



Tıp Fakültesi

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KETOJENİK DİYET VE KALORİ KISITLI DİYETİN ANTİ-
İNFLAMATUVAR ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. ŞEYDA KARABULUT

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2019



Tıp Fakültesi

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KETOJENİK DİYET VE KALORİ KISITLI DİYETİN ANTI-
İNFLAMATUVAR ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. ŞEYDA KARABULUT

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. DİLŞAD TÜRKDOĞAN

İSTANBUL 2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez çalışmamın planlanması ve gerçekleşmesinde değerli bilgi ve katkılarını benimle paylaşan, her zaman bana yol gösterici olan tez danışmanım Prof. Dr. Dilşad Türkdoğan'a,

Çocuk Nöroloji Bilim Dalı uzmanı Dr. Gülten Thomas Öztürk'e

Uzmanlık eğitimi boyunca her zaman değerli bilgi ve tecrübeleriyle bize yol gösteren, eğitimimde çok büyük emeği olan değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşe Gülnur Tokuç ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Perran Boran başta olmak üzere tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışmanın yürütülmesinde büyük desteği olan, yolumu aydınlatan Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Göksel Şener'e ve tüm ekibine katkıları, destekleri ve sabırları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın yürütülmesinde katkılarından dolayı Marmara Üniversitesi Klinik Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Goncagül Üstünel Haklar'a ve Uzm. Dr. Rana Turkal'a teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım değerli abi ve ablalarım, her konuda olduğu gibi tezimde de tüm sevinçlerimi ve üzüntülerimi paylaşan, tezimin ilerlemesinde sonsuz katkı sağlayan, Dr. Ayşenur Ürer, Dr. Merve Selçuk ve Dr. Nida Ayhan'a, ayrıca hastanede de bir ailemin olduğunu hissettiren Dr. Hakan Günhan'a ve tüm eşkıdemlerime, tezimdeki desteklerinden dolayı çalışma arkadaşlarım Dr. Mehmet Alican Yılmaz'a ve Dr. Nazlı Büşra Yılmaz'a, tüm kıymetli asistan arkadaşlarıma, varlıklarını her daim yanımda hissettiğim lise ve üniversite sınıf arkadaşlarım sevgili kardeşlerim Dr. Nilay Bakır'a ve Dr. Hakan Kaçar'a teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca sevgi ve destekleriyle yanımda olan, emeklerini ödeyemeyeceğim başta sevgili babam ve annem olmak üzere, her zaman yanımda olan ablam ve kardeşime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin yapımını ve yürütülmesini Marmara Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi desteklemiştir.

Dr. Şeyda Karabulut

Eylül 2019

ÖZET

Giriş ve Amaç: Diyet uygulamaları epilepsi tedavisinde, cerrahi tedavi ve yeni antiepileptik ilaçların (AEİ) artan sayısına rağmen son zamanlarda tekrar güncellik kazandığı için ketojenik diyetler ve kalorisi kısıtlanmış standart diyetler (açlık) yeniden kullanılmaya başlanmıştır. Bu diyetlerin faydalı sonuçları genellikle ketozise bağlanmaktadır. Ketojenik diyetle yüksek yağ, düşük protein ve karbonhidratların aynen açlıkta olduğu gibi ketozise neden olduğu öne sürülmüştür. Bu diyetler ile lipid metabolizmasının arttığı ve inflamatuvar hastalıkların azaldığı düşünülür. Ketozis yapan bu diyetlerle immün sistem düşük glukoz düzeylerine adapte olur ve metabolizma mitokondriyal yağ asiti oksidasyonu, ketogenezis ve ketolizis yönüne doğru kayarak inflamasyonu azaltır. Ancak kritik hastalığı olanlarda diyetle doku tiplerine ve enfeksiyon çeşitlerine göre akut inflamasyon cevabı artmış ya da azalmış şekilde gerçekleşebilir. Bu cevabın değişiminde postprandiyal veya postabsorptif zamanlarında etkisinin olduğu çok yeni literatürlerde dikkat çekmeye başlamıştır. Kliniğimizde diyet terapileri nöbet kontrolü için sıkça uygulanmaktadır. Bu diyetlerin hastalarımızda immunoglobulin seviyelerinde değişiklik yapmadan ağır enfeksiyonlara yatkınlık oranını arttırdığını gözlemlediğimiz için kullanılan diyet terapilerinin akut inflamasyona cevaplarını çalışmamızda karşılaştırmak istedik.

Ketojenik diyetin ve KKD'nin epilepsili hastalara mevcut nöbetleri azaltmasıyla bilişsel fonksiyonları düzelttiği de düşünülür şeklinde veriler vardır. Diyet terapilerinin epilepsi dışında kanser, otizm gibi hastalıklarda da kullanımı gündemdedir; ancak bu konudaki veriler azdır. Bu amaçla gündemde olan bu diyet terapilerinin sağlıklı yavru sıçanlarda bilişsel fonksiyonlar üzerindeki etkisini kıyaslamak istedik.

Standart diyetin (SD), KD'in, kalorisi kısıtlanmış ketojenik diyetin (KKKD) ve KKD'in, inflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, TNF-a) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri üzerindeki etkisini kıyaslayarak akut inflamasyon ilişkili hastalıklara sahip

olanlarda, kişiye en uygun diyet şeklinin seçilebilmesine aracılık etmek ve bellek üzerine etkilerini anlayabilmek çalışmamızda hedeflenmektedir.

Yöntem: Çalışmada 54 tane 6 haftalık Wistar tipi dişi rat kullanıldı. Ratlar 5 gruba ayrıldı. Tüm ratların bazal tartısı alındıktan sonra gruplara 7 haftalık süre ile SD (n=12) ad libidum, KD (n=15) ad libidum, KKKD (n=15) ve KKD (n=12) verildi. Su tüm gruplara ad libidum şeklinde verildi. Tüm gruplar iki haftada bir tartıldı. Glikoz ve β -hidroksibutirat (BOHB), deneyin 2. haftasında ketozisin kontrolü amacı ile oftalmik ven kullanılarak kandan glikoz ve keton stripleri ile Optimum Xeed marka ölçüm cihazı kullanılarak ölçüldü (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois). 6. haftanın sonunda diyet terapilerinin uzun ve kısa dönem bellek üzerine etkilerini kıyaslayabilmek için KD (n=10), KKKD (n=10), KKD (n=10) ve SD (n=10) alan ratlara Morris su labirenti testi ve yeni obje tanıma testi uygulandı. 7. haftanın sonunda SD alan altı rata intraperitoneal (ip) salın, diğer tüm ratlara ip LPS (lipopolisakkarit) (150 mcg/kg) yapılarak akut inflamasyon oluşturuldu. Sonra tüm gruplardan intrakardiyak kan alınıp serumda BOHB, akut inflamatuvar sitokinlerden IL-1, IL-6, TNF-a ve antioksidan olarak SOD düzeylerine ELISA yöntemi ile bakıldı. İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17.0 programı yardımıyla gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmada 54 tane 6 haftalık Wistar tipi dişi rat kullanılmıştır. Ağırlık değişimleri diyet gruplarına göre karşılaştırılmış ve anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). SD+SDLPS grubundaki 7 haftalık tartı değişim yüzdesi (%36,19 $\pm$ 8,73), KD grubuna (%14,53 $\pm$ 8,43), KKKD grubuna (%5,01 $\pm$ 12,14) ve KKD grubuna (% -9,36 $\pm$ 8,88) göre daha fazladır. Ölçülen glikoz değerlerindeki değişimin gruplar arasında karşılaştırılması sonucu anlamlı ilişki bulunamamıştır ($p=0,828$). BOHB değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. KD(59,40 $\pm$ 5,56 umol/L), KKKD (60,24 $\pm$ 4,62 umol/L), KKD (61,75 $\pm$ 3,85 umol/L) gruplarının BOHB değerleri SDLPS (50,69 $\pm$ 2,82 umol/L), SD (46,65 $\pm$ 4,38 umol/L) gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). SOD düzeyleri gruplara göre karşılaştırılmıştır. Buna göre KD (11,00 $\pm$ 5,44U/ml), KKKD(14,51 $\pm$ 4,47U/ml), KKD (12,49 $\pm$ 6,07U/ml) gruplarının SOD değeri benzer; ama SDLPS(6,86 $\pm$ 2,19U/ml) ve

SD ($6,39 \pm 3,86$ U/ml) gruplarına göre daha yüksektir ($p=0,007$). IL-1 ($p=0,087$) ve TNF-a ($p=0,077$) değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı ilişki saptanamamıştır. IL-6 gruplar arasında karşılaştırıldığında; KKD grubunun IL-6 değerinin diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p=0,004$). Sağlıklı, dişi, yavru, ratlar üzerinde uygulanan diyet terapilerinin uzun ve kısa bellek üzerine etkileri kıyaslanmış ancak aralarında anlamlı bir fark saptanamamıştır.

Sonuç ve Tartışma: Ketozis anti-inflamatuvar yanıtta anlamlı değişiklik yapmamıştır; IL-6 sadece KKD ile belirgin azalmıştır. Bu diyet terapileri anti-inflamatuvar etkiler açısından kıyaslandığında belirlenemeyen bir nedenle IL-6'yı sadece KKD azaltmıştır. TNF-a ve IL-1 düzeyleri tüm diyet terapilerinde SDLPS grubundaki gibi yükselmiştir. Ancak bu durumda kanların postprandiyal ve postabsortif fazda alınması gibi saatin önemi olabilir. Literatürde sitokin düzeylerinin postabsortif fazda azaldığı belirtilmiştir; ancak bizim numune toplama zamanımız postprandiyal zamana denk gelmektedir. Ya da diğer deneylerden farklı olarak bizim deneyimizde sağlıklı dişi yavru ratlar kullanılmıştır, bu durum stres yanıtının fazla olmasına neden olmuş olabilir. Verilerimize bakıldığında SD ve KD'lere göre KKD'de IL-6 yanıtı düşüktür. IL-6 hem proinflamatuvar hem de anti-inflamatuvar etkisi olan bir sitokindir. KKD'de IL-6'nın anti-inflamatuvar faza geçtiği düşünülmüştür. Sağlıklı dişi ratlarda diyet terapilerinin uzun ve kısa bellek fonksiyonları üzerine etkisinin olmadığı çalışmamızda gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ketojenik diyet, kalorisi kısıtlı diyet, akut inflamasyon, bellek, antioksidan etki, nöroprotektif etki

ABSTRACT

Introduction and Purpose: Despite the increasing number of new antiepileptic drugs (AEDs) and surgical treatment, various dietary practices in the treatment of epilepsy have recently been updated again. While the beneficial results of fasting are attributed to ketosis, it has been suggested that high fat, low protein and carbohydrates in the diet cause ketosis just as fasting. For this purpose, ketogenic diet (KD) and calorie restricted diet (CR) used in antiepileptic treatment have been shown to have therapeutic effects in neurological diseases both in clinical studies and animal experiments. There are also studies advocating that KD increases or decreases cognitive functions. It is thought that KD and CR reduce seizures by reducing seizures. In addition, dietary treatments change the response to acute inflammation in critically ill patients. In caloric restriction (CR) and fasting, the immune system adapts to low glucose levels and the metabolism shifts towards mitochondrial fatty acid oxidation, ketogenesis and ketolysis, reducing inflammation. We also observed improvement in cognitive functions in patients using these dietary therapies independent of seizure control in our clinic. Therefore, we aimed to compare the responses of dietary treatments to acute inflammation and their effects on memory. We compared the effect of the standard diet (SD) on the calorie-restricted ketogenic diet (CRKD) and CR on the levels of inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α) and superoxide dismutase (SOD). The aim of this study is to compare the effects of diet on memory and mediate the selection of the most appropriate diet in patients with acute inflammation-related diseases.

