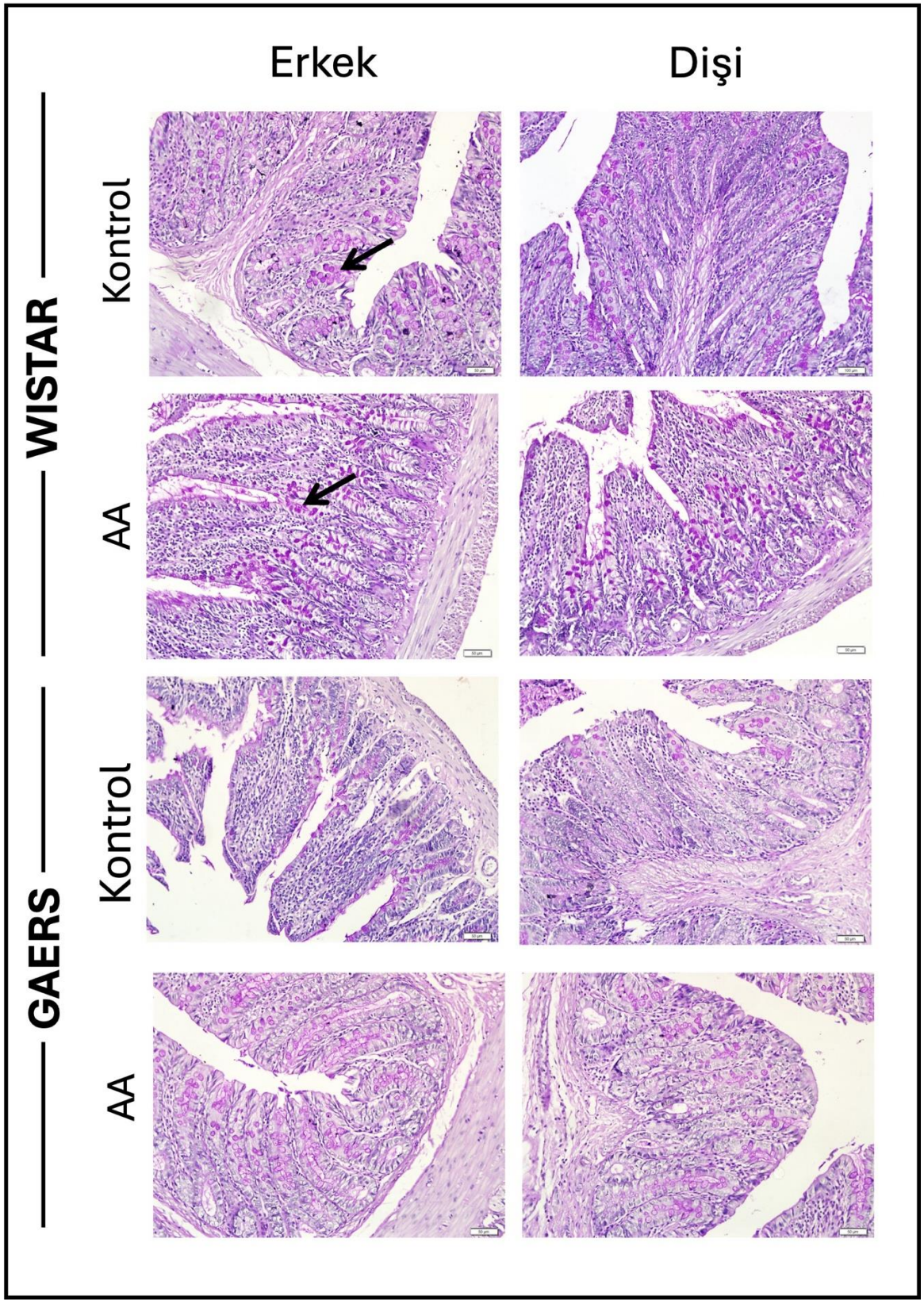
Şekil 20. Deney gruplarına ait kolon dokuları temsili fotomikrografları. n: normal morfolojide mukozal alan, Ok: epitel bütünlüğünün bozulması, * : mukozal ödem. Boyama: H&E, Ölçek: 50 µm.

6.7. Kolon Dokusu Goblet Hücrelerinin PAS Boyaması ile Değerlendirilmesi

Kolon dokusuna yapılan PAS boyaması ile, gruplar arasında goblet hücrelerinin dağılımı sayısal olarak değerlendirildi. Tüm non-epileptik Wistar hayvanlarda, gruplar arasında herhangi bir istatistiksel değişiklik saptanmadı. Her iki cinsiyette de, Wistar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GAERS kontrol grubunda goblet hücre sayısında belirgin bir azalma gözlemlendi (dişi : $p<0,001$; erkek : $p<0,01$). Buna karşılık, GAERS-AA grubunda goblet hücre sayısında, hem erkek hem de dişilerde GAERS grubuna kıyasla anlamlı bir artış tespit edildi (dişi: $p<0,05$; erkek: $p<0,01$). (Şekil 21). PAS+ hücre morfolojisi incelendiğinde, GAERS grubundaki goblet hücrelerinin müsin granüllerinde dilatasyon saptandı.



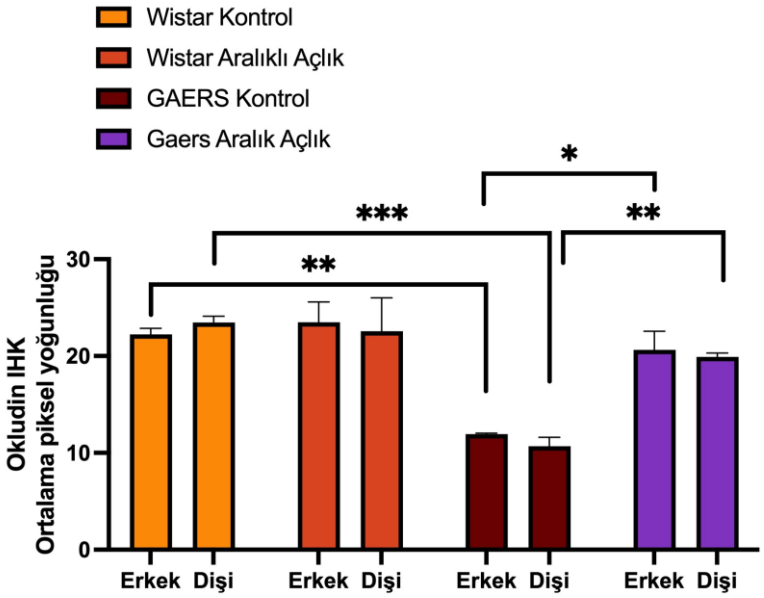
Sekil 21. Kolon dokusuna ait PAS+ hücre sayısının gruplar arasında karşılaştırmalı değerlendirilmesi (*<p<0,05, **: p<0,01, ***: p<0,001).



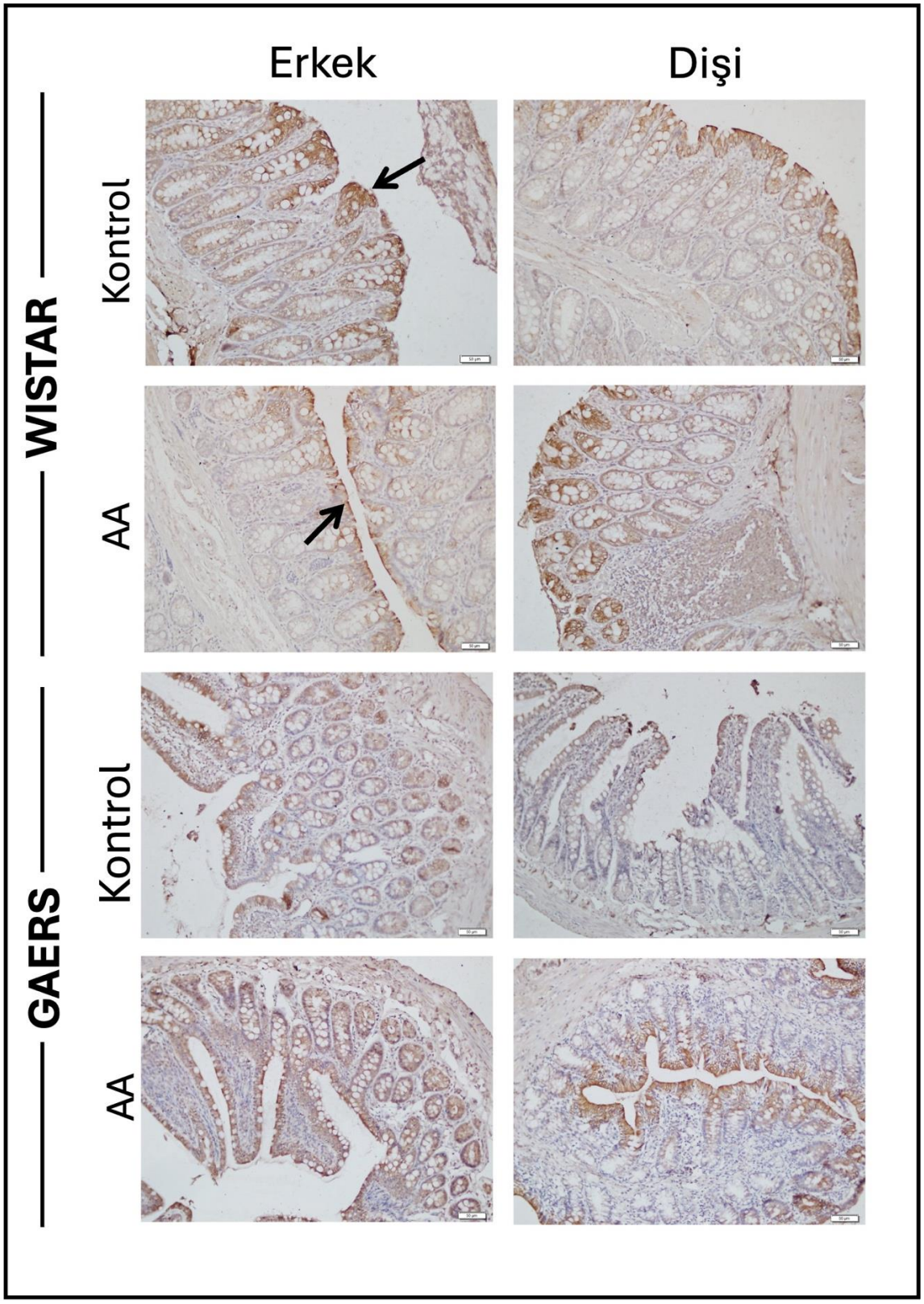
Şekil 22. Deney gruplarına ait kolon dokusu temsili fotomikrografları, ok: PAS+ goblet hücreleri. Boyama: PAS, Ölçek: 50 µm.

6.8. Kolon Dokusu Okludin İmmünohistokimya Bulguları

Wistar kontrol ve Wistar AA gruplarında, hem dişi hem de erkeklerde yoğun okludin pozitif boyanma gözlemlendi. Ancak, bu gruplara kıyasla GAERS dişi ve erkek gruplarında okludin immünoreaktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p<0,0001$). AA uygulaması sonrası, hem dişi hem de erkek gruplarda okludin ekspresyonunda GAERS kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlendi (dişi: $p<0,01$ ve erkek: $p<0,0001$). AA uygulamasının dişi ve erkek hayvanlarda benzer sonuçlandığı görüldü. (Şekil 23).



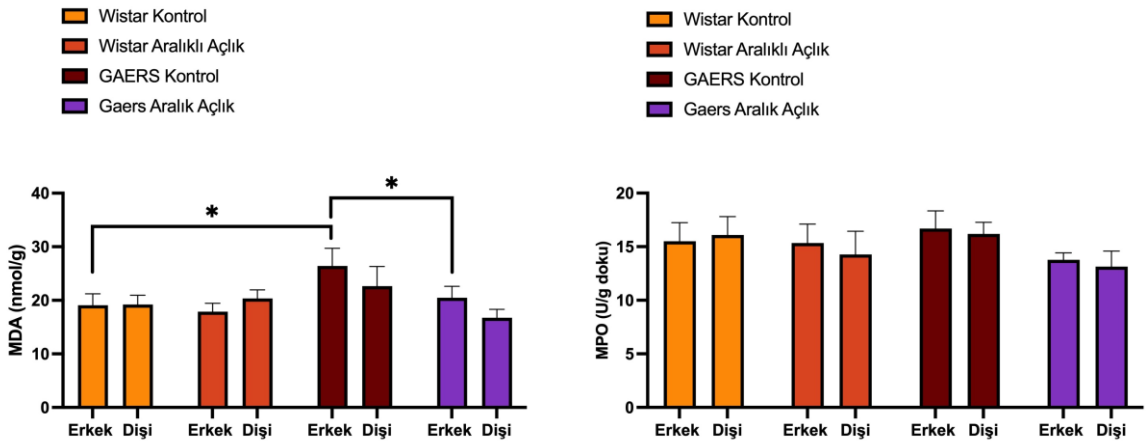
Şekil 23. Deney gruplarının okludin IR açısından karşılatırılması, **** :$p<0,0001$, ** : $p<0,01$.