Method: 54 Wistar type 6 weeks old female rats were used in this study. Rats were divided into 5 groups. After basal weighing of all rats, CD (n = 12) ad libidum, KD (n = 15) ad libidum, CRKD (n = 15) and CR (n = 12) were given to the groups for 7 weeks. Water was given to all groups as ad libidum. All groups were weighed every two weeks. Glucose and β -hydroxybutyrate (BOHB) were measured using blood glucose and ketone strips from the ophthalmic vein using the Optimum Xeed brand device (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois) to control ketosis at

week 2 of the experiment. At the end of the 6th week, Morris' water maze experiment and new object recognition test were applied to rats to compare the effects of diet therapies on long and short term memory. (KD (n=10), CRKD (n=10), CR (n=10) and CD (n=10)). At the end of the 7th week, 6 rats receiving CD were given intraperitoneal (ip) saline and ip rats (lipopolysaccharide) (150 mcg/kg) for acute inflammation. Then, intracardiac blood was collected from all groups and serum levels of BODB, IL-1, IL-6, TNF- α and acute antioxidant SOD levels were measured by ELISA. Statistical analysis was performed using of SPSS version 17.0.

Results: 54 female 6 weeks old Wistar rats were used in this study. Weight changes were compared according to diet groups and a significant relationship was found ($p < 0.001$). The 7-week weight change percentage in the CD+CDLPS group ($\%36,19 \pm 8,73$) was higher than in the KD ($\%14,53 \pm 8,43$) CRKD ($\%5,01 \pm 12,14$) and CR ($\%-9,36 \pm 8,88$) group. No significant relationship was found between the groups as a result of comparison of the changes in the measured glucose levels ($p = 0.828$). BOHB levels were compared between the groups. CD (46.65 ± 4.38) group's BOHB level (umol/L) was lower than the other groups. SOD levels (U/ml) were compared according to groups. According to this, SOD levels of KD ($11,00 \pm 5,44$), CRKD ($14,51 \pm 4,47$) and CR ($12,49 \pm 6,07$) groups were similar. but it was higher than CDLPS (6.86 ± 2.19) and CD (6.39 ± 3.86) groups ($p = 0.007$). IL-1 ($p = 0.087$) and TNF- α ($p = 0.077$) levels were compared between the groups, no significant relationship was found. IL-6 levels were compared between the groups; IL-6 levels of CR were lower than the other groups ($p = 0.004$). The effects of dietary therapies on long and short memory of healthy female rats were compared but no significant difference was found between them.

Ketosis did not significantly alter the anti-inflammatory response; however, IL-6 decreased markedly in KKD. Only CR reduced IL-6. TNF- α and IL-1 levels were increased in all dietary therapies as in the CDLPS group. In this case, however, time can be of importance as blood is collected in the postprandial and postabsorptive phase. It has been reported in the literature that cytokine levels decrease in the postabsorptive phase. However, our sample collection time corresponds to the

postprandial time. Or, unlike other experiments, female rats have been used in our experience, which may have caused a high stress response. According to the data, In CR, there is a low IL-6 response compared to SD and KD. IL-6 is a proinflammatory and anti-inflammatory cytokine. IL-6 was considered to have entered the anti-inflammatory phase in KKD. It has been shown that dietary therapies have no effect on long and short memory functions in healthy female rats.

Keywords: Ketogenic diet, calorie restricted diet, acute inflammation, memory, antioxidant effect, neuroprotective effect

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Doğal Bağışıklık ve Bileşenleri.....	3
2.1.1 Doğal bağışıklık.....	3
2.1.2 Sitokinler.....	7
2.1.2.1 IL-1.....	7
2.1.2.2 IL-6.....	8
2.1.2.3 TNF-a	10
2.1.3 Doğal bağışıklık yanıtı olarak inflamasyon	11
2.1.4 Okidatif stres ve antioksidanlardan süperoksit dismutaz.....	13
2.1.4.1 Serbest oksijen radikalleri	13
2.1.4.2 Antioksidan enzim olarak: Süperoksit Dismutaz	15
2.2 Epilepsi.....	18
2.2.1 Epilepsi tanımı ve sınıflandırılması	18
2.2.2 Epilepside temel mekanizmalar	19
2.2.3 Epilepsinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi	21
2.2.4 Epilepsi tedavisi.....	22
2.2.4.1 Antiepileptik İlaç Tedavisi	22
2.2.4.2 Cerrahi tedavi	23
2.2.4.3 Ketojenik diyet tedavisi.....	23
2.2.4.4 Kalori kısıtlanması	40

3. MATERYAL VE METOD.....	47
3.1 Hayvan Bakımı.....	47
3.2 Diyet tedavisi.....	47
3.3 Deney Protokolü.....	48
3.4 Keton ve Glikoz Ölçümü.....	49
3.5 Morris Su Labirenti Testi	50
3.6 Yeni Obje Tanıma Testi	50
3.7 Serum Analizi.....	51
3.7.1 Serum TNF- α analizi	52
3.7.2 Serum IL-1 β analizi	52
3.7.3 Serum IL-6 analizi	53
3.7.4 Serum BOHB analizi	53
3.7.5 Serum SOD aktivite ölçümü	54
3.7.8 İstatiksel analiz	54
4. BULGULAR.....	56
4.1 Ağırlık Değişimleri.....	56
4.2 Glukoz Düzeyleri	59
4.3 Beta-Hidroksi Bitürat Ölçümleri	60
4.4 Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	61
4.5 İnterlökin-1 Düzeyleri	62
4.6 İnterlökin-6 Düzeyleri	63
4.7 Tümör Nekroz Faktör-a Düzeyleri	64
4.8 Morris Su Labirenti Testi ve Yeni Obje Tanıma Testi.....	65
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇLAR	74
7. KAYNAKÇA	75
8. EKLER.....	85
Ek 1. Farklı Ketojenik Diyet İçerikleri ve Artıları/Eksileri (83).....	85
Ek 2. Dirençli epilepsisi olan hastalarda farklı KD tiplerinin etkileri (83)	86
Ek 3. Etik Kurul Onayı.....	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.	Doğal Bağışıklıktaki 4 hücre reseptör ailesi ve yerleşimleri	4
Şekil 2.	TLR'lerin Yapıları ve Özgüllüğü	5
Şekil 3.	NLRP-3 İnflamazom etkinleşmesi ile pro-IL-1 β 'nın etkin IL-1 β 'a dönüşümü	6
Şekil 4.	Beslenme ilişkili NLRP3 inflamazom aktivasyonu	7
Şekil 5.	Oksijenin elektron alarak indirgenmesi	14
Şekil 6.	Enzimatik antioksidanlar, hücreleri korumak için ROS'u doğrudan veya dolaylı olarak nötralize edebilir. Enzimatik olmayan antioksidanlar, antioksidan enzimi teşvik ederek veya doğrudan oksidatif zincir reaksiyonunu işleyerek oksidatif etkiyi nötralize edebilir	17
Şekil 7.	ILAE 2017 Epilepsi nöbetlerinin sınıflandırılması	19
Şekil 8.	Karnitin Mekiği	26
Şekil 9.	Yağ asitlerinin beta oksidasyonun enzimatik basamakları.....	27
Şekil 10.	Keton sentezi	29
Şekil 11.	Ketonun periferik dokularda kullanımı	29
Şekil 12.	Ketojenik Diyetin Potansiyel Mekanizmaları.....	32
Şekil 13.	KD'in nöroprotektif etki mekanizmaları	36
Şekil 14.	FOXO transkripsiyon faktörlerinin büyüme faktörleri ile negatif regülasyonu ve FOXO faktörlerinin oksidatif ve besinsel stres uyarıcıları ile pozitif regülasyonu.	42
Şekil 15.	Doku homeostazında FOXO transkripsiyon faktörlerinin rolü.	43
Şekil 16.	Grupların haftalara göre ağırlık değişimi	57
Şekil 17.	Grupların 7 haftalık ağırlık farkı değerleri	58
Şekil 18.	Gruplara göre BOHB değerleri.....	61
Şekil 19.	Gruplara göre SOD değerleri.....	62
Şekil 20.	Grupların IL-6 değerleri	64
Şekil 21.	Gruplara göre günlük yüzme testi sonuçları.....	66
Şekil 22.	Gruplara göre günlük yüzme testi sonuçları (Graphpad Prism)	66
Şekil 23.	Yeni obje tanıma testinde gruplar arası fark skoru (Graphpad Prism)	67

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. Diyet İçerikleri.....	48
Tablo 2. Deney Grupları	49
Tablo 3. Ölçülen ağırlıkların gruplara göre karşılaştırılması.....	56
Tablo 4. Grupların haftalara göre ağırlık değişimleri	57
Tablo 5. Gruplar arasında 7 haftalık tartı farkının karşılaştırılması.....	58
Tablo 6. 7 haftalık tartı farkı yüzdesi.....	59
Tablo 7. Gruplar arasında glikoz değerlerinin karşılaştırılması.....	60
Tablo 8. Gruplar arasında BOHB değerlerinin karşılaştırılması	60
Tablo 9. Gruplar arasında SOD değerinin karşılaştırılması.....	62
Tablo 10. Gruplar arasında IL-1 değerinin karşılaştırılması.....	63
Tablo 11. Gruplar arasında IL-6 değerinin karşılaştırılması.....	63
Tablo 12. TNF alfa değerinin gruplara göre karşılaştırılması	65
Tablo 13. Grupların günlük yüzmeye testi sonuçlarının karşılaştırılması.....	65
Tablo 14. Gruplar arasında Discrimination Index karşılaştırması	67
Tablo 15. Gruplar arasında Preferential Index karşılaştırması	67

KISALTMALAR

AEİ	: Antiepileptik ilaç
ALR	: AIM2 benzeri reseptör
ASC	: Apoptoz ilişkili Speck-benzeri protein (adaptor)
ASD	: Otizm spectrum bozukluğu
BDH1	: Beta hidroksi dehidrogenaz
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BHOB	: Beta-hidroksibütirat
CASP1	: Kaspaz-1
CAT	: Katalaz
CLR	: C tip lektin benzeri reseptör
CNTF	: Siliyer nörotrofik faktör
COX	: Siklooksijenaz
CT-1	: Kardiyotrofin faktör
CYP	: sitokrom p450 enzimleri
DAMPs	: Hasar ilişkili molekül
EAE	: Deneysel otoimmün ensefalopati
EPSP	: Uyarıcı post-sinaptik potansiyel
ETZ	: Elektron taşıma zinciri
GABA	: Gaba aminobütirik asit
GPx	: Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
ICE	: İnterlökin-1 dönüştürücü enzim
IL	: İnterlökin
IL-1a	: İnterlökin-1alfa
IL-1Ra	: İnterlökin-1 reseptör antagonisti
IL-1β	: İnterlökin-1β
IL-6R	: İnterlökin-6 reseptörü
iNOS	: İndükte edilebilir nitrik oksit sentaz
Ip	: İntraperitoneal
IPSP	: Baskılayıcı postsinaptik potansiyel
KD	: Ketojenik diyet
KK	: Kalori kısıtlanma
KKD	: Kalorisi kısıtlanmış diyet
KKKD	: Kalorisi kısıtlı ketojenik diyet
LGIT	: Düşük glisemik index diyeti
LIF	: Lösemi inhibe edici faktör
LPS	: Lipopolisakkarit
MAD	: Modifiye atkins diyeti
MCT	: Orta zincirli trigliserid diyeti
MIP	: Makrofaj yapısal protein
MPO	: Myeloperoksidaz
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MS	: Multipl skleroz