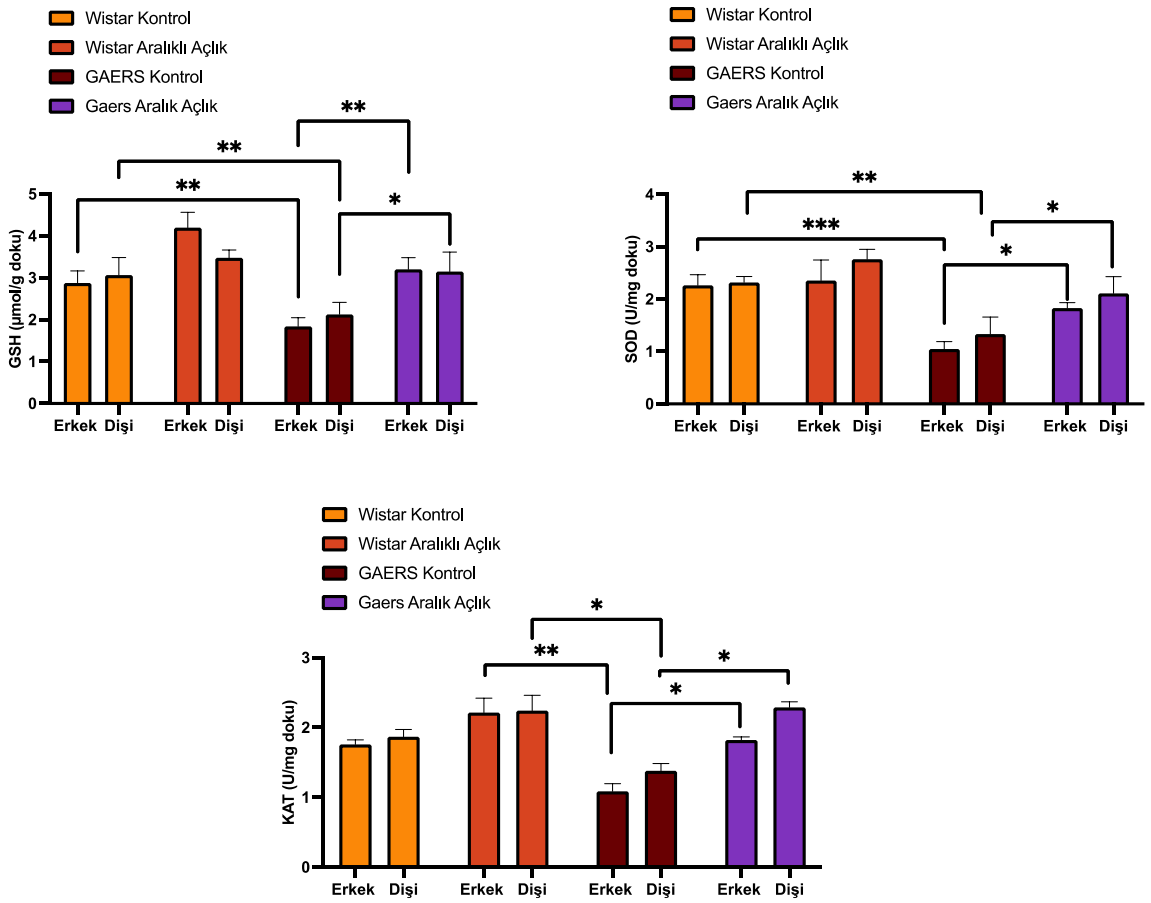
Şekil 24. Deney gruplarına ait Okludin immünoreaktivitesini gösteren temsili mikrograflar, ok : Okludin + alan. Ölçek: 50 µm.

6.9. Kolon Dokusu Oksidatif Stres Seviyeleri ve Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi

Non-epileptik Wistar ve epileptik GAERS sıçanların kolon dokusunda, MPO değerlerinde herhangi bir fark gözlemlenmedi. Kolon MDA değerinde WK gruplarına kıyasla tespit edilen artış, dişi hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken erkek hayvanlarda anlamlı istatistiksel anlamlılık belirlendi ($p < 0,05$). Erkek hayvanlarda tespit edilen bu artış, AA uygulaması ile kontrol seviyelerine geriledi ($p<0.05$). Kolon dokularında epileptik GAERS hayvanlarda anlamlı olarak bozulan GSH, SOD ve KAT düzeyleri, AA uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselerek non-epileptik kontrol gruplarının seviyesine ulaştı ($p < 0,05$, $p<0,01$). Oksidatif stres parametrelerinin seviyelerinde, cinsiyet farklılığı açısından bir değişiklik belirlenmedi. (Şekil 25 ve 26).



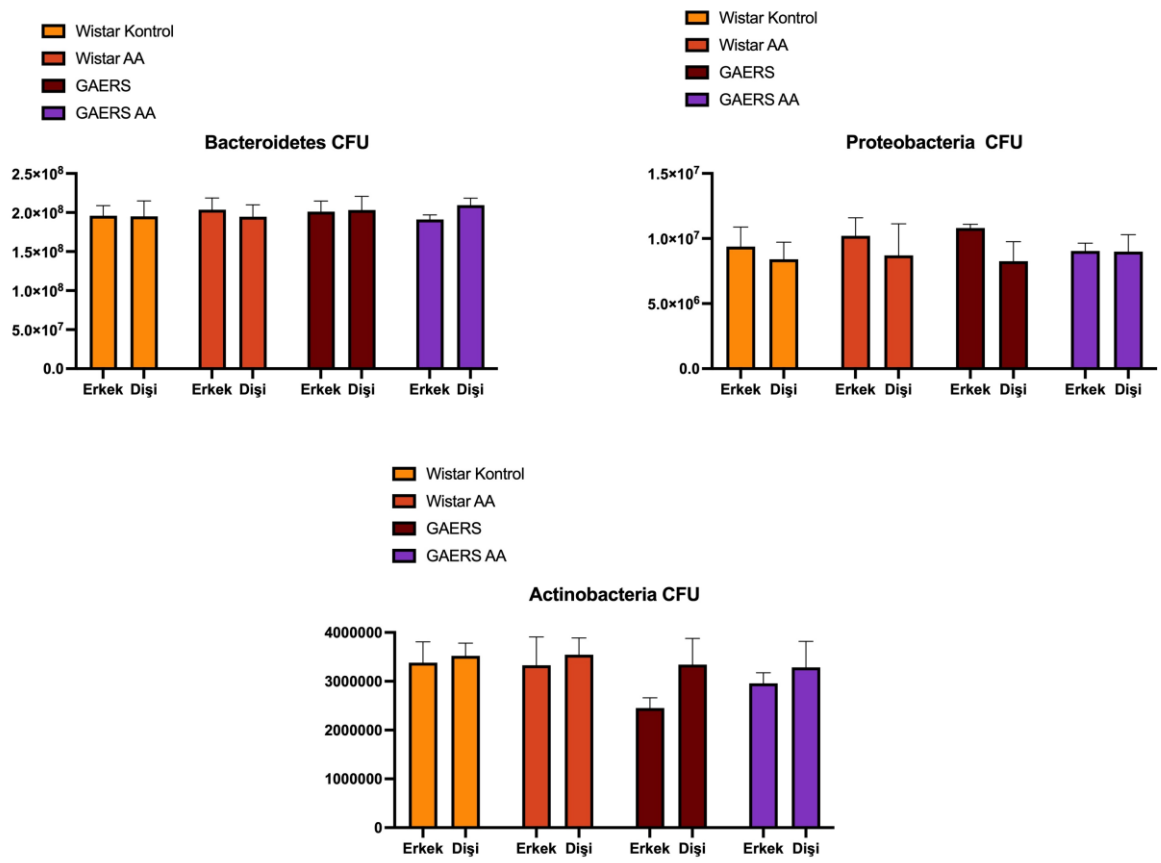
Şekil 25. Deney gruplarına ait oksidatif stres seviyelerinin istatistiksel olarak gösterimi (*:$p<0,05$). (MDA, MPO)



Şekil 26. Deney gruplarına ait antioksidan kapasite seviyelerinin istatistiksel olarak gösterimi (GSH, SOD, KAT), (*<p<0,05, **: p<0,01, ***: p<0,001).

6.10. Mikrobiyota Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tüm deneklere uygulanan gaita mikrobiyota analizi sonucunda, Bacteroidetes, Proteobacteria ve Actinobacteria filumlarına ait bakteri yoğunlukları incelendi. Farklı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak, her üç filum için de erkek ve dişi bireyler arasında benzer bakteriyel dağılımlar gözlendi. Bulgularımız, analiz edilen gruplar arasında mikrobiyota kompozisyonunda belirgin bir değişiklik olmadığını göstermektedir (Şekil 27).



Şekil 27. Deney gruplarına ait kolon mikrobiyota analizi.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, GAERS sıçanlarda AA rejiminin hipokampal nörogenez üzerine etkileri cinsiyet farklılıkları bağlamında değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, nörogenez süreçlerinin hem epilepsi hem de açlık rejimi ile etkileşime girdiğini göstermiştir. Dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen epilepsinin, hipokampal nörogenez ile ilişkisi bilinmektedir. Bağırsak-beyin ekseni de bu süreçte kritik bir rol oynamakta ve son dönemde yapılan araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının hipokampal nörogenezi modüle edebileceğini ve epilepsi gibi nörodejeneratif hastalıklar için potansiyel bir tedavi hedefi olabileceğini öne sürmektedir. Nöroprotektif etkileri ile dikkat çeken ve bağırsak mikrobiyotasını etkileme potansiyeli olan AA, sadece bilişsel işlevleri desteklemekle kalmayıp, epilepsi gibi nörolojik bozukluklarda da yararlı etkiler sunmaktadır.

AA, özellikle nörodejeneratif süreçlerde koruyucu etkileriyle dikkat çeken bir diyet modeli olup, hem bilişsel işlevleri desteklemesi hem de epilepsi gibi nörolojik bozuklukların tedavisinde olumlu etkiler gösterebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, GAERS sıçan modelinde, AA'nın nörogenez ve bağırsak-beyin ekseni üzerindeki etkileri cinsiyet farklılığı göz önünde bulundurularak incelenmiş ve elde edilen bulgular, epilepsi patofizyolojisinde beslenme müdahalelerinin rolüne dair önemli veriler sunmuştur. Bu çalışmanın bulguları, daha önce yapılan diyet müdahalelerinin nöroprotektif etkilerini gösteren araştırmalarla uyum içindedir. AA, Alzheimer hastalığı modellerinde davranışsal bozuklukları hafifletmiş ve oksidatif stresi azaltarak bilişsel işlevleri desteklemiştir (R. de Cabo & M. P. Mattson, 2019; Halagappa ve ark., 2007). Özellikle, AA'nın faydalı etkilerinde bağırsak-beyin ekseninin potansiyel bir aracısı olduğu vurgulanmakta ve bu konu nörodejenerasyon bağlamında giderek daha fazla araştırılmaktadır (Sampson ve ark., 2016).

Aşırı beslenme ve daha az fiziksel aktivite ile karakterize olan günümüz modern yaşam tarzı, metabolik ve dejeneratif bir çok hastalığa neden olabilmektedir (Sharsher, Ahmed, Metwally, Arisha, & Ahmed, 2022). Bu yaşam tarzını iyi yönde dönüştürmeyi sağlayabilecek en kolay yollardan biri diyet kısıtlaması ya da aralıklı açlık uygulamasıdır (Nowosad & Sujka, 2021).

DK, yetersiz beslenme olmaksızın gıda alımının kronik veya aralıklı olarak azaltılması olarak tanımlanır. Çeşitli türlerde gösterildiği gibi, çok çeşitli yaşa bağlı patolojilerin başlangıcını geciktirmek ve yaşam süresini uzatmak için en sağlam deneysel modellerden biri olarak

karşımıza çıkmaktadır (Fontana & Partridge, 2015). Deneysel hayvan modellerinde ve insanlarda yapılan son çalışmalar, diyetin, merkezi sinir sistemi (MSS) hastalıklarında meydana gelen nöroinflamatuar ve nörodejeneratif mekanizmaları düzenlemede belirgin bir role sahip olduğunu göstermektedir. Diyet besinleri; mikrobiyota bileşimi, işlevi ve metabolizmasının güçlü modülatörleridir ve bu da konakçı fizyolojisini etkiler (Duncan ve ark., 2006; M. F. Ribeiro ve ark., 2020).

EEG analizlerimizde erkek ve dişi AA gruplarında nöbet sıklığı ve süresinde GAERS kontrol gruplarına göre gözlenen düşüş, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da veriler kümülatif olarak (dişi ve erkek birliikte) değerlendirildiğinde görülen belirgin düşüş literatürdeki çalışmalara uyumlu bir bulgudur. Literatürde AA uygulamalarının, epilepsi dahil nörolojik hastalıklarda nöroprotektif etkiler gösterebileceği belirtilmektedir. AA, nörogenezi artırarak ve nöroinflamasyonu azaltarak beyin plastisitesi üzerinde olumlu etkiler yaratabilir (Alkurd ve ark., 2024; Dias ve ark., 2021; Liu ve ark., 2023).

Bu tür etkiler, epilepsi gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöbetlerin şiddetini azaltmada potansiyel bir fayda sağlayabilir. Yapılan bir araştırmada, kalori kısıtlamasının beyin hücrelerinde mTOR yolağını baskılayarak epilepsi nöbetlerini azaltabileceği gösterilmiştir. PTZ ile oluşturulmuş epilepsi fare modeli üzerinde yapılan bu çalışmada, kalori kısıtlamasının nöbet sıklığını düşürdüğü tespit edilmiştir (Yuskaitis ve ark., 2022). Sonuçlarımız, cinsiyet farklılığı açısından değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamış olsa da, tüm sonuçlar kümülatif olarak değerlendirildiğinde elde edilen istatistiksel anlamlılık, daha uzun süreli AA müdahalelerinin veya örneklem büyüklüğünün artırılmasının, AA uygulamasının etkinliğinin anlamlı hale geleceğini düşündürmektedir.