NET	: Ekstrasellüler Traps
NLR	: NOD benzeri reseptör
NPY	: Nöropeptid-Y
O ₂ .	: Süperoksit radikali
O ₂ :	: Oksijen molekülü
O3KD	: Omega-3 ketojenik diyet
OH.	: Hidroksil radikali
ÖKD	: Ökalorik ketojenik diyet
OSM	: Onkostatin M
PAMPs	: Patojen ilişkili molekül
PMN	: Polimorfonükleer nötrofil
PRR	: Patojen tanıyan reseptör
RLR	: RIG-I benzeri reseptör
ROS	: Reaktif oksijen radikali
SD	: Standart diyet
SOD	: Süperoksit dismutaz
TGF- β	: Değişim büyüme faktörü-beta
TLR	: Toll benzeri reseptör
TNF-a	: Tümör nekroz faktör-alfa
TNFR	: TNF reseptörü
TRADD	: TNF ilişkili ölüm alanı protein
TrkB	: BDNF reseptörü
UCP	: Uncoupling protein

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyet uygulamaları epilepsi tedavisinde, cerrahi tedavi ve yeni antiepileptik ilaçların (AEİ) artan sayısına rağmen son zamanlarda tekrar güncellik kazandığı için ketojenik diyetler ve kalorisi kısıtlanmış standart diyetler (açlık) yeniden kullanılmaya başlanmıştır. Bu diyetlerin faydalı sonuçları genellikle ketozise bağlanmaktadır. Ketojenik diyetle yüksek yağ, düşük protein ve karbonhidratların aynen açlıkta olduğu gibi ketozise neden olduğu öne sürülmüştür. Bu diyetler ile lipid metabolizmasının arttığı ve inflamatuvar hastalıkların azaldığı düşünülür. Ketozis yapan bu diyetlerle immün sistem düşük glukoz düzeylerine adapte olur ve metabolizma mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu, ketogenezis ve ketolizis yönüne doğru kayarak inflamasyonu azaltır. Ancak kritik hastalığı olanlarda diyetle doku tiplerine ve enfeksiyon çeşitlerine göre akut inflamasyon cevabı artmış ya da azalmış şekilde gerçekleşebilir. Bu cevabın değişiminde postprandiyal veya postabsorptif zamanlarında etkisinin olduğu çok yeni literatürlerde dikkat çekmeye başlamıştır. Kliniğimizde diyet terapileri nöbet kontrolü için sıkça uygulanmaktadır. Bu diyetlerin hastalarımızda immunoglobulin seviyelerinde değişiklik yapmadan ağır enfeksiyonlara yatkınlık oranını arttırdığını gözlemlediğimiz için kullanılan diyet terapilerinin akut inflamasyona cevaplarını çalışmamızda karşılaştırmak istedik.

Ketojenik diyetin ve KKD'nin epilepsili hastalara mevcut nöbetleri azaltmasıyla bilişsel fonksiyonları düzelttiği de düşünülür şeklinde veriler vardır. Diyet terapilerinin epilepsi dışında kanser, otizm gibi hastalıklarda da kullanımı gündemdedir; ancak bu konudaki veriler azdır. Bu amaçla gündemde olan bu diyet terapilerinin sağlıklı yavru sıçanlarda bilişsel fonksiyonlar üzerindeki etkisini kıyaslamak istedik.

Standart diyetin (SD), KD'in, kalorisi kısıtlanmış ketojenik diyetin (KKKD) ve KKD'in, inflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, TNF-a) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri üzerindeki etkisini kıyaslayarak akut inflamasyon ilişkili hastalıklara sahip

olanlarda, kiŖiye en uygun diyet Ŗeklinin Ŗeilebilmesine aracılık etmek ve bellek üzerine etkilerini anlayabilmek alıŖmamızda hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Doğal Bağışıklık ve Bileşenleri

2.1.1 Doğal bağışıklık

Tüm çok hücreli canlılar mikroorganizmaların yol açtığı enfeksiyonlardan ve zedelenmiş hücrelerden korunmak amacı ile konak savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu duruma doğal direnç veya doğal bağışıklık denilmektedir (1).

Doğal bağışıklık polimorfonükleer lökosit, monosit, makrofaj vb hücrelerden oluşur. Organizmanın ilk koruma hattını oluştururlar. Bu hücrelerin bazıları hasar alanında birikip fagositoz yaparak inflamatuvar yanıtı başlatırlar (2).

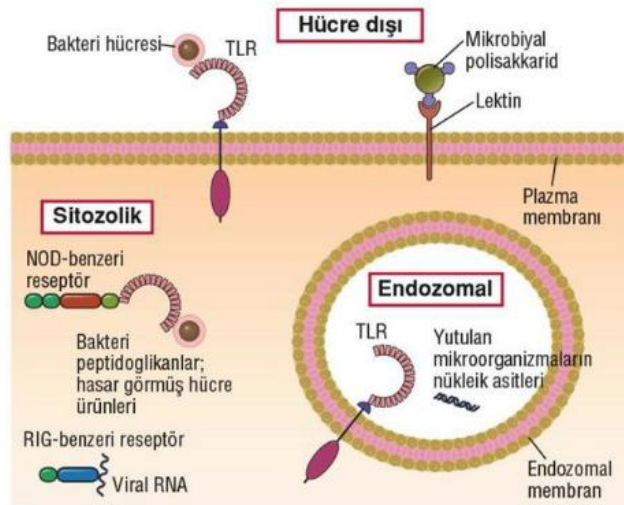
Doğal bağışıklık sistemi, konakçı hücrede olmayan ancak mikroorganizmalarda ortak olarak bulunan bazı mikrobiyal molekülleri tanır. Örneğin, fagositoz yapan hücreler bazı bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit (LPS) ve bakteri glikoproteinlerinde yer alan terminal mannoz yapısını tanırlar. Doğal bağışıklığı uyaran bu mikrobiyal moleküllere patojen ilişkili moleküller (PAMPs) denir. Bu yapıları tanıyan konakçıdaki doğal bağışıklık reseptörlerine ise patojen tanıyan reseptörler (PRR) denir. PRR'ler fagosit, dendritik hücreler, epitelyal hücreler gibi farklı hücrelerin yüzeyinde yer alabilirler. Bazıları da yüzeyde değil endoplazmik retikulumlarda mikrobiyal ürünlerin olduğu veziküllere (endozomlara) geçerler veya sitozolde ortaya çıkarlar (1).

Doğal bağışıklık ayrıca hasara uğramış hücrelerden açığa çıkan molekülleri de tanır. Bu moleküllere hasar ilişkili moleküller (DAMPs) denir. DAMPs'lara gelişen yanıt ile doku onarım mekanizmaları uyarılır (1).

Patojen ilişkili moleküller ve DAMPs'lar için bulunan PRR'ler birçok alt tipe ayrılırlar. PRR'ler beş farklı reseptör ailesinden oluşur. Protein bölgelerine göre sınıflandırılmışlardır. Bunlar;

1. Toll-benzeri reseptörler (TLR)
2. NOD benzeri reseptörler (NLR)
3. C tip lektin reseptörler (CLR)
4. RIG-I benzeri reseptörler (RLR)
5. AIM2 benzeri reseptörlerdir (ALR). (2)

Patojen tanıyan reseptörler içinde en iyi bilinenler Toll-benzeri reseptörlerdir (Toll-Like Receptors, TLR) (2). Bazı TLR'ler hücre yüzeyindedir. Bazıları endozomda yer alır. Endozomda yer alanlar hücre içi mikroorganizmaları tanırlar (1) (Şekil 1).



Şekil 1. Doğal Bağışıklıktaki 4 hücre reseptör ailesi ve yerleşimleri (1)

Toll-benzeri reseptör 1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR10 hücre yüzeyindedir. TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, TLR11, TLR12 ve TLR13 hücre içinde endozomlarda bulunurlar. Her bir TLR farklı mikroorganizmalara karşı özgüllük gösterir. Bunlardan birkaçı şöyledir:

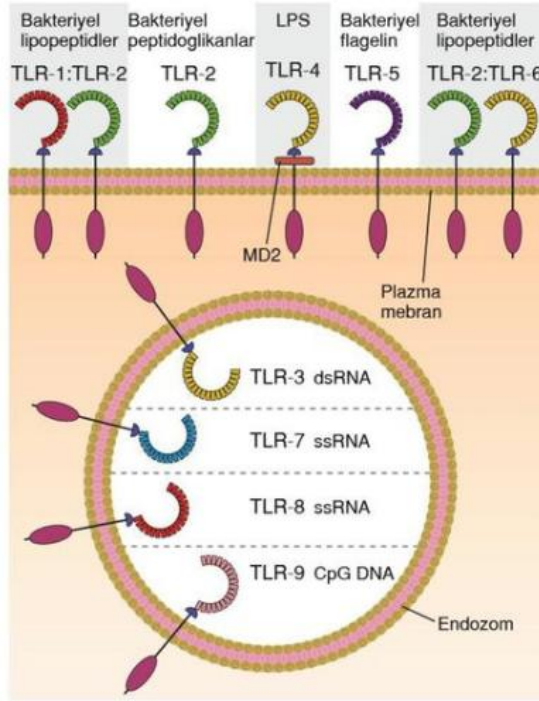
TLR-2: Bakteri Peptidoglikanlarını

TLR-3,7 ve 8: Viral Nükleik asitleri (dsRNA)

TLR-4: LPS'i (endotoksin)

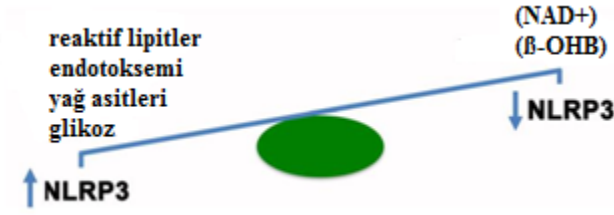
TLR-5: Bakteri Flagelin

TLR-9: Metillenmemiş CpG oligonükleotidlerini tanır. (Şekil 2)



Şekil 2. TLR'lerin Yapıları ve Özgüllüğü (1)

NOD-benzeri reseptörler ise sitoplazmadaki DAMPs ve PAMPs'ları tanır. En iyi bilineni NLRP-3'tür (NOD-benzeri reseptör pirin içeren alan 3). NLRP-3 mikroorganizma ürünlerini ve bazı kimyasal değişimleri (ürük asit kristalleri, hücre potasyum seviyeleri, kolesterol kristalleri ve serbest yağ asitleri) algılar. Bu değişimlerle uyarılınca protein ve prokaspaz-1 ile oligomerize olur. Kaspaz-1 etkinleşir. Kaspaz-1, pro-IL1 β 'yı parçalayarak IL-1 β 'yı (akut inflamasyonu uyarır) oluşturur (1) (3) (Şekil 3)



Şekil 4. Beslenme ilişkili NLRP3 inflamazom aktivasyonu (3)

2.1.2 Sitokinler

Doğal bağışıklığın hücresel yanıtını yöneten sitokinler, çözünür veya membrana bağlı öncü protein veya glikoprotein haberci moleküller grubudur. Moleküler ağırlıkları 8 ila 40,000 Da arasında değişir. Lökositlerin birbirleriyle ve diğer hücrelerle iletişiminden sorumludurlar (5). Başlıca kaynakları mikroorganizma ile uyarılan dendritik hücreler, makrofajlardır. LPS gibi bir bakteriyel yapıtaşı sitokinlerin güçlü uyaranları arasındadır (1). 200'den fazla sitokin tanımlanmıştır: interlökinler (IL), büyüme faktörleri, kemokinler, interferonlar, hematopoietinler ve koloni uyarıcı faktörler gibi. Sitokinler proinflamatuvar (örneğin IL-1, IL-6, TNF- α (tümör nekroz faktör-alfa), TGF- β (dönüştürücü büyüme faktörü- β) ve anti-inflamatuvar (örneğin IL-1Ra, IL-4, IL-10, IL-13) olarak ayrılmıştır. Proinflamatuvar sitokinler genel olarak, anti-inflamatuvar sitokinler veya sitokin reseptörü spesifik antagonistleri tarafından inhibe edilebilirler (5).