Açık alan testi, hayvanların, özellikle kemirgenlerin, kaygı, stres, keşif davranışları ve motor aktivite düzeylerini değerlendirmek için kullanılan yaygın bir davranış testi yöntemidir (Walsh & Cummins, 1976). Açık alan testi sonuçlarımız, AA beslenme yaklaşımının erkeklerde daha belrgin olmakla birlikte her iki cinsiyet için Wistar kontrol sıçanlarda motor aktiviteyi artırıcı etkisini ortaya koymaktadır. Önceki çalışmalara göre, AA'nın nöroinflamasyonu azaltarak sinaptik plastisiteyi ve motor performansı iyileştirdiği gösterilmiştir (Dai ve ark., 2022; Jeong ve ark., 2011). Bu sonuçlar, Wistar AA gruplarında gözlemlenen lokomotor artışla uyumludur. GAERS gruplarında AA uygulamsı ile anlamlı bir farklılık olmaması, GAERS gruplarında ki artan lokomotor aktivite, epilepsi ile ilişkili anormal elektriksel aktivitenin kortikotalamik devrelerde aşırı uyarılmaya yol açarak

motor korteksini etkilemesiyle açıklanabilir (Polack ve ark., 2007). Ayrıca, epileptik nöbetlerin beyin motor koordinasyon ağlarında değişikliklere neden olduğu ve denge kontrolünü etkilediği gösterilmiştir (H. S. White, Smith, & Wilcox, 2007). Ek olarak, epilepsiye bağlı kronik stres, bu hayvan modellerinde artan hareketlilik düzeyine katkıda bulunabilir (Espinosa-Garcia, Zeleke, & Rojas, 2021; Jhaveri ve ark., 2023; Singh, Mishra, & Goel, 2021). Cinsiyet farklılıkları ve östrojenin nöroprotektif etkileri üzerine yapılan araştırmalar, dişi sıçanlarda erkek sıçanlara göre motor aktivitenin artabileceğini göstermektedir. Östrojen, merkezi sinir sistemindeki nörotransmitterler üzerinde etkili olup, dopaminerjik sistemdeki düzenlemeleriyle motor aktiviteyi artırabilir. Dişi sıçanlarda östrojenin bu etkisi, motor fonksiyonların korunmasına ve artırılmasına yardımcı olabilir yapılan deneylerde, özellikle estradiol uygulamasıyla lokomotor aktivitenin yükseldiği gözlemlenmiştir, bu da hormonal farklılıkların motor aktivite üzerindeki etkisini destekler (Lightfoot, 2008; Lima ve ark., 2021). Bizim çalışmamızda dişi sıçanlarda görülen artış bu hormonal farklarla açıklanabilir. Bu sonuçlar, AA'nın motor fonksiyonlar üzerindeki etkisinin cinsiyet ve nörolojik durumlara bağlı olarak değişebileceğini öne sürmektedir.

Pasif kaçınma testi, öğrenme ve hafızayı değerlendiren yaygın bir davranış testi olup, hayvanın tekrarlanan bir olumsuz uyaranı (genellikle elektrik şoku) hatırlayıp bundan kaçınmayı öğrenme yeteneğini ölçer. Bu testte, hayvan güvenli bir bölgeden riskli bir bölgeye geçmekten kaçınmayı öğrenir ve geçiş gecikmesi, hafıza kapasitesinin bir göstergesi olarak kabul edilir (Walf & Frye, 2007). Çalışmamızda, Wistar kontrol ve Wistar AA sıçanlara göre, GAERS kontrol sıçanların karanlık alana geçiş süresi anlamlı şekilde azalmıştır. GAERS kontrol sıçanlarının karanlık alana geçiş süresindeki azalmanın kognitif bozulmalarla ilişkili olduğunu gösteren bulgularımız, epilepsi ve bilişsel işlev bozuklukları üzerine yapılan hem insan hem de hayvan çalışmalarını desteklemektedir (Khalife, Scott, & Hernan, 2022; Pahuja, Mehla, Reeta, Tripathi, & Gupta, 2013). Epilepsi, klinik çalışmalara göre, özellikle temporal lob epilepsisi gibi fokal nöbetlerde, öğrenme, bellek ve dikkat gibi kognitif işlevlerde bozulmalara neden olabilir. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar da epilepsinin beyindeki nörotransmitter dengesizlikleri ve nöral ağlardaki yapısal değişiklikler nedeniyle bilişsel bozukluklara yol açtığını göstermektedir. Özellikle nöbetlerin hipokampus gibi hafıza ile ilgili beyin bölgelerinde nöronal hasar oluşturduğu ve bu durumun öğrenme ile bellek süreçlerini bozduğu bilinmektedir (L.-J. Jia ve ark., 2011; Khalife ve ark., 2022; Kundap, Kumari, Othman, & Shaikh, 2017). Daha önce yapılan bir çalışmada AA, pasif kaçınma testinde korku ile ilişkili hafıza bozukluklarını iyileştirdiği ve hipokampal BDNF seviyelerini artırarak

nöronal plastisiteyi desteklediği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, AA uygulaması ile epileptik sıçanların karanlık alana geçiş gecikmesi anlamlı derecede artmış ve bu durum bilişsel iyileşmenin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır (Cabral-Costa ve ark., 2018). Benzer şekilde, Alzheimer hastalığı üzerine yapılan bir çalışmada da, AA, bilişsel bozuklukları iyileştirmiştir. Bu çalışmada, AA, hipokampal plastisiteyi artırarak hafıza fonksiyonlarını desteklemiş ve pasif kaçınma testinde öğrenme ve hafıza süreçlerini iyileştirmiştir (M. Jia ve ark., 2022).

Cinsiyet farklılıkları, AA'nin nöbet, lokomotor aktivite ve bellek üzerindeki etkilerinde önemli bir faktör olarak ortaya çıkmıştır. Erkeklerde nörolojik ve davranışsal iyileşmeler daha belirgin iken, dişilerde bu etkiler daha sınırlı kalmıştır. Bu farklılık, testosteron ve östrojen gibi cinsiyet hormonlarının merkezi sinir sistemi üzerindeki farklı düzenleyici etkilerine bağlanabilir (Lima ve ark., 2021).

1965 yılında Altman ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile hipokampusta yeni nöron oluşumunun varlığı gösterilmiş ve bu süreç nörogenez olarak isimlendirilmiştir (Altman & Das, 1965). Erişkin hipokampal nörogenezin, biliş ve mental sağlıkta önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yeni doğan nöronların sayısı ve özellikleri geniş bir yelpazede fizyolojik ve patolojik koşullar tarafından düzenlenebilir. Yetişkin nörogenezinin temel hücresel mekanizmalarını ve işlevsel önemini anlamak için birçok çalışma, yeni doğan nöronların nicelendirilmesine dayanmaktadır. Ancak, yeni nöronların nicelendirilmesi için standartlaştırılmış yöntemlerin eksikliği, ve sunduğu tek yönlü veriler, bu yeni oluşan nöronların var olan sisteme nasıl entegre olduğunu yeterince açıklayamamaktadır.

Yetişkin hipokampal nörogenez süreci, çok sayıda endojen faktör tarafından düzenlenmektedir. Örneğin, GABAerjik uyarım, nöroblastların olgunlaşmamış nöronlara dönüşmesine neden olur (Tozuka, Fukuda, Namba, Seki, & Hisatsune, 2005). Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi nörotrofik faktörler, glia kaynaklı nöron faktörü (GDNF), nöron büyüme faktörü (NGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1), yetişkin hipokampal nörogenezi desteklemektedir (Se Hoon Choi, Yun Li, Luis F Parada, & Sangram S Sisodia, 2009; Belal Shohayeb, Mohamed Diab, Mazen Ahmed, & Dominic Chi Hiung Ng, 2018; Vicario-Abejón, Johe, Hazel, Collazo, & McKay, 1995). Merkezi sinir sisteminde bulunan ve doğuştan gelen bağışıklık hücreleri olan mikroglia hücreleri, nöron gelişimini ve hayatta kalmasını indükleyebilen veya engelleyebilen sitokinler üretebilir (Chintamen, Imessadouene, & Kernie, 2021). Nörogenezi etkileyen diyet, stres, egzersiz, antidepresan

tedavisi ve ortam stimülasyonu gibi birçok ekzojen faktör de bulunmaktadır (Mirescu & Gould, 2006; Stangl & Thuret, 2009; Surget ve ark., 2011). Yetişkin hipokampal nörogenezinin uzamsal öğrenme ve hafıza, iz koşullandırma hafızası, örüntü ayırma ve nesne tanıma da dâhil olmak üzere belirli öğrenme ve hafıza süreçlerini etkilediği gösterilmiştir. Yetişkinlik döneminde hipokampal nörogenezin varlığı, beyin dokusunu hızlı bir şekilde elde etme gerekliliği ve doku işlemesinde/takibindeki sınırlamalar nedeniyle, insanlarda tartışmalı olmaya devam etmektedir. Alzheimer hastalarından ölüm sonrası elde edilen insan beyin dokusunda, yetişkin hipokampal nörogenezinin varlığı gösterilmiştir (Moreno-Jiménez ve ark., 2019). Erişkin hipokampal nörogenezin biliş, stres duyarlılığı ve antidepresan etkiyi düzenlemedeki önemi nedeniyle, bu süreci etkileyen faktörleri ve bunların mevcut hastalık tedavi seçeneklerini iyileştirmek için potansiyel olarak nasıl kullanılabileceğini anlamak, giderek daha önemli hale gelmektedir.

DCX, nöronal migrasyon ve mikrotübül stabilizasyonunu sağlayan bir protein olup, nörogenez sürecinde yeni nöronların göç etmesinde ve hipokampusta olgunlaşmasında kritik bir rol oynar. Özellikle yetişkin beyinde nöral kök hücrelerin yeni nöronlara dönüşme sürecinde önemli bir belirteç olarak kabul edilir (Heysieattalab & Sadeghi, 2021; Nosten-Bertrand ve ark., 2008) Epilepsili sıçanlarda nörogenez süreçlerinin bozulduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (O. T. Cilingir-Kaya ve ark., 2021). Bu çalışmada GAERS sıçanlarında nörogenez düzeylerinin kontrol gruplarına kıyasla azaldığı görülmüştür. Ancak AA rejiminin bu etkileri tersine çevirdiği ve nörogenezi artırdığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, açlık rejimlerinin nöroinflamasyonu azaltarak ve nörotrofik faktörlerin (ör. BDNF) düzeylerini artırarak nörogenez üzerindeki etkilerini açıklayan mekanizmalarla tutarlıdır (Alkurd ve ark., 2024; Dias ve ark., 2021). Çalışmamızda, GAERS sıçanlarda DCX seviyelerinin Wistar gruplarına göre azalması, nörogenez süreçlerinin epilepsiye bağlı olarak değiştiğini bozulduğunu göstermektedir. Literatürde epileptik kemirgenlerde DCX seviyelerinin arttığı rapor edilse de, bu artış genellikle nöbetlerin başlangıç aşamalarında veya nörogenezin tetiklendiği erken dönemde gözlenir. Ancak, nöbetlerin kronikleşmesi ile birlikte DCX seviyeleri anlamlı şekilde azalmaktadır. Örneğin, pilokarpin ile indüklenmiş kronik epilepsi modelinde, DCX seviyelerinin latent fazda arttığı, ancak nöbetler kronik hale geldikçe azaldığı gösterilmiştir (Heysieattalab & Sadeghi, 2021). Kronik epilepsi nörogenezi baskılar ve yeni nöronların oluşumunu olumsuz etkiler. Bu bulgular, çalışmamızda GAERS sıçanlarındaki DCX azalmasını açıklayabilir; kronik epilepsi nörogenezi baskılar ve yeni nöronların oluşumunu olumsuz etkiler. Ayrıca, DCX geninin inaktive edildiği bir fare

modelinde, DCX'in eksikliğinin epileptik nöbetler ve nöronal migrasyon bozukluklarına yol açtığını göstermiştir. DCX'in eksikliği, hipokampal nöronların düzgün bir şekilde göç edememesi ve bu nedenle nöbet aktivitesinin artması ile ilişkilendirilmiştir (Nosten-Bertrand ve ark., 2008). Bu, epilepsiye bağlı olarak DCX ekspresyonunun azalmasının nörogenezdeki fonksiyonel bozulmanın bir sonucu olabileceğine ve bu durumun epilepsi patofizyolojisindeki potansiyel rolüne işaret etmektedir.

Daha önce yapılan bir çalışmada, AA uygulamasının hipokampal nörogenezi artırarak DCX+ hücre sayısını yükselttiği ve hafıza ile öğrenme işlevlerinin iyileştirdiği gösterilmiştir. Aralıklı açlık, nöroplastisiteyi destekleyerek epileptik fare modelinde bilişsel fonksiyonların korunmasına katkı sağlamıştır (Dias ve ark., 2021). Bizim çalışmamızda da, AA uygulamasıyla hem WB hem de immunohistokimyasal analizlerde DCX seviyelerinde artış gözlemlenmiş olup, bu bulgular literatürle uyumlu sonuçlar vermiştir. Erkek sıçanlarda AA rejimi, nörogenezi daha belirgin bir şekilde artırırken, dişi sıçanlarda bu artış daha sınırlı olmuştur. Bu durum, cinsiyet hormonlarının hipokampal nörogenez üzerindeki düzenleyici etkilerini ve özellikle östrojenin nörogenezdeki rolünü vurgulayan literatürle uyumludur (Yagi & Galea, 2019). Ayrıca, dişi sıçanlarda östrojenin nöroprotektif etkileri nedeniyle bazal nörogenez seviyelerinin erkeklere göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Lima ve ark., 2021).