2.1.2.1 IL-1

Proinflamatuvar sitokindir. IL-1alfa (IL-1 α) ve IL-1beta (IL-1 β) şeklinde 2 formu vardır. (6) Ayrıca IL-1 ailesinde bir anti-inflamatuvar ajan olarak çalışan IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra veya IL-1RN), IL-18, IL-33 de bulunmaktadır. IL-1 sitokin genleri (IL-1 α , IL-1 β ve IL-1Ra), 2q12-21 kromozomu üzerinde bulunur. IL-1 hemen her hücreye etkilidir. TNF- α ile uyumlu çalışır. İmmün ve nöroendokrin sistemler

arasında önemli bir moleküler bağ olarak rol oynar. Vücut ısısının düzenlenmesi (endojen pirojen), ağrı ve iştah gibi süreçlerde önemli bir rolü vardır. IL-1, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak nötrofillerin ve diğer hücrelerin yapışmasını destekler (5).

IL-1a: 31 kDa öncü bir protein olan ProIL-1 a olarak olgunlaşmamış formda sentezlenir. Olgun form, N-terminal amino asitlerin ProIL-1a'dan çıkarılmasıyla meydana gelir. Bununla birlikte, hem Pro-IL-1a hem de olgun IL-1a biyolojik olarak aktiftir. Olgun formda işlenmesi, plazma membranı ile ilişkili olan kalpain olarak adlandırılan kalsiyum bağımlı, membranla ilişkili sistein proteazının aktivasyonunu gerektirir. IL-1a'nın proinflamatuvar özellikleri, aterosklerotik vasküler hastalıklara neden olabilir (5).

IL-1 β : ProIL-1 β olarak sentezlenir. ProIL-1 β , IL-1 dönüştürücü enzim (ICE) / kaspaz-1 (CASP1) ile proteolitik bölünme ile IL-1 β 'ye dönüşür (5). IL-1 β , inflamasyonun ana araçlarından biridir. Temelde makrofajlar tarafından üretilerek doku hasarı veya patojenlere karşı doğal immün yanıtı başlatır (1).

2.1.2.2 IL-6

İnterlökin-6, inflamasyon ve enfeksiyona yanıtın dışında metabolik, rejeneratif ve nöronal işlemlerin düzenlenmesinde de rol oynar (7). IL-6 ilk önce aktif B hücreleri tarafından antikor üretimini indükleyen bir B hücresi farklılaşma faktörü olarak tanımlanmıştır. Sonrasında B hücrelerinin farklılaşmasını ve T hücrelerinin aktivasyonunu teşvik ettiği görülmüştür (8).

İnterlökin-6 üzerindeki, IL-6 reseptörüne (IL-6R) bağlanınca, fonksiyonlarını yapmaya başlar. Çeşitli hücreler tarafından sentezlenebilir (8). Fibroblastlar, endotel hücreleri, B ve T lenfositler, hepatositler, keratinositler, glial hücreler ve kemik iliği stroma hücreleri IL-6 yapabilen hücrelerdir (9). Ama genel olarak bu sitokin ana kaynakları, akut inflamasyonda inflamasyon bölgesindeki monositler ve makrofajlar,

kronik inflamasyonda ise T hücreleridir. Normal koşullarda, IL-6 seviyesi düşüktür. Seviyeleri stres altında hızla yükselir. Çok sayıda çalışma, IL-6'nın, hematopoez ve enfeksiyon veya travma bölgelerinde nötrofillerin göçü gibi doğal immün sistemin yanıtlarında rol oynadığını gösterir (8). Ek olarak, bu sitokin, akut faz proteinleri olarak C-reaktif protein, serum amiloid A ve fibrinojen sentezini artırır (1).

Akut inflamasyonda proinflamatuvar sitokin olarak davranırsa da anti-inflamatuvar aktiviteye de sahiptir. Anti-inflamasyondaki rolü çeşitli gözlemlere dayanmaktadır. IL-6'nın, aktif B hücrelerinin nükleer faktör kappa-hafif zincirleştirici olarak adlandırılan transkripsiyon faktörünün aktivitesini ve bu hücrelerin lenfoid dokulara alınması için gereken dendritik hücreler üzerindeki kemokin reseptörünün ekspresyonunu inhibe ederek immünosupresif özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, IL-6 sinyalleri alternatif makrofaj aktivasyonunu teşvik eder. Mikrobisidal aktivitelerini inhibe eder. Ek olarak, IL-6 aynı zamanda, IL-1Ra'nın ve TNF için çözünür p55 reseptörünün ekspresyonunu da aktifler. Bu ortamlarda, IL-6 sadece akut inflamasyonun indüklenmesinde değil, inflamasyonun çözülmesinde de rol oynar (8).

Son zamanlarda IL-6 sitokin ailesi tanımlanmıştır. IL-6, IL-11, siliyer nörotrofik faktör (CNTF), lösemi inhibe edici faktör (LIF), oncostatin M (OSM), kardiyoprofin 1 (CT-1), kardiyoprofin benzeri sitokin (CLC) ve IL-27 'den oluşan bir ailedir. Bu aileye ait sitokinler birbirleriyle uyumlu; fakat aynı zamanda da farklı biyolojik aktivitelere sahiptir: hepatik akut faz reaksiyonunun düzenlenmesinde, B hücresi stimülasyonunda, regülatör ve efektör T hücreleri arasındaki dengenin düzenlenmesinde, metabolik düzenleme de bu aktiviteler arasındadır. IL-6 ailesindeki sitokinlerin blokajının otoimmün hastalıklarda faydalı olduğu gösterilmiştir (10).

2.1.2.3 TNF-a

Kaşektin, nekrozin ve hemorajik faktör olarak da adlandırılan proinflamatuvar bir sitokindir (11). Hücre içi bir N terminale sahip bir tip II transmembran proteindir. Hem membranla bütünleşmiş bir protein hem de proteolitik bölünmeden sonra salınan çözünür bir sitokin olarak sinyal verme potansiyeline sahiptir (12).

Tümör nekroz faktör-a, makrofajlar ve lenfositler tarafından salınır. Tümör hücrelerinin çoğalmasını baskılar. Hücre farklılaşması, apoptozis, doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemi üzerinde önemli etkileri bulunur (11). Lipid metabolizması, koagülasyon, insülin direnci, endotelial fonksiyon süreçlerinde de önemli rolü vardır (13).

Hücre proliferasyonu ve sitokin üretimi için reseptörlerine bağlanır. İki TNF reseptörü vardır: Vücuttaki çoğu hücrede bulunan TNFRI ve temel olarak hemopoietik hücrelerde eksprese edilen TNFRII. TNFRI, çözünür ligand, TNFRII ise membran ile entegre form ile aktive edilir. TNF-a, kendi reseptörü olan TNFR-1 ile , inflamasyonu iletir. TNFR1, genellikle tüm hücrelerde yaygın olarak bulunur. TNF- α ile etkileşimi sonucunda proinflamatuvar aktiviteler tetiklenir. TNFR1, TNFR ilişkili ölüm alanı proteinini (TRADD) aracılığıyla çeşitli sinyalleşme kompleksleri ile etkileşir. Hücresel sağ kalıma veya apoptoza neden olur (11).

Tümör nekroz faktör-a oksidatif stresi indükleyen transkripsiyonel yolları da aktive eder. Daha sonra bu stres ve inflamasyonun her biri ile etkileşime girer. TNF-a tarafından gerçekleştirilen proinflamatuvar aktiviteler, prostaglandin oluşumunu ve COX-2'nin (siklooksijenaz-2) indüksiyonunu da içerir. TNF-a'nın ayrıca arterlerin duvarlarındaki inflamatuvar kaskadları başlatıp tromboza neden olduğu da rapor edilmiştir (14).

İnterlökin-1 β ile beraber vazodilatasyon ve damar dışına sıvı geçişi ile hipotansiyon, myokard kasılma fonksiyonunun azalmasına da neden olarak septik şoktaki erken dönem bulgularına yol açar (1).

2.1.3 Doğal bağışıklık yanıtı olarak inflamasyon

Vasküler dokuların enfeksiyon, toksin maruziyeti ve hücre hasarı sonrasında plazma proteinleri ve lökositlerin damar dışına göçünü uyardığı reaksiyonlara ‘inflamasyon’ denir (1). Organizmayı iç ve dış tehditlere karşı koruyan bir mekanizmadır. Bu mekanizma ile organizma, bakteri, virus, mantar gibi dış etkenlerden veya kendi dokularında oluşan tümör veya doku antijenlerinden kendini korumaya çalışır. Bu nedenlerle inflamasyon akut-kronik veya allerjik, otoimmün, enfeksiyöz olarak sınıflandırılabilir (1).

Patojenlere karşı organizmanın 2 temel mekanizması vardır. Bunlardan ilki doğal bağışıklık sistemidir. Bu sistem, makrofajları, çeşitli mediatörler salgılayan hücreleri (eozinofil, mast hücreleri, bazofiller) ve doğal öldürücü hücreleri (natural killer) kullanır. Doğal bağışıklık sisteminin moleküler komponentleri ise kompleman, akut faz proteinleri ve sitokinlerden (interferon gibi) oluşur. Buna karşın kazanılmış bağışıklık sistemi ise her karşılaşmada kendisini geliştirerek daha güçlü cevap veren sistemdir. Antijen ile karşılaşınca yüzey reseptörleri ile bağlanan ve çoğalan T ve B hücrelerinden oluşur. Antijen sunan hücreler olarak adlandırılan hücreler T hücrelerine antijen sunar. Uyarılarak çoğalmalarını sağlar (15).

Akut inflamasyon, proinflatuar sitokinlerin yerini anti-inflatuar sitokinlerin almasıyla enfeksiyon kontrolü ve doku tamiri yaparak koruyucu etkinlik gösterir. Böylece akut inflamasyon kendini sınırlayabilir. Eğer enfeksiyöz ajanlar veya doku hasarı elimine edilemezse, inflamatuar süreç yeni bir karakteristik özellik kazanarak aynı zamanda da doku hasarı ve hastalığa da neden olabilir (1) (16).

Inflamasyon süreci birkaç aşamadan oluşur:

1. Hücrelerin birikimi
2. Damarlardan plazma proteinlerinin sızması
3. Mikroorganizmaların ve ölü artıkların fagositler tarafından yakalanıp yutulması

4. Zararlı maddelerin yok edilmesi (1)

Nötrofiller ve monositler konakçı hücrelerinden salgılanan kemokinler sayesinde enfeksiyon bölgesine veya doku hasarı olan yere göç ederler. Makrofajlar da, aktifleşmiş nötrofillerden salgılanan MIP- α ve MIP- β (makrofaj yangısal proteinler) sayesinde enfeksiyon bölgesine giderler. Enfeksiyon etkenini, makrofajlar tanıyınca bu duruma sitokin üreterek yanıt verirler. Bu sitokinlerden en önemli ikisi TNF-a ve IL-1'dir (17). Bu sitokinler damar yüzeyinde selektinlerin (yapışma molekülü) belirmesine neden olurlar. Nötrofil ve monositler selektine gevşek bağlanarak endotel yüzeyinde lökosit yuvarlanma işlemini gerçekleştirirler. Lökositler ayrıca üzerlerinde integrin de taşırlar. İntegrinler de bağlanma molekülleridir. TNF-a ve IL-1, integrinin endotel üzerindeki bağcıklarının sayısını arttırlar. Kemokinler sayesinde integrinler endotel yüzeyindeki bağcıklarına bağlanınca lökosit yuvarlanma işlemi son bulur. Böylece lökositlerin damar dışındaki enfeksiyon bölgesine göçü sağlanmış olur (1).