KB, olgun nöronlarda yüksek seviyelerde eksprese edilen ve kalsiyum homeostazında önemli bir rol oynayan bir kalsiyum bağlayıcı protein olup, nöronal işlevlerin korunmasında kritik bir rol oynar. Özellikle hipokampal nörogenez sürecinde, KB olgun nöronların fonksiyonel hale gelmesiyle ilişkilidir ve yeni oluşan nöronların olgunlaşmasını işaret eder (Todkar, Scotti, & Schwaller, 2012). Epilepsiye bağlı olarak KB ekspresyonundaki azalma, nörogenezdeki bozulmalara ve olgun nöronların sayısında azalmaya işaret edebilir. GAERS gruplarında gözlemlenen KB azalması, nörogenez sürecinin ve olgunlaşmış nöronların epilepsi nedeniyle olumsuz etkilendiğini gösterir. AA uygulaması ile KB seviyelerindeki artış, olgun nöronların sayısını ve kalsiyum homeostazını iyileştirerek nöroprotektif bir etki oluşturabilir. KB ekspresyonunda tespit edilen artış, AA'nin hipokampal nöronların kalsiyum dengesi ve hücresel dayanıklılık üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir (S. H. Choi ve ark., 2009; B. Shohayeb, M. Diab, M. Ahmed, & D. C. H. Ng, 2018). Dişi sıçanlarda elde edilen yüksek KB düzeyleri, östrojenin kalsiyum homeostazı üzerindeki destekleyici etkileriyle ilişkilendirilebilir (Lima ve ark., 2021). Temporal lob epilepsisi olan hastalarda yapılan bir

çalışmada, KB'nin önemli ölçüde azaldığı ve bunun epilepsiye bağlı olgun nöron kaybı ve hipokampal nörogenezin bozulması ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgu, epileptik hiperaktivitenin olgun nöronların olgunlaşma süreçlerini bozduğunu ve nöroprotektif bir mekanizma olan kalsiyum bağlanmasının yetersiz kaldığını göstermektedir (D'Alessio ve ark., 2019). Literatürde, epilepside AA uygulamasının KB ekspresyonunu artırdığına dair bir bulguya bizim bilgimize göre rastlanmamıştır. İskemik beyin hasarı üzerine yapılan çalışmalarda, AA'nın hipokampal KB seviyelerini anlamlı şekilde artırarak nöronları kalsiyum toksisitesine karşı koruduğu ve kalsiyum homeostazını düzenleyerek nöronal işlevlerin korunmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Sim ve ark., 2021). Ancak, epilepsi bağlamında AA uygulamasının KB ekspresyonunu artırdığına dair spesifik bir bulguya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bir epilepsi hayvan modelinde hem İHK ile hem de WB analizi ile KB seviyelerinin değişimini gösterdiğimiz çalışmamız AA ile KB seviyelerinin arttığını ortaya koyan bu alandaki ilk bulgulardan biri olabilir.

İntestinal bütünlük dolayısıyla da sağlıklı bir intestinal bariyer, organizmayı yabancı ajanlardan korumak için majör bir rol üstlenir (González-Quilen ve ark., 2019). Diyet ile ilgili değişimlerin gastrointestinal sistem üzerine etkileri birçok çalışma ile ortaya konmuştur (Myles, 2014). 2020 yılında yapılan bir çalışmada palm ve kanola yağlarının hematolojik özellikler, mikrobiyota (disbiyozis) ve sıkı bağlantı proteinleri (ZO-1, occludin, claudin-1) üzerine etkileri gösterilmiştir (Ruan ve ark., 2021). Bağırsak geçirgenliğinin artması bağırsak endotoksinlerinin, örneğin luminal gram-negatif bakterilerden türetilen lipopolisakkaritlerin iç bağırsak katmanlarına daha yüksek derecede geçişine yol açar ve kötüleşmiş bir immün yanıta neden olur (Moreira, Texeira, Ferreira, Peluzio Mdo, & Alfenas Rde, 2012). Bunun yanında, ileri derecede işlem görmüş ve yüksek enerji içeriğine sahip kuzey tarzı beslenme (doymuş yağ ve rafine şekerden zengin) uygulanan Wistar sıçanlarda, inflamasyon indeksinde, villus uzunluklarında, villus/kript oranlarında ve goblet hücre yüzdesinde artış belirlenmiştir (Segú ve ark., 2022). Bu şekilde yüksek şeker ve doymuş yağ içeren kafeterya tipi diyetlerin hem kilo alımına hem iç organların yağlanmasına hem de bağırsaklarda inflamasyona ve geçirgenliğe (bağırsak disfonksiyonu) neden olduğu bilinmektedir (González-Quilen ve ark., 2019). Çeşitli mikroorganizmalar ve metabolitleri (örn. indol türevleri ve bütirat), bağışıklık yanıtının indüklenmesi yoluyla bağırsak bariyerinin bütünlüğünü düzenler (Ghosh, Whitley, Haribabu, & Jala, 2021). Açlığın bağırsak bariyerinin bütünlüğünü nasıl etkilediği ve bağırsak bakterilerinin bu sürece nasıl dâhil olduğu konusunda çeşitli görüşler öne sürülmekte olup, literatürde bu konuda eksiklikler bulunmaktadır.

Kolon, gastrointestinal sistemde en yoğun mikrobiyota içeriğine sahip bölge olması ve mukus tabakasının koruyucu rolünün daha belirgin olması nedeniyle ince bağırsaktan farklılık gösterir (Johansson, Larsson, & Hansson, 2011; Sender, Fuchs, & Milo, 2016). Kolon, çift katmanlı mukus yapısı ve mikrobiyota fermantasyon ürünleri olan kısa zincirli yağ asitleri, kolon epitelinin bütünlüğünü destekler ve inflamasyonun düzenlenmesine katkı sağlar (Jensen ve ark., 2023). Çalışmamız, AA uygulamasının epilepsi modeli olan GAERS sıçanlarında kolon dokusundaki bariyer bütünlüğüne etkilerini araştırmıştır. GAERS gruplarında belirgin histopatolojik değişiklikler gözlemlenmiş; mukoza hasarı, submukozal ödem ve epitel bütünlüğünde kayıplar tespit edilmiştir. Bu bulgular, kolona özgü bariyer disfonksiyonunun göstergeleri olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, aralıklı açlık uygulamasının histopatolojik hasarı azalttığı gözlenmiş ve bu, AA'nın bağırsak bariyerinin korunmasında olumlu etkileri olabileceğini düşündürmüştür.

Goblet hücreleri bağırsak bariyer bütünlüğü ve mukus tabakasının korunmasında kritik bir role sahiptir. Goblet hücre analizlerinde, GAERS gruplarında goblet hücre sayısında anlamlı bir azalma tespit edilmiş ve hücre morfolojisinde müsin granüllerinde dilatasyon gibi değişiklikler gözlenmiştir. Mukus tabakasındaki bu bozulma, bağırsak geçirgenliğinin artmasına katkıda bulunabilecek önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Zhang & Wu, 2020). Buna karşın, AA uygulaması sonrası goblet hücre sayısında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, AA'nın mukus üretimini ve goblet hücre fonksiyonlarını iyileştirdiğini ve böylece epitel bariyer bütünlüğüne olumlu katkılar sağladığını göstermektedir. Ayrıca AA rejiminin bağırsak mukozasında homeostazı geri kazandırıcı etkisi olduğunu ve bağırsak-beyin aksı üzerinden nöroinflamasyonun azaltılmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Okludin, epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların önemli bir bileşeni olup bağırsak bariyer bütünlüğünün bir göstergesidir. Bu nedenle okludin ekspresyonunun değerlendirilmesi, bağırsak epitel bariyerinin geçirgenliğini belirlemek açısından kritik önem taşımaktadır. GAERS gruplarında okludin ekspresyonunda belirgin bir azalma tespit edilmiş, bu durum sıkı bağlantı yapılarının bozulduğunu ve bağırsak bariyerinin zayıfladığını göstermiştir. Chelakkot ve arkadaşlarının (2018) çalışmasında, occludin'in inflamatuar süreçler ve metabolik bozukluklar ile doğrudan ilişkili olduğu ve sıkı bağlantı stabilitesindeki bozulmaların sistemik inflamasyonu tetikleyebileceği belirtilmiştir (Chelakkot, Ghim, & Ryu, 2018). Bu doğrultuda,

çalışmamızda aralıklı açlık uygulamasının occludin ekspresyonunu artırarak sıkı bağlantı proteinlerinin yeniden düzenlenmesine ve epitel bütünlüğünün korunmasına işaret etmiştir.

Riva ve arkadaşlarının (2024) pediatrik epilepsi modeli üzerinde yaptıkları çalışmada, duodenumda villus yüksekliği-kript derinliği oranının azalması ve goblet hücre sayısındaki düşüş gibi bağırsak bariyeri hasarını işaret eden değişiklikler rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, IL-1β ve TNF gibi inflamatuar belirteçlerdeki artış, bağırsak inflamasyonunun epilepsi ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (Riva ve ark., 2024). Citraro ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında, WAG/Rij sıçanlarında ince bağırsak dokusunda villus yapısında bozulma ve inflamatuar hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik değişikliklerin epilepsi ile ilişkili olduğunu ilk defa gösterilmiştir (Citraro ve ark., 2021). Çalışmamız, kolon odaklı bir yaklaşım benimseyerek elde ettiği sonuçlarla mevcut çalışma ile paralellik göstermiş ve kolona özgü mikrobiyota-bariyer-mukus etkileşimlerini vurgulamıştır. Kolon mukus tabakasındaki çift katmanlı yapı ve mikrobiyota fermantasyon ürünlerinin bariyer bütünlüğündeki önemli rolü göz önüne alındığında, kolon üzerine yapılan çalışmaların epilepsiye bağlı bağırsak disfonksiyonunu anlamada kritik öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada, Bacteroidetes, Proteobacteria ve Actinobacteria filum seviyesinde analiz edilmiş ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi. Bununla birlikte, mikrobiyota kompozisyonunun yalnızca filum seviyesinde değerlendirilmesi epilepsi ve bağırsak disfonksiyonu arasındaki ilişkileri tam olarak ortaya koymak için yeterli değildir. Daha ayrıntılı cins ve tür seviyesinde analizler, potansiyel mikrobiyal değişimlerin tespit edilmesine ve epilepsi ile ilişkili spesifik mikrobiyal profillerin belirlenmesine katkı sağlayabilir (Hou ve ark., 2022). İleri analizler, özellikle inflamatuar süreçler ve mukus tabakası ile ilişkili bakteriyel alt grupların rolünü daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır.

Oksidatif stres, hücre ve yerel mikroçevredeki reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve uzaklaştırılması arasındaki denge tarafından kontrol edilir. ROS birikimi, hücresel hasar sinyallerinin üretilmesine ve aşırı koşullarda ise hücre ölümüne neden olabilmektedir. Yaşlanma, nöroenflamasyon ve nörodejeneratif hastalıkların, oksidatif stres birikimi ve yetişkin nörogenezindeki değişikliklerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Zhao & Zhao, 2013). Son yapılan araştırmalar, oksidatif durum değişikliklerine bağlı olarak yetişkin nörogenezindeki değişiklikleri de bildirmiştir. Yetişkin nörogenezi yüksek miktarda enerji gerektiren bir süreç olduğundan, bu sırada fizyolojik bir mekanizma olarak ROS birikmekte ve bu da yaşlanma, nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon sırasında yetişkin nörogenezini

bozmaktadır (Le Belle ve ark., 2011; T. F. Yuan, Gu, Shan, Marchado, & Arias-Carrión, 2015). Nörogenezi etkileyen oksidatif stres ve bunun nörodejeneratif bozukluklarla ilişkisinin aydınlatılması, yeni ilaç ve tedaviler üzerine yapılacak araştırmalar için yeni yollar açacaktır. Bu verilere rağmen, nörogenez ve ROS üretimi arasındaki ilişki büyük ölçüde bilinmezliğini sürdürmektedir.

Bunun yanında AA'nın, kilo ve yağ kaybıyla, ROS üretiminde düşüşe neden olarak ve glikoz regülasyonu, lipid metabolizması, artmış hücresel stres direnci ve inflamasyonun azalması yoluyla yaşam ve sağlık süresini artırabileceği bilinmektedir (Rafael De Cabo & Mark P Mattson, 2019).

Çalışmamızda litratürde bahsedilen eksikliğe katkı sağlayabilmek ve AA'nın etkisini belirleyebilmek amacıyla, oksidatif stres belirteci olarak MDA ve inflamasyonun, bağışıklık sisteminin aktivitesinin bir göstergesi olarak MPO'yu, beyin ve kolon dokusunda elisa yöntemiyle belirlemeyi hedefledik. Ek olarak, hücresel oksidatif stresle mücadelede önemli rolleri olan GSH, SOD ve KAT enzim aktivitelerini incelemeyi amaçladık. GSH, serbest radikalleri ve peroksitleri nötralize ederek hücreleri oksidatif hasardan koruyan bir tripeptittir. Hücresel detoksifikasyonda önemli bir rol oynayan GSH, redoks dengesinin korunmasına ve hücresel stresin azaltılmasına katkıda bulunur. KAT, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürerek hücre içi hidrojen peroksit seviyelerini düzenler ve potansiyel toksik etkileri önler. KAT, oksidatif stresin azaltılmasında önemli bir koruyucu mekanizmadır ve oksidatif dengenin sürdürülmesinde kritik bir rol oynar (Jomova ve ark., 2024). Serbest oksijen radikallerinin kaçınılmaz üretimi ile başa çıkan başlıca antioksidan savunma sistemlerinden biri de SOD'lardır. Memelilerde, hücre içi SOD'ların iki formundan biri olan SOD-1, öncelikle sitozolde ve mitokondriyal zarlar arası boşlukta bulunur (Wang, Branicky, Noë, & Hekimi, 2018). SOD-1, hücredeki SOD aktivitesinin çoğunu oluşturan, sitoplazma ve çekirdekte üretilen süperoksit radikallerinin uzaklaştırılmasından sorumlu olan en bol izoformdur (T. T. Huang ve ark., 1997).

Çalışmamızda, GAERS grubunda beyin dokusunda MDA ve MPO seviyelerinin kontrol grubuna benzer çıkmıştır. Ancak, kolon dokusunda MPO seviyelerinin kontrol grubuna benzer olmasına rağmen MDA seviyelerinin anlamlı derecede yüksek bulunması, kolon dokusunda artan lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres yükünü ortaya koymaktadır. AA uygulaması sonrası kolon dokusundaki MDA seviyelerinin azalması, AA'nın oksidatif stresin kontrol altına alınmasında etkili olduğunu göstermektedir. GAERS grubunda SOD, KAT ve

GSH seviyelerinin hem beyin hem de kolon dokusunda anlamlı derecede düşük olması, epilepsiye bağlı oksidatif dengenin bozulduğunu ve hücresel savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığını göstermektedir. Bu durum, epilepsi modelinde oksidatif stresin hücresel fonksiyonları bozduğunu ve antioksidan sistemlerin tükenmesine yol açtığını düşündürmektedir. Epilepsi gibi nöroinflamatuar durumlarda, antioksidan savunmanın azalması oksidatif hasarı tetikleyerek, hücresel disfonksiyona ve bağırsak-beyin ekseninde bozulmalara neden olabilir.