Mikroorganizmalar ve ölü artıklar yüzey reseptörlerine bağlanınca fagositler tarafından yutulurlar (fagositoz). Bu fagositik reseptörlerin başlıcaları PRR, antikor ve kompleman reseptörleridir. Fagositoz sonrasında veziküller oluşur. Bu yapıya fagozom adı verilir. Fagozom ise lizozom ile birleşir ve fagolizozom meydana gelir. Bu olayların devamında fagolizozomda çeşitli enzimler aktiflenir: fagosit oksidaz, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), lizozomal proteazlar. Fagosit oksidaz, moleküler oksijeni süperoksit anyonuna ve reaktif oksijen radikallerine (ROS) çevirir. iNOS, arjinini nitrik oksit (NO, mikrobisidal madde)'e çevirir. Lizozomal proteazlar, mikrobiyal proteinleri parçalar. Böylece hücre içi öldürme gerçekleşir (1).

Hücre dışı öldürme de ise nötrofiller içeriklerini hücre dışına boşaltıp çekirdek içeriklerini değiştirerek konakçı savunmada rol oynarlar. Değişen içerik ile nötrofil extrasellüler Traps(NETs) denen başka güçlü antimikrobiyal proteinler oluştururlar. NETs ile mantarlar ve bakteriler yakalanır. Ama bu durumda hücre dışına boşalmış yapılar nedeni ile ROS oluşup doku hasarı da meydana gelebilir (1).

2.1.4 Oksidatif stres ve antioksidanlardan süperoksit dismutaz

2.1.4.1 Serbest oksijen radikalleri

Oksidatif stres, antioksidan mekanizmalar ile ROS üretimi arasındaki dengesizliktir. ROS oluşumunun artması, oksidatif stresi tetikler. Stres tetiklenince antioksidan enzim sistemi aktive olur. Hücrenin fonksiyonel yapısı ve savunma sistemi bozulduğundan hücre savunma yapamaz ve DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler hasar görür (18) (19).

Serbest oksijen radikalleri, inflamasyonun ilerlemesinde önemli rol oynayan anahtar sinyal moleküllerindendir. İnflamasyon alanındaki polimorfonükleer nötrofiller (PMN'ler) tarafından üretilir. Endotel disfonksiyonuna ve doku hasarına neden olur. Damar endoteli, makromoleküllerin ve inflamatuvar hücrelerin kandan dokuya geçişinde önemli bir rol oynar. İnflamasyonda, PMN'ler tarafından üretilen oksidatif stres, endotelyal kavşakların açılmasına yol açar. İnflamatuvar hücrelerin endotel bariyeri boyunca geçişini teşvik eder (20).

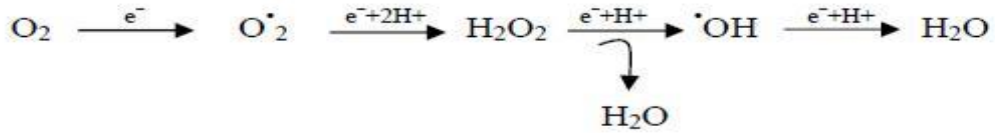
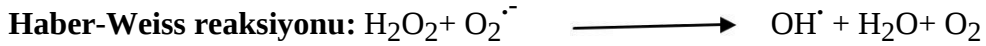
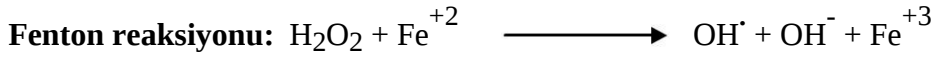
Serbest oksijen radikalleri, güçlü oksitleyici özelliklere sahip kısmen indirgenmiş oksijen metabolitleri olarak tanımlanır. Düşük konsantrasyonlarda da sinyalleşme fonksiyonları vardır. Yüksek konsantrasyonlarda hücrelere zararlıdır; çünkü protein ve lipid hücresel bileşenlerini okside ederler ve DNA'ya zarar verirler. “Fizyolojik konsantrasyonlarda” ROS, hücre büyümesini, hücrelerin diğer hücrelere yapışmasını, farklılaşmayı, yaşlanmayı ve apoptozu düzenleyen sinyal molekülleri olarak işlev görür (20).

Vücudumuzda en önemli ROS oksijenden (O_2) oluşan radikallerdir. Vücuda alınan O_2 'in yaklaşık %3-5'i ROS'a çevrildiği için ROS hücrede devamlı üretilmektedir (21). O_2 ; süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) oluşturmak için tek elektron kabul eder. Oksijenin dört elektron alma yeteneği vardır. Tek elektron aldığı anda $O_2^{\cdot-}$ meydana gelir (22). Bir tane eşleşmemiş elektron taşıdığı için bir radikaldir ama çok

zararlı değildir. Önemi hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı olmasından dolayıdır (23). $\text{O}_2^{\cdot-}$ bir elektron daha kabul ettiğinde H_2O_2 meydana gelir (22)

Hidrojen peroksit radikal değildir, daha sonraki basamakta radikal olan hidroksil radikali'ini ($\text{OH}\cdot$) oluşturur. H_2O_2 'nin Fe^{+2} ve diğer elementler varlığında (Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Ni, Mo) indirgenmesiyle $\text{OH}\cdot$ oluşur. (Fenton reaksiyonu) ya da H_2O_2 'nin $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikali ile reaksiyona girmesiyle de (Haber-Weis reaksiyonu) oluşmaktadır (24).

Son basamaktaki $\text{OH}\cdot$ (en güçlü reaktif oksijen türüdür, lipid peroksitleri ve organik radikaller üreten zincir tepkimelerini başlatır) bir elektron daha alarak suya dönüşür (22) (Şekil 5).



Şekil 5. Oksijenin elektron alarak indirgenmesi (22)

Hücredeki oksidatif stresin ana kaynağı O_2 anyonunun mitokondriyal üretimidir (25). ROS, mitokondride elektron taşıma zincirinde (ETZ) sitokrom P450 (CYP) aracılığıyla hücresel metabolizmanın yan ürünleri olarak üretilir (20). Bu nedenle CYP enzimleri oksidatif stresin belirteçleri olarak kabul edilir. ETZ'de oksidatif fosforilasyonla ATP oluşur. Ara ürün olarak da hücre hasarına sebep olabilecek $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $\text{OH}\cdot$ salınır. Radikal oluşturan esas bölge mitokondrinin iç membranında yer alır. Moleküler oksijenin %98'i, mitokondrial bir enzim olan sitokrom c oksidaz tarafından katalizlenerek suya indirgenir. O_2 'i suya indirmek yerine, mitokondriyal ETZ'deki elektronlardan bazıları $\text{O}_2^{\cdot-}$ oluşturmak için kaçır.

$O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 bu radikallerdendir ve üretimleri %1-2 kadardır. H_2O_2 mitokondriden sitoplazmaya salınır; ama $O_2^{\cdot -}$ salınmaz. Literatürler bu radikallerin çoğunlukla ETZ kompleks-1'i tarafından üretildiğini göstermektedir (24) (26).

Intramitokondrial SOD (süperoksit dismutaz), $O_2^{\cdot -}$ 'i H_2O_2 'e dönüştürerek hücreleri oksidatif hasardan korur (25).

Diğer ROS ana kaynakları ise çeşitli hücrelerde, özellikle de fagositlerde ve endotel hücrelerinde bulunan NADPH oksidazlarıdır (20). Mikroorganizmaların fagositozu sonrasında bağışıklık sistemi NADPH oksidaz, miyeloperoksidaz ve iNOS ile sırasıyla $O_2^{\cdot -}$, HOCL ve nitrik oksit (NO) üretir. Bu toksik metabolitler fagositte edilen mikroorganizmaların öldürmelerine neden olur. Ama aynı zamanda çevredeki doku bileşenlerine de zarar verebilir (22). Örneğin; Nitrik oksit ($NO\bullet$) bir adet çiftlenmemiş elektrona sahiptir. Bu nedenle reaktif oksijen türü olarak kabul edilir. $O_2^{\cdot -}$ ile reaksiyona girer ve peroksinitrit ($ONOO^-$) serbest radikalini oluşturur (27).

Ksantin oksidaz, NADH oksidaz, amin oksidaz, aldehit oksidaz, dihidrooratat dehidrogenaz gibi enzimler vücudumuzda enzimatik yolla direkt olarak serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açan diğer oksidan enzimlerdir (28).

2.1.4.2 Antioksidan enzim olarak: Süperoksit Dismutaz

Antioksidanlar serbest radikallere karşı koyar ve oksidanları nötralize ederler (29). Antioksidan moleküller; endojen veya ekzojen oksidan molekülerin hücreye zarar vermesini önleyen, enzimatik veya nonenzimatik yapılardır (30).

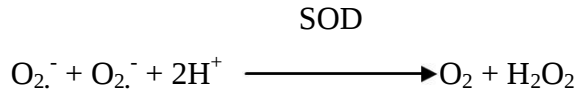
Endojen antioksidan sistemi genel olarak:

(1) Enzimatik antioksidanlar : SOD, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ve tioredoksin izoformları (Trx)

- (2) Hidrofilik antioksidanlar: Üre, askorbat, nonezimatik glutatyon (GSH), glutatyon disülfid (GSSG) ve flavonoidler
- (3) Lipofilik radikal antioksidanlar: Tokoferol, karotenoid ve ubiquinol'den oluşur (29) (Şekil 6)

Enzimatik antioksidanlar, ROS'u nötralize edebilme kabiliyetleri nedeniyle oksidatif hasara karşı daha etkili bir koruyucu etkiye sahiptir. Bu nedenle, bu antioksidanlar akut hiperoksi, radyasyon hasarı, ve iltihaplanma vb durumlarda önemli rol oynarlar (29).

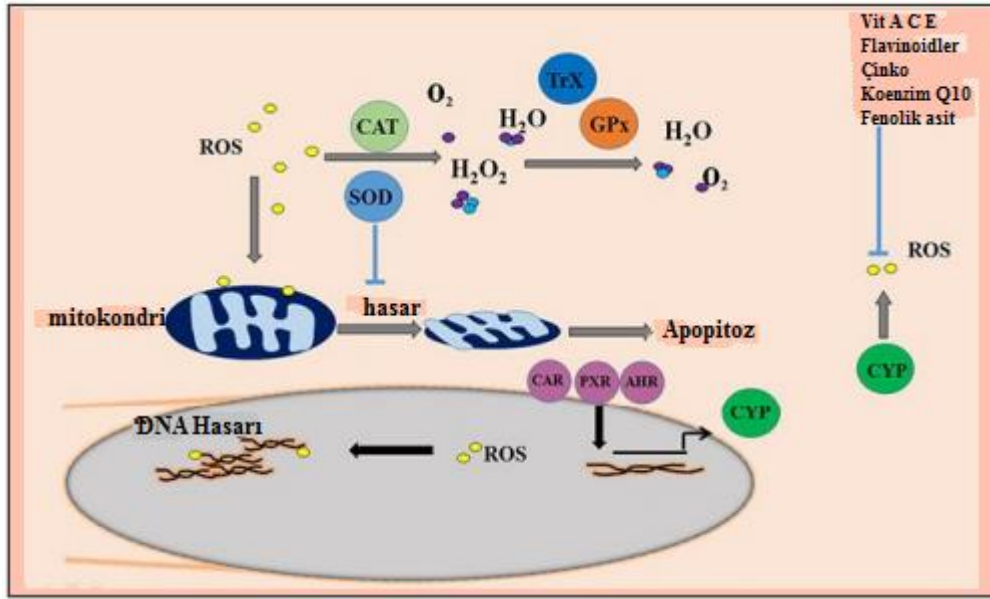
Süperoksit dismutaz invivo olarak bilinen en iyi antioksidanlardandır. İnsanda bulunan SOD'lar, sitozolik (CuZn-SOD), mitokondriyal (Mn-SOD) ve hücre dışı SOD olarak sınıflandırılabilirler. SOD, süperoksit radikallerinin H_2O_2 ve O_2 dönüştürerek oksidatif sistemde birinci savunma hattını oluşturur (29).



Böylece membranı geçemeyen süperoksit radikali membranı geçebilen H_2O_2 dönüşmektedir (31).

Biriken ROS ve serbest radikaller nedeni ile ,mitokondride oksidatif hasarı engellemek için Mn-SOD ekspresyonu artar. ROS birikimi mitokondriyal geçirgenliği indükleyebilir ve mitokondriyal membran stabilitesini bozabilir. Mitokondriyal dış zarın bozulması, sitokrom c ve serin proteaz gibi diğer proapoptotik faktörlerin salgılanmasına neden olur (29).

Süperoksit dismutaz ile H_2O_2 oluştuğunda radikal olmamasına rağmen sonrasında $OH^{\cdot}$ oluşumunu önlemek için suya indirgenmesi zorunludur (31). Bu nedenle SOD aktivitesindeki artışın oluşturabileceği H_2O_2 birikmesi ancak CAT ve GPx enzimlerinin artan aktiviteleri ile kontrol edilebilir. Düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 'i Gpx parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise CAT aktivite kazanır (32).



Şekil 6. Enzimatik antioksidanlar, hücreleri korumak için ROS'u doğrudan veya dolaylı olarak nötralize edebilir. Enzimatik olmayan antioksidanlar, antioksidan enzimi teşvik ederek veya doğrudan oksidatif zincir reaksiyonunu işleyerek oksidatif etkiyi nötralize edebilir. (29)

Hücreleri korumak için ROS antioksidanlar ile nötralize edilmeye çalışılır, çünkü literatür, ROS'un neden olduğu oksidatif hasarın ve ardından hücre ölümünün, diyabet, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve amiotrofik lateral skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Ayrıca, ROS'un kanserin ilerlemesinde ve yaşlanma sürecinde de rol oynadığı gösterilmiştir (33).

2.2 Epilepsi

2.2.1 Epilepsi tanımı ve sınıflandırılması

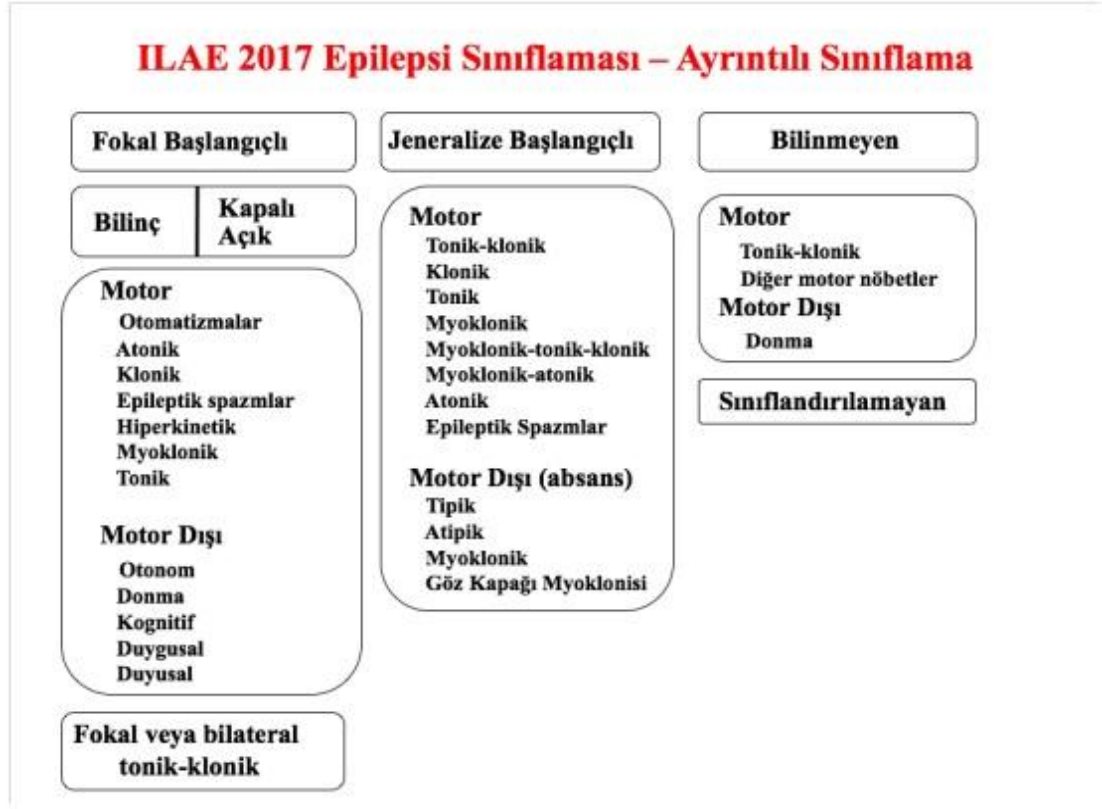
Nöbet, beyinde aşırı veya senkronize nöronal aktiviteden kaynaklanan geçici bulgu ve/veya semptomların olduğu nörolojik fonksiyon (motor, duyuşal veya otonomik) değişikliğidir (34).

Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize sık görülen bir durumdur. Epilepsi iki ya da daha fazla uyarılmamış nöbetin olduğu tekrarlayan nöbetler olarak tanımlanır. Bu tanım ile bazı uyarılmış nöbetler dışlanır (metabolik anormallikler, inme, travma, menenjit, ateşin neden olduğu nöbetler gibi). Epilepsi; 2005'te nöbet üretmek için kalıcı yatkınlıkla karakterize edilen bir beyin hastalığı olarak tanımlandı (35).

ILAE tarafından 2014 yılında yapılan epilepsi tanımlaması ise;

- (1) 24 saatten fazla ara ile meydana gelen en az iki provoke edilmemiş (veya refleks) nöbetin olması;
- (2) Bir provoke edilmemiş (veya refleks) nöbet ve sonraki 10 yıl içinde gerçekteşen iki provoke edilmemiş nöbetten sonra en az % 60 oranda benzer başka nöbet olasılığı;
- (3) Bir epilepsi sendrom tanısı alma şeklindeadır (36).

Ayrıca ILAE tarafından 1981 ve 2010 yıllarında epileptik nöbetlerin sınıflandırılması yapılmıştır. Bazı nöbet tipleri, örneğin tonik nöbetler veya epileptik spazmlar, generalize başlangıçlı olabilir. Ancak nöbetin başlangıcı hakkında bilgi eksikliği, bir nöbeti 1981 sistemiyle tartışılması zor ve sınıflandırılmaz hale getiriyordu. Ayrıca bu sınıflama yine bazı önemli nöbet tiplerini içermemekteydi. Bu nedenlerle 2010 ve en son 2017 de sınıflandırma modifiye edildi (37) (şekil 7).



Şekil 7. ILAE 2017 Epilepsi nöbetlerinin sınıflandırılması (37)

2.2.2 Epilepside temel mekanizmalar

Epilepsi nöbetlerin tekrarlaması ile sık görülen bir hastalıktır. Patofizyolojisi hala bilinmemektedir. Bu sebeple de mevcut tedavi yaklaşımları sadece nöbetleri baskılamayı amaçlamaktadır. İnsanlarda epileptogenez çalışmaları etik olmadığından bilimsel ilerleme için hayvan deneyleri gereklidir (38) (39).

İdiopatik epilepsilerde beyin gelişiminin erken dönemlerinde genetik bir defekt olduğu düşünülürken semptomatik epilepsilerde belirlenebilen veya belirlenemeyen yapısal bir lezyon sorumlu tutulur. Semptomatik olduğu halde, etiyojisi bilinmeyen epilepsilere de kriptojenik epilepsiler denir (40).

Epileptogenezden sorumlu hücresel mekanizmalar hala bilinmemektedir. Genellikle epilepsi nöbetlerinde ayrı mekanizmalardan söz edilmekle birlikte hepsinde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronizasyon gibi ortak özellikler mevcuttur. Epileptojenik odaklardaki lezyonlar tam açıklanamayan nedenlerle artmış uyarılma ve anormal ateşlenme özelliği gösterirler. Bu lezyonlar; dendritik dallanmanın yapısını bozarak eksitator sinapsları akson tepeciğine yaklaştırabilir, iyon kanallarında yeni bir yapılanmaya sebep olabilir, tekrarlayıcı kollateral eksitasyona yol açabilir ve senkronizasyonun güçlenmesine neden olabilirler (38). Epilepsi oluşumunda rolü olduğu düşünülen hipotezler;

1. Nöronal reseptörlerin up veya down regülasyonu (reseptörlerin tekrar yapılanması-iyonik mikroçevrede oluşan değişiklikler)
2. GABAerjik inhibisyonun epileptogenezi baskılamak yerine fonksiyonel değişimlerle epileptik aktiviteyi arttırması (38).

İyon kanallarından voltaja bağlı Na ve Ca kanalları, hücre zarının depolarizasyonundan (uyarıcı postsinaptik potansiyel-EPSP), voltaja bağlı K kanalları hücre zarının repolarizasyonundan (baskılayıcı postsinaptik potansiyel – IPSP) sorumludur. Voltaja bağlı Na ve Ca kanalları, sodyum ve kalsiyumun içeri girişini sağlar ve EPSP meydana gelir. Sonrasında nöronlardan eksitator nörotransmitter salınımı başlar. Böylece nöbet için gerekli olan nöron uyarımı ve gen ekspresyonu sağlanır. Voltaja bağlı Na ve Ca kanalları ile oluşan EPSP, voltaja bağlı K kanallarının inhibitör etkisi ile dengelenmektedir. Özellikle hipokampusta K iyonlarının iyon kanallarından içeri akması ile aksiyon potansiyelinde depolarizasyon sonlanır ve repolarizasyon başlar. Repolarizasyonun (IPSP) başlaması nöbet için gerekli olan nöronal deşarjı durdururken bir anlamda potansiyel bir antiepileptik görevi görür (41) (42).

Glutamat, aspartat, asetil kolin eksitator nörotransmitterlerdir. Glisin, gaba aminobütirik asit (GABA), dopamin, noradrenalin ve taurin inhibitör nörotransmitterlerdir. Bu nörotransmitterler nöbet gelişiminde veya engellenmesinde rol oynarlar (43).

İyon kanallarının dışında GABAerjik sisteme ait bozukluklar da nöbet gelişiminde rol oynar. GABA beyindeki inhibitör etkisini GABA-a ve GABA-b reseptörleri ile gerçekleştirir. GABA, GABA-a reseptörüne bağlanınca klor iyonu hücre içine girer ve nöronal aktivitede inhibisyon meydana gelir (44). GABA'nın GABA-b reseptörüne bağlanması ise hücre içine potasyum girişini arttırmakta, kalsiyum girişini azaltmakta ve presinaptik nörotransmitter salınımını engelleyerek inhibisyon yapmaktadır (45). GABA-a reseptörlerinin aşırı salınımı ile nöbet gelişimi arasında ilişki bulunmuştur; ancak GABA-b ile olan ilişki netlik kazanmamıştır (46).

Nöromodülatör etkiye sahip Nöropeptid Y (NPY) ise presinaptik kalsiyum salınımını azaltarak eksitabilitayı azaltır (46).

2.2.3 Epilepsinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi

Epilepsi prevalansı gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelerle karşılaştırıldığında daha yüksektir ve 1000'de 3 ile 22.2 arasında değişken bir yaygınlık oranı göstermektedir. Türkiye'nin tamamını kapsayan bir çalışmada bu değer 1000 de 8 olarak bulunmuştur (47). Epilepsi insidansı gelişmiş ülkelerde 100.000'de 20 ile 70, gelişmekte olan ülkelerde 100.000 de 100 ün üzerindedir (48). Yaşam boyu epilepsi gelişim insidansı %3, prevalansı %0.5 dolayında bildirilmektedir (49). Epilepsi insidansı en yüksek yaşamın ilk bir yılında ve 60 yaş sonrasında (50).

Epilepsi etyolojisinin belirlenmesi tedavi, prognoz ve klinik gidişatı belirlemek için gereklidir. Etiyoloji 4 ana kategoriye ayrılır.