Yapılan çalışmalarda, hücresel redoks dengesinin nörogenez sürecinde kritik bir rol oynadığı ve oksidatif stresin kök hücre aktivasyonu ile farklılaşmasını etkilediği gösterilmiştir (Adusumilli ve ark., 2021; T. F. Yuan ve ark., 2015). Çalışmamızda AA uygulamasının beyin ve kolon dokularında SOD, KAT ve GSH seviyelerini anlamlı şekilde artırması, oksidatif dengenin yeniden sağlanmasına katkıda bulunduğunu ve hücresel savunmayı güçlendirdiğini ortaya koymaktadır. Bu bulgu, Hazzaa ve arkadaşlarının (2015) çalışmalarında belirtilen AA'nın nöroprotektif ve antioksidan kapasite artırıcı etkileriyle uyumludur (Hazzaa ve ark., 2020).

Coelho ve arkadaşlarının belirttiği gibi, mitokondriyal fonksiyonlar nörojenez sürecinde enerji üretimi ve hücresel homeostaz için kritik bir rol oynamaktadır (Coelho, Fão, Mota, & Rego, 2022). Hücresel redoks durumundaki değişikliklerin kök hücre aktivitesini etkileyebileceği ve oksidatif stresin, hücresel fonksiyonları bozarak nöroinflamasyonu tetikleyebileceği bildirilmiştir (Coelho ve ark., 2022). Çalışmamızda GAERS grubunda beyin ve kolon dokularındaki oksidatif stres parametreleri arasındaki farklılık, kolon dokusunda artan oksidatif stres yükünün mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, epilepsi sürecinde mitokondriyal disfonksiyonun bağırsak-beyin eksenini etkileyebileceği ve AA uygulamasının bu süreci tersine çevirerek mitokondri fonksiyonlarını iyileştirebileceği düşünülmektedir. Mitokondri dinamiklerinin korunması, nörojenez ve bağırsak bariyer bütünlüğünün sağlanması için kritik bir faktördür. Hücresel fizyolojinin korunmasında mitokondri füzyon ve fisyon dengesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda AA uygulaması sonrası gözlenen antioksidan seviyelerindeki artış, hücresel savunmayı güçlendirerek bağırsak bariyer fonksiyonlarını koruyabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, AA'nın oksidatif stresin yanı sıra mitokondriyal dinamikleri de düzenleyerek epilepsi yönetiminde potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceği

düşünülmektedir. Ayrıca, nörodejeneratif süreçlerin dokuya özgü yanıtlar oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Henüz bağısağın mı beyni yoksa beynin mi bağırsağı etkilediği net olarak bilinmemektedir, ancak her iki durumda da bu ilişki hakkında bilgi sahibi olmak çok kıymetlidir. Bağırsak yapı ve florasındaki değişiklikler, beyindeki patolojik değişiklikler için hem klinik hem de preklinik dönemde gösterge olabilir. Diğer alternatifte ise, bağırsak mikrobiyomunun nörodejeneratif hastalıklara katkıda bulunmasıdır ki, bu durumda bağırsak mikrobiyomunu gıda manipülasyonları, probiyotikler veya dışkı transferleriyle değiştirmek, hastalığın seyrini değiştirmeye yardımcı olabilir. Bu duruma örnek olarak, Ferreiro ve ark. klinik öncesi Alzheimer hastası kişilerin bağırsak mikrobiyomlarının (değişmiş beyin amiloid ve tau proteinleri) sağlıklı bireylerinkinden farklı bir bileşime sahip olduğunu göstermişlerdir ve spesifik bağırsak bakterilerinin, klinik öncesi Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (Ferreiro ve ark., 2023).

Bu çalışmada, aralıklı açlık (AA) uygulamasının epilepsi modeli olan GAERS sıçanlar üzerindeki etkileri ve farklı doku seviyelerindeki değişiklikler kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. EEG analizleri, AA'nın nöbet sıklığı ve süresinde azalma eğilimi göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, Wistar AA gruplarında motor aktivitenin arttığı, özellikle dişi sıçanlarda dolaşma mesafesinin anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Pasif kaçınma testi sonuçları, GAERS gruplarında bilişsel fonksiyonlardaki bozulmayı işaret etmekle birlikte, AA uygulamasının bu gruplarda geçiş gecikme süresini artırarak bilişsel performansı iyileştirdiğini göstermiştir. AA rejimi, nörogenezde önemli bir düzenleyici etki göstermiştir. Erkek ve dişi GAERS sıçanlar arasında farklılıklar olmakla birlikte, AA rejiminin her iki cinsiyette de hipokampal nörogenezi artırdığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, aralıklı açlığın nöroplastisiteyi ve hipokampal kök hücre proliferasyonunu artırdığı yönündeki önceki çalışmaları desteklemektedir (Cabral-Costa ve ark., 2018; Dias ve ark., 2021). Ayrıca, AA rejiminin oksidatif stres ve nöroinflamasyonu azaltarak nörogenez üzerinde olumlu bir etki yaratabileceği düşünülmektedir (Dai ve ark., 2022).

Nörogenezle ilişkili proteinlerden DCX ve KB seviyelerinin GAERS gruplarında azaldığı, ancak AA uygulaması ile her iki proteinin de düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Bu, AA'nın nöroprotektif etkilerini desteklemektedir. Beyin ve kolon dokularındaki oksidatif stres parametreleri de incelenmiş ve AA'nın hem GSH, SOD, KAT seviyelerini artırarak oksidatif

strese karşı koruyucu bir etki sağladığı bulunmuştur. Kolon dokusunda histopatolojik hasarın AA ile azaldığı ve goblet hücre sayısında iyileşmeler olduğu, okludin ekspresyonunda ise GAERS gruplarında düşüş gözlenmesine rağmen AA ile bu seviyelerin arttığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda ayrıca bağırsak mikrobiyotasında AA'nın etkilerini belirlemek amacıyla filum seviyesinde analiz gerçekleştirilmiştir. Ancak, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Mikrobiyal çeşitlilik ve spesifik bakteri türlerindeki değişiklikleri daha iyi anlamak için filum seviyesinden daha ayrıntılı, tür ve gen düzeyinde analizler gerekmektedir. Bu bağlamda, ileri yeni nesil tam genom sekanslama ve metagenomik yaklaşımlar, AA'nın bağırsak mikrobiyomu üzerindeki etkilerini daha kapsamlı bir şekilde ortaya koymada kritik bir rol oynayacaktır.

Bu bulgular ışığında, AA'nın nöbet sıklığı ve şiddeti üzerindeki uzun vadeli etkilerini ve hipokampus ile diğer beyin bölgelerinde nöroplastisite üzerindeki etkisini araştırmak, bu diyetsel müdahalenin terapötik potansiyelini daha kapsamlı bir şekilde anlamaya yardımcı olacaktır. Bu çalışmanın sonuçları, AA'nın epilepsi tedavisinde invazif olmayan, tamamlayıcı bir terapötik yaklaşım olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu diyet müdahalesi, nörogenezi destekleyerek ve oksidatif stresi azaltarak epilepsinin ilerlemesinde kritik faktörleri iyileştirme potansiyeline sahiptir. Bu etkilerin kişiye özel diyet müdahaleleri için yeni yollar açabilecektir. İnsanlarda bu bulguların doğrulanması ve AA'nın epilepsi ve diğer nörodejeneratif bozukluklar için tedavi planlarına entegrasyonunun belirlenmesi için daha fazla klinik çalışma gereklidir.

Sonuç olarak, bu çalışma, AA rejiminin nörogenez üzerinde olumlu etkileri olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda cinsiyet farklılığı genel olarak gözlenmemiştir. Ancak, daha ileri çalışmalarla mekanistik yolların daha ayrıntılı bir şekilde araştırılması gerekmektedir. Özellikle, AA rejiminin uzun dönemli etkileri ve farklı nörolojik hastalıklarda uygulanabilirliği, gelecekteki araştırmalar için önemli bir odak noktası olmalıdır.

8. KAYNAKLAR

Adusumilli, V. S., Walker, T. L., Overall, R. W., Klatt, G. M., Zeidan, S. A., Zocher, S., . . . Kempermann, G. (2021). ROS Dynamics Delineate Functional States of Hippocampal Neural Stem Cells and Link to Their Activity-Dependent Exit from Quiescence. *Cell Stem Cell, 28*(2), 300-314.e306. https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.019

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol, 105*, 121-126. https://doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Akin, D., Ravizza, T., Maroso, M., Carcak, N., Eryigit, T., Vanzulli, I., . . . Onat, F. Y. (2011). IL-1β is induced in reactive astrocytes in the somatosensory cortex of rats with genetic absence epilepsy at the onset of spike-and-wave discharges, and contributes to their occurrence. *Neurobiology of Disease, 44*(3), 259-269. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.05.015

Akman, O., Karson, A., Aker, R. G., Ates, N., & Onat, F. Y. (2010). Perirhinal cortical kindling in rats with genetic absence epilepsy. *Neurosci Lett, 479*(1), 74-78. https://doi:10.1016/j.neulet.2010.05.034

Albuja AC, Ighodaro ET, Khan GQ. Absence Seizure. 2024 Apr 20. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. PMID: 29763042.

Alkadhi, K. A. (2019). Cellular and molecular differences between area CA1 and the dentate gyrus of the hippocampus. *Molecular neurobiology, 56*(9), 6566-6580. doi: https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-019-1541-2

Alkurd, R., Mahrous, L., Zeb, F., Khan, M. A., Alhaj, H., Khraiwesh, H. M., & Faris, M. E. (2024). Effect of Calorie Restriction and Intermittent Fasting Regimens on Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels and Cognitive Function in Humans: A Systematic Review. *Medicina, 60*(1), 191. https://doi10.3390/medicina60010191

Altman, J., & Das, G. D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *Journal of Comparative Neurology, 124*(3), 319-335. https://doi.org/10.1002/cne.901240303

Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). In H. E. Scharfman (Ed.), *Progress in Brain Research* (Vol. 163, pp. 3-790): Elsevier. doi: https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)63001-5

Awasthi, Y. C., Beutler, E., & Srivastava, S. K. (1975). Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J Biol Chem, 250*(13), 5144-5149. doi: https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)41289-1

Babayev, H., Arabaci-Tamer, S., Yildirim, A., Kayali, D., Ercan, F., Yegen, C., . . . Yeğen, B. (2021). Sleeve gastrectomy-induced endocrine changes in the remnant stomachs of

premenopausal and postmenopausal rats: role of the estrogen receptors. *Surg Obes Relat Dis, 17*(1), 193-207. https://doi:10.1016/j.soard.2020.08.011

Basu, J., & Siegelbaum, S. A. (2015). The Corticohippocampal Circuit, Synaptic Plasticity, and Memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol, 7*(11). https://doi:10.1101/cshperspect.a021733

Beghi, E. (2019). The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology, 54*(2), 185-191. https://doi:10.1159/000503831

Beghi, E., Giussani, G., & Sander, J. W. (2015). The natural history and prognosis of epilepsy. *Epileptic Disorders, 17*(3), 243-253. https://doi.org/10.1684/epd.2015.0751

Bonaguidi, M. A., Song, J., Ming, G. L., & Song, H. (2012). A unifying hypothesis on mammalian neural stem cell properties in the adult hippocampus. *Curr Opin Neurobiol, 22*(5), 754-761. https://doi:10.1016/j.conb.2012.03.013

Bourin, M., & Hascoët, M. (2003). The mouse light/dark box test. *European journal of pharmacology, 463*(1), 55-65. https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01274-3

Bradley, P. H., & Pollard, K. S. (2017). Proteobacteria explain significant functional variability in the human gut microbiome. *Microbiome, 5*(1), 36. https://doi:10.1186/s40168-017-0244-z

Bruce-Keller, A. J., Umberger, G., McFall, R., & Mattson, M. P. (1999). Food restriction reduces brain damage and improves behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society, 45*(1), 8-15. doi: https://doi.org/10.1016/j.bbih.2024.100798

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol, 52*, 302-310. https://doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6

Cabral-Costa, J. V., Andreotti, D. Z., Mello, N. P., Scavone, C., Camandola, S., & Kawamoto, E. M. (2018). Intermittent fasting uncovers and rescues cognitive phenotypes in PTEN neuronal haploinsufficient mice. *Sci Rep, 8*(1), 8595. https://doi:10.1038/s41598-018-26814-6

Caldarone, B. J., Zachariou, V., & King, S. L. (2015). Rodent models of treatment-resistant depression. *European journal of pharmacology, 753*, 51-65. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.063

Calderón-Ospina, C. A., & Nava-Mesa, M. O. (2020). B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neurosci Ther, 26*(1), 5-13. https://doi:10.1111/cns.13207

Ceanga, M., Dahab, M., Witte, O. W., & Keiner, S. (2021). Adult neurogenesis and stroke: A tale of two neurogenic niches. *Frontiers in Neuroscience, 15*, 922. doi: https://doi.org/10.3389/fnins.2021.700297

Chauhan, P., Jethwa, K., Rathawa, A., Chauhan, G., & Mehra, S. (2021). The Anatomy of the Hippocampus. In R. Pluta (Ed.), *Cerebral Ischemia*. Brisbane (AU): Exon Publications http://doi.org/10.36255/exonpublications.cerebralischemia.2021.hippocampus

Chelakkot, C., Ghim, J., & Ryu, S. H. (2018). Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Experimental & Molecular Medicine, 50*(8), 1-9. https://doi:10.1038/s12276-018-0126-x

Chen, Z., Brodie, M. J., Ding, D., & Kwan, P. (2023). Editorial: Epidemiology of epilepsy and seizures. *Front Epidemiol, 3*, 1273163. http://doi:10.3389/fepid.2023.1273163

Chintamen, S., Imessadouene, F., & Kernie, S. G. (2021). Immune regulation of adult neurogenic niches in health and disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience, 14*, 571071. http://doi.org/10.3389/fncel.2020.571071