1. **İdiopatik Epilepsi:** Genetik kökenli olduğu varsayılmıştır ve nöroanatomik veya nöropatolojik bir anormallik söz konusu değildir.
2. **Semptomatik Epilepsi:** Anatomik veya patolojik anormallikler ile ilişkili kazanılmış veya genetik bir neden epilepsiye sebep olmaktadır.

3. **Provoke Edilmiş Epilepsi:** Burada sistemik veya çevresel faktörler nöbete neden olur. Altta yatan nöroanatomik veya nöropatolojik bir anormallik yoktur.
4. **Kriptojenik Epilepsi:** Semptomatik olduğu halde, etiyolojisi bilinmeyen epilepsilerdir (51).

2.2.4 Epilepsi tedavisi

Epilepsi antiepileptik ilaçlara (AEİ) cevap verme olasılığı yüksek olan hastalardan ilaç dirençli hastalara kadar geniş bir spektrum olarak görülmelidir. AEİ'lerin profilaktik olarak kullanımı yeni gelişen tedavi yöntemlerine rağmen hala temel tedavinin yapıtaşdır (38). Eğer hasta anormal EEG, MRG (manyetik rezonans görüntüleme), ve/veya nörolojik muayeneye sahipse ve/veya epilepsi için aile öyküsü varsa sıklıkla tedavi başlanır (34). Bazı hastalarda Ketojenik diyet (KD), epilepsi cerrahisi ve vagal sinir stimülasyonu uygun olmaktadır (35).

2.2.4.1 Antiepileptik İlaç Tedavisi

1993'e kadar reçete edilen dört ilaç vardı ve bunlar şimdi eski AEİ olarak adlandırılmaktadır: Fenobarbital, Fenitoin, Karbamazepin, Valproat. 1993 ten sonra yeni AEİ'lar kullanıma girmiştir. Ancak bu yeni ilaçlara rağmen %25-30 hastada nöbetler kontrol altına alınamamaktadır. AEİ tedavisindeki ilk amaç, tolerabilite ve güvenilirliği en yüksek seviyede tutup en kısa sürede iyi nöbet kontrolü sağlamaktır. İlaç seçeneği hastaya göre değişmektedir. Nöbetin ve epileptik sendroma ek olarak hastanın cinsiyeti, yaşı, komorbiditesi, aldığı diğer tedaviler tedavi seçeneğini etkiler (35). AEİ'lar; Sodyum kanal inhibitörleri, Kalsiyum kanal inhibitörleri, GABA etkisini güçlendirenler, Glutamat blokörleri, Karbonik anhidraz inhibitörleri, Hormonlar ve mekanizması net anlaşılamamış ilaçlar olarak sınıflandırılabilirler (52).

2.2.4.2 Cerrahi tedavi

Epilepsi cerrahisi dirençli nöbetleri olan hastalara uygulanan bir tedavi yöntemidir (53). Genellikle AEİ'larla nöbet kontrolü sağlanabilmesine rağmen yeni tanı alan hastaların %16'sında ilaca direnç gelişir veya hastanın medikal tedavilerin etkili olmadığı bir epileptik sendromu olabilir. Bu nöbet tekrarı da mortalite ve morbiditeyi arttırmaktadır. İlaçlara dirençle ilgili standart tanımlama yoktur. Klinikteki ilaç direnci ile ilgili tanımlama ise en az iki uygun AEİ ile başarısızlık, tolere edilememesi veya beklenen etkinin sınırlı olmasıdır. Fonksiyonel ve yaşam kalitesinde bozulma olan ilaç dirençli epilepsilerde cerrahi akılda tutulmalıdır (35). Stereotaktik lazer ablasyonu ve stereotaktik radyocerrahi gibi ablatif işlemler açık cerrahiye, özellikle mezengial temporal lob epilepsisi olan hastalarda minimal invaziv alternatifler sunmaktadır. Ablasyon veya rezeksiyon için aday olmayan bazı kişiler için, vagus sinir stimülasyonu, derin beyin stimülasyonu veya duyarlı nörostimülasyon gibi palyatif nöromodülasyon prosedürleri, nöbet sıklığında önemli bir azalmaya ve yaşam kalitesinin iyileşmesine neden olabilir (53).

2.2.4.3 Ketojenik diyet tedavisi

Ketojenik diyet, yüksek yağ, yeterince protein ve düşük karbonhidratlı bir diyettir. Yağların kullanılması kanda keton cisimciklerinin açığa çıkmasına yol açar. Bu nedenle diyet '**Ketojenik Diyet (KD)**' olarak adlandırılmaktadır. AEİ kullanımına rağmen nöbet kontrol problemi olan çocuklarda KD etkin bir tedavidir. Hatta glikoz transport-1 bozukluğu sendromu gibi bazı metabolik hastalıklarda KD ilk tedavi seçeneği olarak uygulanmaktadır. Son yıllarda kullanımı giderek artmaktadır (54) (55).

2.2.4.3.1 Ketojenik diyet tarihçesi

Açlık ve diğer diyet tedavileri epilepsi tedavisinde MÖ 500'den beri kullanılmaktadır. Ayrıca açlık, Hipokrat'ın epilepsi tedavisi için kaydedilen tek tedavi yöntemidir (55) (56).

Açlık metabolizmasını taklit ederek 1920'lerde epilepsi tedavisi için KD uygulanmaya başlanmıştır. Hugh Conklin ve arkadaşı epilepsinin bağırsaklardan beyine gelen zehirli toksinler nedeniyle geliştiğini iddia ederek epilepsili çocukları 25 gün aç bırakıp sadece su ile beslemiştir. Daha sonra epilepsili bu çocukların açlık tedavisi ile uzun dönemde nöbetsiz kaldığını yayınlamıştır. Yüksek yağlı, düşük karbonhidratlı diyetin açlığın metabolik etkilerini taklit edebileceğini iddia eden ilk makale 1921'de Mayo Clinic'ten yayınlanmıştır (55) (56).

Yirmi yıla yakın bu terapi yaygın olarak kullanılmış, fakat 1970'li ve 80'li yıllarda modern AEİ tedavisi ile KD kullanımı azalsa da, 1990 lardan itibaren tekrar popülerite kazanmıştır. Özellikle 1996 yılında Amerikan Epilepsi Derneğinin toplantısından sonra dikkatleri yeniden çekmiştir (55) (56).

2.2.4.3.2 Ketojenik diyet tanımı

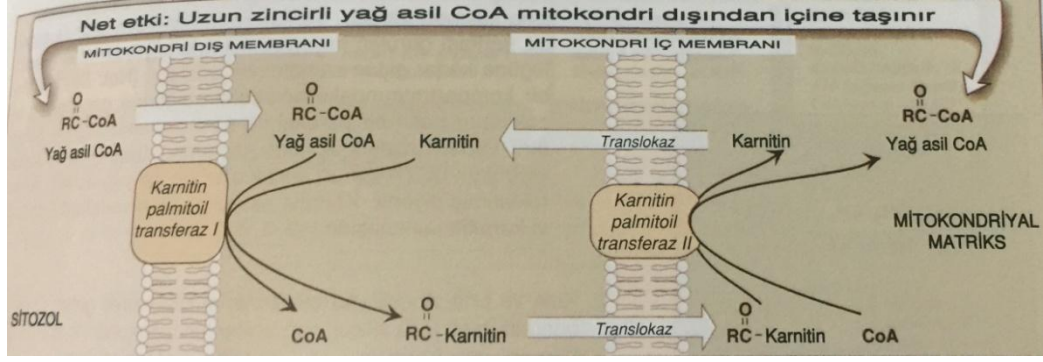
Ketojenik diyet genellikle %80 yağ, %15 protein ve %5 karbonhidrattan oluşmaktadır. Yağın, karbonhidrat ve proteine oranı 2:1 ila 4:1 arasında değişmektedir. Yağ ile protein ve karbonhidrat arasındaki belirtilen oranlar dışındaki daha yüksek oranlar, daha kısıtlayıcı fakat daha etkili olarak görülmektedir. Bu diyetteki yağların çoğu, uzun zincirli trigliseritler olarak sağlanır. Klasik KD'in başka bir çeşidi ise daha fazla karbonhidrata izin vererek diyetin lezzetini arttırma amacı ile kullanılan orta zincirli trigliserit diyetidir. Daha ketojenik olmasına rağmen, sıklıkla gastrointestinal yan etkilere neden olduğu için daha az kullanılır (57).

Ketojenik diyet ile enerji, proteinler, mineraller, vitaminlerde eksiklikler, lipidler, doymuş yağ ve kolesterolde ise fazlalıklar meydana gelir. Böyle bir diyetin kullanılması, özellikle çocuklarda, uygulama ve izlemde özel dikkat ve monitarizasyon gerektirir (57).

Ketojenik diyetin yağ içeriğinin daha az doymuş yağlarla veya daha fazla çoklu doymamış yağlar ile değiştirilmesiyle, karbonhidrat ve lipid metabolizması üzerinde KD'in daha az zararlı hale getirilerek daha iyi ketoneminin sağlanabileceği düşünülmüştür. PUFAs'lar ile keton düzeyi daha iyi yükseltip daha iyi nöbet kontrolü sağlanabilir hipotezi ile 2004 yılında 10 kadın 10 erkeğin dahil edildiği klinik bir çalışmada farklı yağ içerikleri olan KD türleri gruplara verilmiştir. Bir gruba sature yağ asidi (SAT) ile zenginleştirilmiş KD, diğer gruba PUFAs ile zenginleştirilmiş KD uygulanmıştır. PUFAs içeren KD'de omega-3 ve omega-6 oranları eşit tutulmuştur. BOHB düzeyleri her iki grupta yükselmiş; fakat PUFAs alanlardaki yükseliş daha belirgin olmuştur. Çalışmada sonuç olarak serum glukoz konsantrasyonlarında PUFAs alanlarda 10 mg/dl'ye kadar düşüş olduğu SAT alan grupta bazal glukoz düzeyi ile benzer kaldığı gösterilmiştir. Bu çalışma ile PUFAs ile BOHB düzeylerinin daha fazla arttırılabileceği gösterilmiştir. Daha fazla artmış keton düzeyi ile nöbet kontrolünün daha iyi yapılabileceği sonucuna varılmıştır. (58)

2.2.4.3.3 Keton oluşumu ve ketojenik diyet etki mekanizması

Açlık veya KD uygulanması durumunda vücut enerji kaynağı olarak keton cisimlerini kullanır. Vücutta keton cisimleri yağ asitleri β oksidasyonu ile meydana gelirler. β oksidasyonda iki karbonlu (C) parçalar, yağ açıl CoA'nın karboksil ucundan sırayla ayrılırlar ve böylece asetil CoA'lar ortaya çıkar. Yağ asitleri tiyokinaz tarafından sitozolde CoA türevlerine dönüştürülür. β oksidasyon, mitokondri matrixinde gerçekleştiğinden CoA türevleri karnitin mekiği ile sitozolden mitokondriye taşınır (59) (Şekil 8)