Choi, S. H., Li, Y., Parada, L. F., & Sisodia, S. S. (2009). Regulation of hippocampal progenitor cell survival, proliferation and dendritic development by BDNF. *Mol Neurodegener, 4*, 52. http://doi:10.1186/1750-1326-4-52

Cilingir-Kaya, O. T., Moore, C., Meshul, C. K., Gursoy, D., Onat, F., & Sirvanci, S. (2021). Neurogenesis is Enhanced in Young Rats with Genetic Absence Epilepsy: An Immuno-electron Microscopic Study. *Turk Neurosurg, 31*(4), 623-633. http://doi:10.5137/1019-5149.Jtn.31996-20.2

Citraro, R., Lembo, F., De Caro, C., Tallarico, M., Coretti, L., Iannone, L. F., . . . De Sarro, G. (2021). First evidence of altered microbiota and intestinal damage and their link to absence epilepsy in a genetic animal model, the WAG/Rij rat. *Epilepsia, 62*(2), 529-541. http://doi:10.1111/epi.16813

Coelho, P., Fão, L., Mota, S., & Rego, A. C. (2022). Mitochondrial function and dynamics in neural stem cells and neurogenesis: Implications for neurodegenerative diseases. *Ageing Research Reviews, 80*, 101667. https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101667

Coenen, A., & Van Luijtelaar, E. (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior genetics, 33*, 635-655. https://doi.org/10.1023/A:1026179013847

Cryan, J. F., O'Riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., . . . Dinan, T. G. (2019). The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiol Rev, 99*(4), 1877-2013. http://doi:10.1152/physrev.00018.2018

D'Alessio, L., Konopka, H., Solís, P., Scévola, L., Lima, M. F., Nuñez, C., . . . Kochen, S. (2019). Depression and Temporal Lobe Epilepsy: Expression Pattern of Calbindin Immunoreactivity in Hippocampal Dentate Gyrus of Patients Who Underwent

Epilepsy Surgery with and without Comorbid Depression. *Behav Neurol, 2019*, 7396793. http://doi:10.1155/2019/7396793

D'Antoni, A. V. (2016)., by , , , 1,562 Pages, Hardcover, $228.99 ($171.74), ISBN: 978-0-7020-5230-9. *Clinical Anatomy, 29*(2), 264-265. https://doi.org/10.1002/ca.22677

Dai, S., Wei, J., Zhang, H., Luo, P., Yang, Y., Jiang, X., . . . Li, X. (2022). Intermittent fasting reduces neuroinflammation in intracerebral hemorrhage through the Sirt3/Nrf2/HO-1 pathway. *Journal of Neuroinflammation, 19*(1), 122. http://doi:10.1186/s12974-022-02474-2

Dalkiran, B., Açıkgöz, B., & Dayı, A. (2022). Behavioral Tests Used in the Evaluation of Learning and Memory in Experimental Animals. *Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 6*(3), 938-945. http://doi:10.30621/jbachs.1017172

Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., & Marescaux, C. (1998). Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol, 55*(1), 27-57. http://doi:10.1016/s0301-0082(97)00091-9

Dawson, T. M., Ko, H. S., & Dawson, V. L. (2010). Genetic animal models of Parkinson's disease. *Neuron, 66*(5), 646-661. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.04.034

De Cabo, R., & Mattson, M. P. (2019). Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. *N Engl J Med, 381*(26), 2541-2551. http://doi:10.1056/NEJMra1905136

Denoth-Lippuner, A., & Jessberger, S. (2021). Formation and integration of new neurons in the adult hippocampus. *Nat Rev Neurosci, 22*(4), 223-236. http://doi:10.1038/s41583-021-00433-z

Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T. J., Jette, N., Scheffer, I. E., de Curtis, M., & Perucca, P. (2018). Epilepsy. *Nat Rev Dis Primers, 4*, 18024. http://doi:10.1038/nrdp.2018.24

Dias, G. P., Murphy, T., Stangl, D., Ahmet, S., Morisse, B., Nix, A., . . . Thuret, S. (2021). Intermittent fasting enhances long-term memory consolidation, adult hippocampal neurogenesis, and expression of longevity gene Klotho. *Mol Psychiatry, 26*(11), 6365-6379. http://doi:10.1038/s41380-021-01102-4

Duncan, J. S., Sander, J. W., Sisodiya, S. M., & Walker, M. C. (2006). Adult epilepsy. *The Lancet, 367*(9516), 1087-1100. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68477-8

Elrod, K., & Buccafusco, J. J. (1988). An evaluation of the mechanism of scopolamine-induced impairment in two passive avoidance protocols. *Pharmacol Biochem Behav, 29*(1), 15-21. http://doi:10.1016/0091-3057(88)90267-5

Engel, J., Pedley, T. A., & Aicardi, J. (2008). *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. http://doi:10.1001/jama.300.4.443-a

Erny, D., Hrabě de Angelis, A. L., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., . . . Prinz, M. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci, 18*(7), 965-977. http://doi:10.1038/nn.4030

Espinosa-Garcia, C., Zeleke, H., & Rojas, A. (2021). Impact of Stress on Epilepsy: Focus on Neuroinflammation—A Mini Review. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(8), 4061. Retrieved from https://doi:1422-0067/22/8/4061

Ferreiro, A. L., Choi, J., Ryou, J., Newcomer, E. P., Thompson, R., Bollinger, R. M., . . . Dantas, G. (2023). Gut microbiome composition may be an indicator of preclinical Alzheimer's disease. *Sci Transl Med, 15*(700), eabo2984. http://doi:10.1126/scitranslmed.abo2984

Fisher, R. S., Cross, J. H., D'Souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., . . . Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia, 58*(4), 531-542. http://doi:10.1111/epi.13671

Fontana, L., & Partridge, L. (2015). Promoting health and longevity through diet: from model organisms to humans. *Cell, 161*(1), 106-118. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.020

Ghosh, S., Whitley, C. S., Haribabu, B., & Jala, V. R. (2021). Regulation of Intestinal Barrier Function by Microbial Metabolites. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 11*(5), 1463-1482. http://doi:10.1016/j.jcmgh.2021.02.007

González-Quilen, C., Gil-Cardoso, K., Ginés, I., Beltrán-Debón, R., Pinent, M., Ardévol, A., Blay, M. T. (2019). Grape-Seed Proanthocyanidins are Able to Reverse Intestinal Dysfunction and Metabolic Endotoxemia Induced by a Cafeteria Diet in Wistar Rats. *Nutrients, 11*(5). http://doi:10.3390/nu11050979

Hagihara, H., Murano, T., Ohira, K., Miwa, M., Nakamura, K., & Miyakawa, T. (2019). Expression of progenitor cell/immature neuron markers does not present definitive evidence for adult neurogenesis. *Molecular brain, 12*(1), 1-6. http://dx.doi.org/10.1186/s13041-019-0522-8

Halagappa, V. K., Guo, Z., Pearson, M., Matsuoka, Y., Cutler, R. G., Laferla, F. M., & Mattson, M. P. (2007). Intermittent fasting and caloric restriction ameliorate age-related behavioral deficits in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis, 26*(1), 212-220. http://doi:10.1016/j.nbd.2006.12.019

Hartman, A. L., Lough, D. M., Barupal, D. K., Fiehn, O., Fishbein, T., Zasloff, M., & Eisen, J. A. (2009). Human gut microbiome adopts an alternative state following small bowel transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A, 106*(40), 17187-17192. http://doi:10.1073/pnas.0904847106

Hartman, A. L., Rubenstein, J. E., & Kossoff, E. H. (2013). Intermittent fasting: a "new" historical strategy for controlling seizures? *Epilepsy Res, 104*(3), 275-279. http://doi:10.1016/j.eplepsyres.2012.10.011

Hazzaa, S. M., Eldaim, M. A. A., Fouda, A. A., Mohamed, A., Soliman, M. M., & Elgizawy, E. I. (2020). Intermittent Fasting Ameliorated High-Fat Diet-Induced Memory Impairment in Rats via Reducing Oxidative Stress and Glial Fibrillary Acidic Protein Expression in Brain. *Nutrients, 13*(1). http://doi:10.3390/nu13010010

Heysieattalab, S., & Sadeghi, L. (2021). Dynamic structural neuroplasticity during and after epileptogenesis in a pilocarpine rat model of epilepsy. *Acta Epileptologica, 3*(1), 3. http://doi:10.1186/s42494-020-00037-7

Hillegass, L. M., Griswold, D. E., Brickson, B., & Albrightson-Winslow, C. (1990). Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods, 24*(4), 285-295. http://doi:10.1016/0160-5402(90)90013-b

Hou, K., Wu, Z.-X., Chen, X.-Y., Wang, J.-Q., Zhang, D., Xiao, C., . . . Chen, Z.-S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy, 7*(1), 135. http://doi:10.1038/s41392-022-00974-4

Huang, T.-T., Lai, J.-B., Du, Y.-L., Xu, Y., Ruan, L.-M., & Hu, S.-H. (2019). Current Understanding of Gut Microbiota in Mood Disorders: An Update of Human Studies. *Frontiers in Genetics, 10*. http://doi:10.3389/fgene.2019.00098

Huang, T. T., Yasunami, M., Carlson, E. J., Gillespie, A. M., Reaume, A. G., Hoffman, E. K., . . . Epstein, C. J. (1997). Superoxide-mediated cytotoxicity in superoxide dismutase-deficient fetal fibroblasts. *Arch Biochem Biophys, 344*(2), 424-432. http://doi:10.1006/abbi.1997.0237

Jänicke, B., & Coper, H. (1996). Tests in Rodents for Assessing Sensorimotor Performance During Aging. In A.-M. Ferrandez & N. Teasdale (Eds.), *Advances in Psychology* (Vol. 114, pp. 201-233): North-Holland. https://doi.org/10.1006/nlme.1995.1057

Jensen, B. A. H., Heyndrickx, M., Jonkers, D., Mackie, A., Millet, S., Naghibi, M., . . . Ouwehand, A. C. (2023). Small intestine vs. colon ecology and physiology: Why it matters in probiotic administration. *Cell Reports Medicine, 4*(9), 101190. https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101190

Jeong, M.-a., Plunet, W., Streijger, F., Lee, J. H., Plemel, J. R., Park, S., . . . Tetzlaff, W. (2011). Intermittent fasting improves functional recovery after rat thoracic contusion spinal cord injury. *Journal of neurotrauma, 28*(3), 479-492. https://doi.org/10.1089/neu.2010.1609

Jessberger, S., & Parent, J. M. (2015). Epilepsy and Adult Neurogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol, 7*(12). http://doi:10.1101/cshperspect.a020677

Jhaveri, D. J., McGonigal, A., Becker, C., Benoliel, J. J., Nandam, L. S., Soncin, L., . . . Bartolomei, F. (2023). Stress and Epilepsy: Towards Understanding of Neurobiological Mechanisms for Better Management. *eNeuro, 10*(11). https://doi:10.1523/eneuro.0200-23.2023

Jia, L.-J., Wang, W.-P., Li, Z.-P., Zhen, J.-L., An, L.-W., & Duan, R.-S. (2011). Memantine attenuates the impairment of spatial learning and memory of pentylenetetrazol-kindled rats. *Neurological Sciences, 32*(4), 609-613. https://doi:10.1007/s10072-011-0561-0

Jia, M., Shi, L., Zhao, Y., Hu, X., Zhao, J., Ding, C., . . . Dai, X. (2022). Intermittent fasting mitigates cognitive deficits in Alzheimer's disease via the gut-brain axis. *BioRxiv*, 2022.2005. 2011.491466. https://doi.org/10.1101/2022.05.11.491466

Johansson, M. E., Larsson, J. M., & Hansson, G. C. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A, 108 Suppl 1*(Suppl 1), 4659-4665. https://doi:10.1073/pnas.1006451107

Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Archives of Toxicology, 98*(5), 1323-1367. https://doi:10.1007/s00204-024-03696-4

Karademir, B., Sari, G., Jannuzzi, A. T., Musunuri, S., Wicher, G., Grune, T., . . . Jung, T. (2018). Proteomic approach for understanding milder neurotoxicity of Carfilzomib against Bortezomib. *Sci Rep, 8*(1), 16318. https://doi:10.1038/s41598-018-34507-3

Karson, A., Onat, F., Balcı, F., & Ateş, N. (2008). Absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda lokomotor aktivite, öğrenme ve bellek. *Epilepsi Dergisi, 14*(3), 167-175.

Keeler, J., & Robbins, T. (2011). Translating cognition from animals to humans. *Biochemical pharmacology, 81*(12), 1356-1366. https://doi.org/10.5127/pr.034713

Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B., & Kronenberg, G. (2004). Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci, 27*(8), 447-452. https://doi:10.1016/j.tins.2004.05.013

Khalaf-Nazzal, R., & Francis, F. (2013). Hippocampal development - old and new findings. *Neuroscience, 248*, 225-242. https://doi:10.1016/j.neuroscience.2013.05.061

Khalife, M. R., Scott, R. C., & Hernan, A. E. (2022). Mechanisms for Cognitive Impairment in Epilepsy: Moving Beyond Seizures. *Front Neurol, 13*, 878991. https://doi:10.3389/fneur.2022.878991

Knierim, J. J. (2015). The hippocampus. *Current Biology, 25*(23), R1116-R1121. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.049

Kozareva, D. A., Cryan, J. F., & Nolan, Y. M. (2019). Born this way: Hippocampal neurogenesis across the lifespan. *Aging Cell, 18*(5), e13007. https://doi:10.1111/acel.13007

Kundap, U. P., Kumari, Y., Othman, I., & Shaikh, M. F. (2017). Zebrafish as a Model for Epilepsy-Induced Cognitive Dysfunction: A Pharmacological, Biochemical and Behavioral Approach. *Frontiers in Pharmacology, 8*. https://doi:10.3389/fphar.2017.00515

Le Belle, J. E., Orozco, N. M., Paucar, A. A., Saxe, J. P., Mottahedeh, J., Pyle, A. D., . . . Kornblum, H. I. (2011). Proliferative neural stem cells have high endogenous ROS levels that regulate self-renewal and neurogenesis in a PI3K/Akt-dependant manner. *Cell stem cell, 8*(1), 59-71. https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.11.028

Lightfoot, J. T. (2008). Sex hormones regulation of rodent physical activity: a review. *Int J Biol Sci, 4*(3), 126-132. https://doi:10.7150/ijbs.4.126

Lima, A. C., Meurer, Y. S. R., Bioni, V. S., Cunha, D. M. G., Gonçalves, N., Lopes-Silva, L. B., . . . Silva, R. H. (2021). Female Rats Are Resistant to Cognitive, Motor and Dopaminergic Deficits in the Reserpine-Induced Progressive Model of Parkinson's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience, 13*. https://doi:10.3389/fnagi.2021.757714

Liu, Z., Liu, M., Jia, G., Li, J., Niu, L., Zhang, H., . . . Ma, J. (2023). Long-term intermittent fasting improves neurological function by promoting angiogenesis after cerebral ischemia via growth differentiation factor 11 signaling activation. *PLoS One, 18*(3), e0282338. https://doi:10.1371/journal.pone.0282338

Loh, J. S., Mak, W. Q., Tan, L. K. S., Ng, C. X., Chan, H. H., Yeow, S. H., . . . Khaw, K. Y. (2024). Microbiota–gut–brain axis and its therapeutic applications in neurodegenerative diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy, 9*(1), 37. https://doi:10.1038/s41392-024-01743-1

Lybrand, Z. R., Goswami, S., Zhu, J., Jarzabek, V., Merlock, N., Aktar, M., . . . Hsieh, J. (2021). A critical period of neuronal activity results in aberrant neurogenesis rewiring hippocampal circuitry in a mouse model of epilepsy. *Nature Communications, 12*(1), 1423. https://doi:10.1038/s41467-021-21649-8

Lyte, M. (2014). Microbial endocrinology and the microbiota-gut-brain axis. *Adv Exp Med Biol, 817*, 3-24. https://doi:10.1007/978-1-4939-0897-4_1

Ma, S., Yeom, J., & Lim, Y.-H. (2020). Dairy Propionibacterium freudenreichii ameliorates acute colitis by stimulating MUC2 expression in intestinal goblet cell in a DSS-induced colitis rat model. *Scientific Reports, 10*(1), 5523. https://doi:10.1038/s41598-020-62497-8

Magdy, R., Kishk, N. A., Abokrysha, N. T., Ramzy, G. M., Rizk, H. I., & Hussein, M. (2022). Fasting and post fasting effect of Ramadan on different seizure types in patients with active epilepsy. *Nutritional Neuroscience, 25*(5), 1100-1104. http://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1840048

Maniscalco, J. W., & Rinaman, L. (2018). Vagal Interoceptive Modulation of Motivated Behavior. *Physiology (Bethesda), 33*(2), 151-167. https://doi:10.1152/physiol.00036.2017

Marescaux, C., & Vergnes, M. (1995). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg (GAERS). *The Italian Journal of Neurological Sciences, 16*, 113-118. https://doi.org/10.1007/bf02229083

Marescaux, C., Vergnes, M., & Depaulis, A. (1992). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg--a review. *J Neural Transm Suppl, 35*, 37-69. https://doi:10.1007/978-3-7091-9206-1_4

Mari-Acevedo, J., Yelvington, K., & Tatum, W. O. (2019). Chapter 9 - Normal EEG variants. In K. H. Levin & P. Chauvel (Eds.), *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 160, pp. 143-160): Elsevier. https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64032-1.00009-6

Matricardi, S., Verrotti, A., Chiarelli, F., Cerminara, C., & Curatolo, P. (2014). Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatr Neurol, 50*(3), 205-212. https://doi:10.1016/j.pediatrneurol.2013.10.009

Mayer, E. A., Nance, K., & Chen, S. (2022). The Gut-Brain Axis. *Annu Rev Med, 73*, 439-453. https://doi:10.1146/annurev-med-042320-014032

Mecarelli, O. (2019). Pathological EEG Patterns. In O. Mecarelli (Ed.), *Clinical Electroencephalography* (pp. 223-235). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-04573-9_13

Mesraoua, B., Brigo, F., Lattanzi, S., Abou-Khalil, B., Al Hail, H., & Asadi-Pooya, A. A. (2023). Drug-resistant epilepsy: Definition, pathophysiology, and management. *Journal of the Neurological Sciences, 452*, 120766. https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.120766

Mineur, Y. S., Obayemi, A., Wigestrand, M. B., Fote, G. M., Calarco, C. A., Li, A. M., & Picciotto, M. R. (2013). Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A, 110*(9), 3573-3578. https://doi:10.1073/pnas.1219731110

Mirescu, C., & Gould, E. (2006). Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus, 16*(3), 233-238. https://doi.org/10.1002/hipo.20155

Moini, J., Avgeropoulos, N. G., & Samsam, M. (2021). Chapter 1 - Anatomy and physiology. In J. Moini, N. G. Avgeropoulos, & M. Samsam (Eds.), *Epidemiology of Brain and Spinal Tumors* (pp. 3-40): Academic Press. doi: https://doi.org/10.1016/C2019-0-03764-8

Morais, L. H., Schreiber, H. L., & Mazmanian, S. K. (2021). The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature Reviews Microbiology, 19*(4), 241-255. https://doi:10.1038/s41579-020-00460-0

Moreira, A. P., Texeira, T. F., Ferreira, A. B., Peluzio Mdo, C., & Alfenas Rde, C. (2012). Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr, 108*(5), 801-809. https://doi:10.1017/s0007114512001213

Moreno-Jiménez, E. P., Flor-García, M., Terreros-Roncal, J., Rábano, A., Cafini, F., Pallas-Bazarra, N., . . . Llorens-Martín, M. (2019). Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with

Alzheimer's disease. *Nature medicine, 25*(4), 554-560.: https://doi.org/10.1038/s41591-019-0375-9

Möhle, L., Mattei, D., Heimesaat, M. M., Bereswill, S., Fischer, A., Alutis, M., . . . Wolf, S. A. (2016). Ly6C(hi) Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Rep, 15*(9), 1945-1956. https://doi:10.1016/j.celrep.2016.04.074

Myles, I. A. (2014). Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutr J, 13*, 61. https://doi:10.1186/1475-2891-13-61

Mylroie, A. A., Collins, H., Umbles, C., & Kyle, J. (1986). Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol Appl Pharmacol, 82*(3), 512-520. https://doi:10.1016/0041-008x(86)90286-3

Neri, S., Mastroianni, G., Gardella, E., Aguglia, U., & Rubboli, G. (2022). Epilepsy in neurodegenerative diseases. *Epileptic Disord, 24*(2), 249-273. https://doi:10.1684/epd.2021.1406

Nolan, M. A., Redoblado, M. A., Lah, S., Sabaz, M., Lawson, J. A., Cunningham, A. M., . . . Bye, A. M. (2004). Memory function in childhood epilepsy syndromes. *J Paediatr Child Health, 40*(1-2), 20-27. https://doi:10.1111/j.1440-1754.2004.00284.x

Nosten-Bertrand, M., Kappeler, C., Dinocourt, C., Denis, C., Germain, J., Phan Dinh Tuy, F., Francis, F. (2008). Epilepsy in Dcx knockout mice associated with discrete lamination defects and enhanced excitability in the hippocampus. *PLoS One, 3*(6), e2473. https://doi:10.1371/journal.pone.0002473

Nowosad, K., & Sujka, M. (2021). Effect of Various Types of Intermittent Fasting (IF) on Weight Loss and Improvement of Diabetic Parameters in Human. *Curr Nutr Rep, 10*(2), 146-154. https://doi:10.1007/s13668-021-00353-5

Onat, F. Y., Aker, R. G., Gurbanova, A. A., Ateş, N., & van Luijtelaar, G. (2007). The effect of generalized absence seizures on the progression of kindling in the rat. *Epilepsia, 48 Suppl 5*, 150-156. https://doi:10.1111/j.1528-1167.2007.01303.x

Pahuja, M., Mehla, J., Reeta, K. H., Tripathi, M., & Gupta, Y. K. (2013). Effect of Anacyclus pyrethrum on Pentylenetetrazole-Induced Kindling, Spatial Memory, Oxidative Stress and Rho-Kinase II Expression in Mice. *Neurochemical Research, 38*(3), 547-556. https://doi:10.1007/s11064-012-0947-2

Pamukcu, O., Kumral, Z. N., Ercan, F., Yegen, B. C., & Ertem, D. (2013). Anti-inflammatory effect of obestatin and ghrelin in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr, 57*(2), 211-218. https://doi: 10.1097/MPG.0b013e318294711e

Parent, J. M., & Lowenstein, D. H. (2002). Seizure-induced neurogenesis: are more new neurons good for an adult brain? In *Progress in Brain Research* (Vol. 135, pp. 121-131): Elsevier. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07612.x

Paxinos, G. (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates (4th ed.). Academic Press.

Pitkänen, A., & Lukasiuk, K. (2011). Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *Lancet Neurol, 10*(2), 173-186. https://doi:10.1016/s1474-4422(10)70310-0

Pittenger, C., & Kandel, E. R. (2003). In search of general mechanisms for long-lasting plasticity: Aplysia and the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 358*(1432), 757-763. https://doi:10.1098/rstb.2002.1247

Plioplys, S., Dunn, D. W., & Caplan, R. (2007). 10-year research update review: psychiatric problems in children with epilepsy. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 46*(11), 1389-1402. https://doi:10.1097/chi.0b013e31815597fc

Polack, P. O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A., & Charpier, S. (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci, 27*(24), 6590-6599. https://doi:10.1523/jneurosci.0753-07.2007

Ribeiro, F. F., & Xapelli, S. (2021). An Overview of Adult Neurogenesis. *Adv Exp Med Biol, 1331*, 77-94. https://doi:10.1007/978-3-030-74046-7_7

Ribeiro, M. F., Santos, A. A., Afonso, M. B., Rodrigues, P. M., Sá Santos, S., Castro, R. E., . . . Solá, S. (2020). Diet-dependent gut microbiota impacts on adult neurogenesis through mitochondrial stress modulation. *Brain communications, 2*(2), fcaa165. https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa165

Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms, 7*(1). https://doi:10.3390/microorganisms7010014

Riva, A., Sahin, E., Volpedo, G., Petretto, A., Lavarello, C., Di Sapia, R., . . . Ravizza, T. (2024). Identification of an epilepsy-linked gut microbiota signature in a pediatric rat model of acquired epilepsy. *Neurobiology of Disease, 194*, 106469. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2024.106469

Ruan, M., Bu, Y., Wu, F., Zhang, S., Chen, R., Li, N., . . . Wang, H. (2021). Chronic consumption of thermally processed palm oil or canola oil modified gut microflora of rats. *Food Science and Human Wellness, 10*(1), 94-102. https://doi:10.1016/j.fshw.2020.06.005

Rubio, C., Luna, R., Rosiles, A., & Rubio-Osornio, M. (2020). Caloric restriction and ketogenic diet therapy for epilepsy: a molecular approach involving Wnt pathway and KATP channels. *Frontiers in Neurology, 11*, 584298. doi: https://doi.org/10.3389/fneur.2020.584298

Sampson, T. R., Debelius, J. W., Thron, T., Janssen, S., Shastri, G. G., Ilhan, Z. E., . . . Mazmanian, S. K. (2016). Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and

Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell, 167*(6), 1469-1480.e1412. https://doi:10.1016/j.cell.2016.11.018

Saré, R. M., Lemons, A., & Smith, C. B. (2021). Behavior Testing in Rodents: Highlighting Potential Confounds Affecting Variability and Reproducibility. *Brain Sci, 11*(4). https://doi:10.3390/brainsci11040522

Sarubbo, F., Cavallucci, V., & Pani, G. (2022). The Influence of Gut Microbiota on Neurogenesis: Evidence and Hopes. *Cells, 11*(3), 382. https://doi.org/10.3390/cells11030382

Segú, H., Jalševac, F., Pinent, M., Ardévol, A., Terra, X., & Blay, M. T. (2022). Intestinal Morphometric Changes Induced by a Western-Style Diet in Wistar Rats and GSPE Counter-Regulatory Effect. *Nutrients, 14*(13). https://doi:10.3390/nu14132608

Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol, 14*(8), e1002533. https://doi:10.1371/journal.pbio.1002533

Sharsher, S. I., Ahmed, A. I., Metwally, M., Arisha, A. H., & Ahmed, K. E.-D. (2022). Intermittent Fasting Decreases Oxidative Stress Parameters and Increases Total Antioxidant Capacity. http://dx.doi.org/10.33263/BRIAC125.67636775

Shohayeb, B., Diab, M., Ahmed, M., & Ng, D. C. H. (2018). Factors that influence adult neurogenesis as potential therapy. *Transl Neurodegener, 7*, 4. https://doi:10.1186/s40035-018-0109-9

Sim, H., Lee, T.-K., Yoo, Y. H., Ahn, J. H., Kim, D. W., Kim, B., . . . Won, M.-H. (2021). Increased Calbindin D28k Expression via Long-Term Alternate-Day Fasting Does Not Protect against Ischemia-Reperfusion Injury: A Focus on Delayed Neuronal Death, Gliosis and Immunoglobulin G Leakage. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(2), 644. https://doi:0.3390/ijms22020644

Singh, T., Mishra, A., & Goel, R. K. (2021). PTZ kindling model for epileptogenesis, refractory epilepsy, and associated comorbidities: relevance and reliability. *Metabolic Brain Disease, 36*(7), 1573-1590. https://doi:10.1007/s11011-021-00823-3

Snyder, J. S., & Drew, M. R. (2020). Functional neurogenesis over the years. *Behav Brain Res, 382*, 112470. https://doi:10.1016/j.bbr.2020.112470

Stangl, D., & Thuret, S. (2009). Impact of diet on adult hippocampal neurogenesis. *Genes & nutrition, 4*(4), 271-282. https://doi.org/10.1007/s12263-009-0134-5

Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., . . . Hen, R. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Molecular psychiatry, 16*(12), 1177-1188. https://doi.org/10.1038/mp.2011.48

Thom, M. (2014). Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. *Neuropathol Appl Neurobiol, 40*(5), 520-543. https://doi:10.1111/nan.12150

Todkar, K., Scotti, A., & Schwaller, B. (2012). Absence of the calcium-binding protein calretinin, not of calbindin D-28k, causes a permanent impairment of murine adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in Molecular Neuroscience, 5*. https://doi:10.3389/fnmol.2012.00056

Tozuka, Y., Fukuda, S., Namba, T., Seki, T., & Hisatsune, T. (2005). GABAergic excitation promotes neuronal differentiation in adult hippocampal progenitor cells. *Neuron, 47*(6), 803-815. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.08.023

Unterberger, I., Trinka, E., Kaplan, P. W., Walser, G., Luef, G., & Bauer, G. (2018). Generalized nonmotor (absence) seizures-What do absence, generalized, and nonmotor mean? *Epilepsia, 59*(3), 523-529. https://doi:10.1111/epi.13996

Van der Staay, F. J., Arndt, S. S., & Nordquist, R. E. (2009). Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behav Brain Funct, 5*, 11. https://doi:10.1186/1744-9081-5-11

Van Luijtelaar, G., Onat, F., & Gallagher, M. J., (2014). Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter?. NEUROBIOLOGY OF DISEASE , vol.72, 167-179. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.014

Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., & Warter, J. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience letters, 33*(1), 97-101. https://doi.org/10.1016/0304-3940(82)90136-7

Vicario-Abejón, C., Johe, K. K., Hazel, T. G., Collazo, D., & McKay, R. D. (1995). Functions of basic fibroblast growth factor and neurotrophins in the differentiation of hippocampal neurons. *Neuron, 15*(1), 105-114. https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90068-3

Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols, 2*(2), 322-328. https://doi:10.1038/nprot.2007.44

Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull, 83*(3), 482-504. https://doi:10.1037/0033-2909.83.3.482

Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol, 217*(6), 1915-1928. https://doi:10.1083/jcb.201708007

White, H. S., Smith, M. D., & Wilcox, K. S. (2007). Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Int Rev Neurobiol, 81*, 85-110. https://doi:10.1016/s0074-7742(06)81006-8

White, T. A., Miller, S. L., Sutherland, A. E., Allison, B. J., & Camm, E. J. (2024). Perinatal compromise affects development, form, and function of the hippocampus part one;

clinical studies. *Pediatr Res, 95*(7), 1698-1708. https://doi:10.1038/s41390-024-03105-7

Wooden, J. I., Thompson, K. R., Guerin, S. P., Nawarawong, N. N., & Nixon, K. (2021). Chapter Eight - Consequences of adolescent alcohol use on adult hippocampal neurogenesis and hippocampal integrity. In R. L. Bell & S. Rahman (Eds.), *International Review of Neurobiology* (Vol. 160, pp. 281-304): Academic Press. https://doi.org/10.1016/bs.irn.2021.08.005

Yagi, S., & Galea, L. A. M. (2019). Sex differences in hippocampal cognition and neurogenesis. *Neuropsychopharmacology, 44*(1), 200-213. https://doi:10.1038/s41386-018-0208-4

Youssef, F. F., Ramchandani, J., Manswell, S., & McRae, A. (2008). Adult-onset calorie restriction attenuates kainic acid excitotoxicity in the rat hippocampal slice. *Neuroscience letters, 431*(2), 118-122. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.11.064

Yuan, J., & Munson, J. (2017). Quantitative Immunohistochemistry of the Cellular Microenvironment in Patient Glioblastoma Resections. *Journal of Visualized Experiments*. https://doi:10.3791/56025

Yuan, T. F., Gu, S., Shan, C., Marchado, S., & Arias-Carrión, O. (2015). Oxidative Stress and Adult Neurogenesis. *Stem Cell Rev Rep, 11*(5), 706-709. https://doi:10.1007/s12015-015-9603-y

Yue, Q., Cai, M., Xiao, B., Zhan, Q., & Zeng, C. (2022). The Microbiota-Gut-Brain Axis and Epilepsy. *Cell Mol Neurobiol, 42*(2), 439-453. https://doi:10.1007/s10571-021-01130-2

Yuskaitis, C. J., Modasia, J. B., Schrötter, S., Rossitto, L. A., Groff, K. J., Morici, C., . . . Sahin, M. (2022). DEPDC5-dependent mTORC1 signaling mechanisms are critical for the anti-seizure effects of acute fasting. *Cell Rep, 40*(9), 111278. https://doi:10.1016/j.celrep.2022.111278

Zhang, M., & Wu, C. (2020). The relationship between intestinal goblet cells and the immune response. *Bioscience Reports, 40*(10). https://doi:10.1042/BSR20201471

Zhao, Y., & Zhao, B. (2013). Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev, 2013*, 316523. https://doi:10.1155/2013/316523

9. BİLİMSEL FAALİYETLER

Makale

Gökçeoğlu-Kayalı, D., Berkyürek, M. A., Özdemir-Kumral, Z. N., & Çilingir-Kaya, Ö. T. (2025). The Sex-Dependent Ameliorative Effect of Intermittent Fasting on Urinary System Functions in Genetic Absence Epileptic Rats. Biology, 14(2), 158. https://doi.org/10.3390/biology14020158

Cerit, K. K., Koyuncuoğlu, T., Akcan, B., Çağatay, N. S., Üçem, S., Erdoğan, Ö., ... & Yeğen, B. Ç. (2025). Estrogen Alleviates Oxidative Bowel Injury and Neuroinflammation in Necrotizing Enterocolitis. Journal of Surgical Research, 305, 367-384. https://doi.org/10.1016/j.jss.2024.12.003

Gok, G. D., Halicioglu, K., Keles, A., Olgac, N. V., Kayali, D., & Kaya, O. T. C. (2024). Effects of isotretinoin on tooth movement, orthodontically induced and non-orthodontic root resorption: A micro-CT study. Orthodontics & Craniofacial Research, 27(6), 974-984. https://doi.org/10.1111/ocr.12840

Şen, A., Ertaş, B., Çevik, Ö., Yıldırım, A., Kayalı, D. G., Akakın, D., ... & Şener, G. (2023). Cotinus coggygria Scop. Attenuates acetic acid-induced colitis in rats by regulation of inflammatory mediators. Applied Biochemistry and Biotechnology, 195(11), 7021-7036. https://doi.org/10.1007/s12010-023-04474-1

Kayali, D., Korhan, B. E., Cavdaroglu, S., Sen, A., & Aktas, R. G. (2022). Assessment of cytotoxic and apoptotic effects of extracts of Tanacetum Argenteum Subsp. Argenteum in liver and breast cancer cell lines. Research and Science Today, (2), 307-321. https://doi.org/10.38173/RST.2022.24.2.23:307-321

Dönmez Çakıl, Y., Özünal, Z. G., Gökçeoğlu Kayalı, D., Sağlam, E., & Aktaş, R. G. (2023). Anti-proliferative effects of paroxetine alone or in combination with sorafenib in HepG2 cells. https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e201148

Donmez Cakil, Y., Akbulut, Z., Maras, H., Gokceoglu Kayali, D., & Gulhan Aktas, R. (2022). Collagen type I induces a balance in the expression of anti-and pro-apoptotic genes in hepatocellular carcinoma cells. Middle East Journal of Cancer, 13(1), 89-98. https://doi.org/10.30476/mejc.2021.85875.1312

Donmez Cakıl, Y., Gunes Ozunal, Z., Gokceoglu Kayalı, D., & Gulhan Aktas, R. (2021). The expression of CD44, CD90 and CD133 in response to cisplatin in hepatocellular cancer cells. European Journal of Clinical and Experimental Medicine, (1), 18-22. https://doi.org/10.15584/ejcem.2021.1.3

Babayev, H., Arabaci-Tamer, S., Yildirim, A., Kayali, D., Ercan, F., Yegen, C., ... & Yeğen, B. Ç. (2021). Sleeve gastrectomy–induced endocrine changes in the remnant stomachs of premenopausal and postmenopausal rats: role of the estrogen receptors. Surgery for Obesity and Related Diseases, 17(1), 193-207. https://doi.org/10.1016/j.soard.2020.08.011

Cakil, Y. D., Sitar, M. E., & Ozunal, Z. G. (2021). Flow cytometric evaluation of cancer stem cell markers in HepG2 cells following sorafenib treatment. https://doi: 10.14744/ijmb.2021.63935

Arıcan, E. Y., Gökçeoğlu Kayalı, D., Ulus Karaca, B., Boran, T., Öztürk, N., Okyar, A., ... & Özhan, G. (2020). Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats. Sci Rep 10: 8985. (2020) https://doi.org/10.1038/s41598-020-65887-0

Keleş, R., Şen, A., Ertaş, B., Kayali, D., Eker, P., Şener, T. E., ... & Şener, Göksel (2020). The effects of Urtica dioica L. ethanolic extract against urinary calculi in rats. J Res Pharm, 24(2), 205-217. https://doi.org/10.35333/jrp.2020.137

Cakir, O. K., Ellek, N., Salehin, N., Hamamcı, R., Keleş, H., Kayalı, D. G., ... & Özbeyli, D. (2017). Protective effect of low dose caffeine on psychological stress and cognitive function. Physiology & behavior, 168, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.10.010

Bildiri (Sözel veya Poster)

Gökçeoğlu-Kayalı, D, Özdemir-Kumral, Z. N., Berkyürek M. A., Çilingir-Kaya, Ö. T,The Effects of Intermittent Fasting on Urinary System Functions in Genetic Absence Epileptic Rats in Terms of Gender Differences,16th National and 2st International Congress of Histology and Embryology - NICHE 2024, İstanbul, 26 - 28 EYLÜL 2024

Gökçeoğlu-Kayalı, D, Toplu A., Özdemir-Kumral, Z. N, Çıkı B., Çilingir-Kaya Ö. T., Genetik absans epilepsili sıçanlarda aralıklı açlığın nörogenez üzerine etkilerinin incelenmesi,16th National and 2st International Congress of Histology and Embryology - NICHE 2024, İstanbul, 26 - 28 EYLÜL 2024Makale

Arican Y. E., Gökçeoğlu-Kayalı, D, Ercan F., Özhan G. (2017). The Biochemical And Histopathological Evaluation Of Cytotoxic Effects Of Acetamipride, A Neonicotinoid Insecticide, On Rat Testis. 15th International Congress Of Histochemistry And Cytochemistry "From Molecules To Diseases"(15), 393-393., Doi: 10.5505/2017ichc.Pp-189 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No: 8052109)

Arican Y. E., Gökçeoğlu-Kayalı, D, Ercan F., Özhan G (2017). The acetamipride, a neonicotinoid insecticide, inhibits cell proliferation and induces apoptosis on rat testis. 13th Multinational Congress on Microscopy(13), 352-352. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No: 8052229)

Gökçeoğlu-Kayalı, D, Göksel Ş., Şen A., Çetinel Ş., Zeytuncu G. B. (2018). Investigation Of The Effect Of Trachystemon Orientalis (L.) G. Don (Boraginaceae) Plant On Kidney Stone Formation. "7th International Alliance Of Urolithiasis (Iau) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8305055)

Arican Y. E., Gökçeoğlu-Kayalı, D, Ulus-Karaca B., Boran T., Ercan F., Özhan G., (2019). The Histological Assessment For Reproductive Effects In Male Rats Exposed To Acetamiprid. 3rd International Health Sciences Conference (IHSC 2019)(3), 632-646., Doi: 10.13140/RG.2.2.25502.00327 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8052483)

Kayali D, Aktaş R. G., Korhan B. E., Çavdaroğlu S. (2020). Effects Of High Dose Insulin On Cell Proliferation And Alpha Feto Protein Expression In Human Liver Cancer Cell Line Models. 3rd International Biltek Conference On Science, Technology &Amp; Current Developments In Social SCIENCES, 122-133. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8305066)

Gökçeoğlu-Kayalı, D, Şen A., Aktaş R. G., Korhan B. E., Çavdaroğlu S. (2020). İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hatti Üzerinde Tanacetum Argenteum Subsp. Argenteum Bitkisinin Çeşitli Ekstraktlarinin Antikanser Aktivitelerinin İncelenmesi 3rd

International Biltek Conference On Science, Technology &Amp;amp; Current Developments In Social Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8305076)

Aktaş R. G., Akbulut Z., Maraş H., Dönmez Ç. Y., Kayali D., Karagöz K. A.,, Sitar M., E. Kisakol B., Baysan M. (2020). Modulation Of Yap1 Expression And Other Related Signaling Pathways In Hepg2 Cells By Extracellular Matrix, Contact Inhibition And Cell Density. American Association For The Study Of Liver Diseases- The Liver Meeting, 72(1), 239 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No: 8284209)

Akbulut Z., Aktaş R. G., Maraş H., Dönmez Ç. Y., Kayali D., Karagöz K. A.,, Sitar M., E. (2019). The Effect of 3D- Microenvironment and Level of Collagen Type I on Immunomodulatory Genes, WNT Signalling Pathway and Alpha-Fetoprotein Expression in Hepatocellular Carcinoma Cells: A Genomic, Morphological and Functional Comparative Study. International Molecular Medicine Symposium by the Bosphorus (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8284540)

Proje

Gökçeoğlu-Kayalı, D (Yürütücü), Çıkı B., Sancaklı B., Cilt ile bütünleşen nanoteknolojik yara örtüsü üretimi. TÜBİTAK 1812- Yatırım Tabanlı Girişimcilik Destek Programı (BiGG Yatırım) (2024-2026)

Gökçeoğlu-Kayalı, D. (Araştırmacı), Özdemir-Kumral, Z. N., & Çilingir-Kaya, Ö. T. Aralıklı Açlık Uygulamasının Sıçan Absans Epılepsı Modelınde Gelışen Testıs Hasarı Üzerındekı Etkılerının Hıstolojık Açıdan Değerlendırılmesı TÜSEB A Grubu Acil Ar-Ge Projesi (2024-2025)