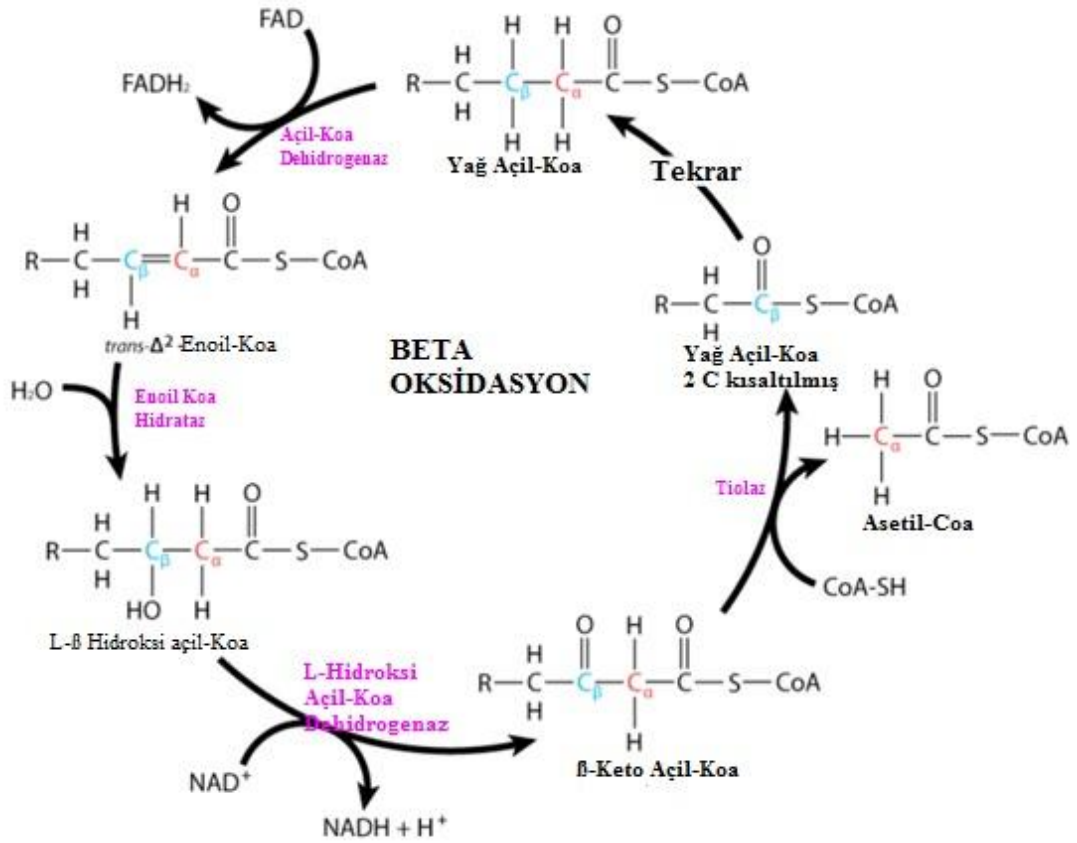


Şekil 8. Karnitin Mekiği (59)

β oksidasyonun ilk döngüsü yağ asit zincirinin 2 karbon azalması ile sonuçlanan 4 basamaklı bir diziden oluşur:

1. FADH₂ üreten oksidasyon
2. Hidrasyon
3. NADH üreten oksidasyon
4. Tiyolitik yarımlama (Asetil-CoA ortaya çıkar) (59)

Her bir döngüde bir asetil grubu, bir NADH ve bir FADH₂ üretimi gerçekleşir. Son tiyolitik yarımlama iki asetil grubu üretir (Asetil-CoA'nın allosterik aktivatörü yağ asidi oksidasyonu ile glukoneogenezi birbirine bağlayan Piruvat Karboksilazdır) (59) (Şekil 9)



Şekil 9. Yağ asitlerinin beta oksidasyonun enzimatik basamakları (60)

Yağ asidi oksidasyonu ile elde edilen bu asetil grupları karaciğer mitokondrisinde keton cisimlerine dönüştürülürler. Asetoasetat ve BOHB keton cisimleridir. Asetoasetat ve BOHB periferik dokulara taşınarak yeniden asetil-CoA'ya dönüşürler ve krebs siklusunda oksitlenirler. Keton cisimciklerinin periferik dokular için önemli enerji kaynağı olmalarının sebepleri;

1. Sulu çözeltilerde çözünürler (taşıyıcıya ihtiyaç duymazlar)
2. Mevcut asetil-CoA miktarı karaciğer oksidasyon kapasitesini aştığı zaman oluşurlar
3. İskelet kası, kalp kası gibi karaciğer dışı dokularda kandaki miktarı ile orantılı olarak kullanılırlar. Hatta uzamış açlıkta beyin de kullanır.

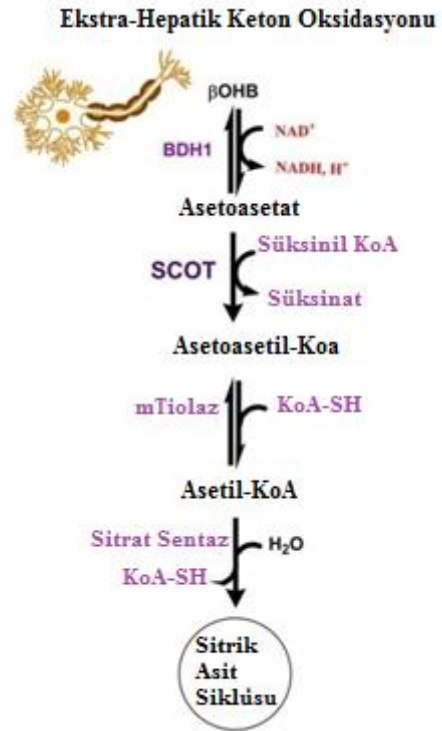
Hepatik asetil-CoA'lar pirüvat dehidrogenazı inhibe eder, Piruvat karboksilazı aktive eder. Böylece oluşan oksaloasetat krebs siklusundan ziyade karaciğerde glukoneogenez için kullanılır. Bu nedenle asetil-CoA keton cisimlerine yönelir (59).

Mitokondriyal HMG-CoA sentaz (keton sentezinde hız kısıtlayıcı basamak) ; asetil-CoA'yı üçüncü bir asetil-CoA ile birleştirerek HMG-CoA (kolesterol öncüsü) oluşturur. HMG-CoA, asetoasetat ve asetil-CoA'yı oluşturmak üzere ikiye ayrılır. Asetoasetat, NADH'ı hidrojen kaynağı olarak kullanarak BOHB'a indirgeyebilir veya aseton oluşturabilir. Asetoasetat ve 3-hidroksibütirat dengesi $NAD^+/NADH$ oranı ile belirlenir. Yağ asidi oksidasyonu sırasında bu oran yüksek olduğu için 3-hidroksibütirat sentezi tercih edilir (Şekil 10) (59).

Açlık esnasında enerji kaynağı olarak keton cisimleri kullanılır. BOHB'tan β -hidroksi dehidrogenaz ile NADH üretilerek asetoasetat oluşturulur. Asetoasetat tiyoforaz enzimi ile süksinil-CoA'dan bir molekül CoA alır ve asetoasetil-CoA oluşturulmuş olur. Asetoasetil-CoA'dan tekrar enerji elde etmek üzere iki molekül asetil-CoA oluşturulur (Şekil 11). Mitokondrisi olan tüm dokular asetoasetatı BOHB'a okside eder ve enerji kaynağı olarak kullanır. Karaciğerde tiyoforaz enzimi bulunmaz, bu nedenle karaciğer keton cisimlerini metabolize edemez. Mitokondrileri olmadığı için eritrositler de keton cisimlerini kullanamazlar. Ketonlar basit difüzyonla, monokarboksil taşıyıcısı ile kan beyin bariyerini geçerler (59). BOHB ayrıca beyinde tek yağ asidi oksidasyonu yapabilen hücre olan astrositlerden de sentezlenir (61).



Şekil 10. Keton sentezi (61)



Şekil 11.Ketonun periferik dokularda kullanımı (61)

Sağlıklı insanlarda normal şartlarda BOHB seviyeleri 0-04 ila 0,08 mMol/L arasında değişirken açlıkta veya diyabetik ketoasidozda bu sevilere daha da artar. (61) Ergen farelerde KD'in ortalama BOHB seviyelerini 1.1+/-0.2mM e kadar yükselttiği bulunmuştur. Aynı çalışmada intrasellüler BOHB seviyelerinin ekstrasellüler sıvıdan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (62).

Beta-hidroksi bitüratın beyine alımı taşıyıcı bağımlıdır. Bunun için kontrol noktası, MCT1 (SLC16A1:astrositlerdeki BOHB taşıyıcısı) ekspresyonu ve BOHB seviyeleridir. Bu seviyeler açlık ve KD ile artar. MCT1 seviyeleri yenidoğanlarda yüksektir. Yaşla beraber azalır. BOHB'nin beyindeki bazal gereksinimlere, nöronal aktiviteyi destekleyen katkısının 36 saatlik açlıktan sonra olduğu gösterilmiştir.

BOHB'ın kan konsantrasyonunun yeterli düzeyde yüksek olması ile BOHB, tüm bazal gereklilikleri ve nöronal aktivitenin enerji ihtiyacının yaklaşık yarısını sağlayabilmektedir (61) (63).

2.2.4.3.4 KD'in beyin uyarılabilirliği ve epilepsi üzerindeki metabolik etkileri

Ketojenik diyet kullanıldığında vücut birincil enerji kaynağı olarak keton cisimlerini kullanır. Lipoliz aktive olur ve mitokondrilerde serbest yağ asitlerinin β oksidasyonu başlar. Aseton, asetoasetat, BOHB; kan beyin bariyerini kolaylıkla geçer. Nöronal ve sinaptik uyarılabilirliği düzenleyerek antiepileptik mekanizma oluşturular. Keton cisimlerinin nöroprotektif etkisi de vardır (64).

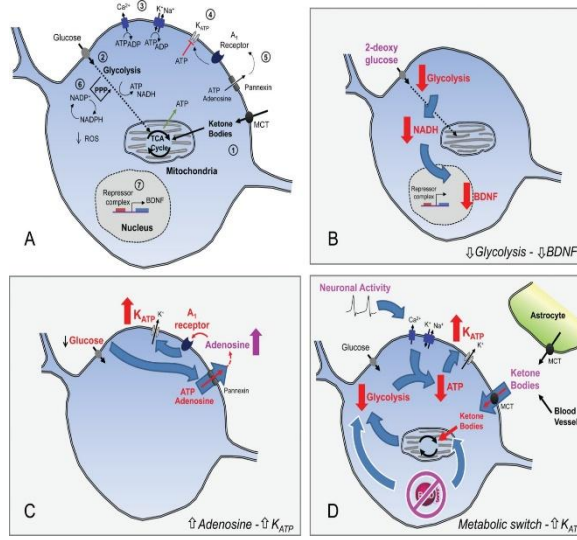
Ketojenik diyetin glutamaterjik sinaptik aktarımının bozulması, glikolizin inhibisyonu ve ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonu gibi çeşitli mekanizmalarla antikonvülzan olduğu düşünülmektedir (64). Ketozis durumunda beyindeki glutamat ve GABA sentezi artar. Astrositlerde, glutamat ile glikoz yokluğunda ve BOHB (5 mM) varlığında, glutamatın aspartata dönüşümü azalır (61). Ayrıca keton cisimciği asetoasetat tarafından da veziküler glutamat transportu, VGLUT2, inhibe edilir (64).

Beta-hidroksi bütirat K-ATP kanallarının aktivitesini değiştirir. K-ATP kanalları nöron ve glial hücrelerde bulunan ATP bağımlı kanallardır. Hücre içi ATP konsantrasyonu ile bu kanal duyarlılığı arasında ilişki vardır. KD kullanımında, kalori kısıtlanması veya açlık gibi durumlarda hücredeki ATP azalmaktadır. Böylece K-ATP kanalları aktive olarak açılmaktadır veya daha uzun süre açık kalmaktadır. Bu kanallar aktive olduğunda hiperpolarizasyon gerçekleşir ve nöronun uyarılabilirliği zorlaşır (65). Keton cisimlerin suprafizyolojik konsantrasyonlarda (0.4 mM BOHB) uygulanmasının, substantia nigra pars reticularis nöronlarının kendiliğinden uyarılma eşiğini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu etkiye D-BOHB aracılık ettiği; ama aktif olmayan L-BOHB'nin aracılık etmediği gösterilmiştir. Keton cisimlerinin K-ATP kanalları üzerindeki etkisine beyinde de dahil olmak üzere glikoz metabolizmasının düzenleyicisi olarak görev yapan bcl-2 ile ilişkili BAD

proteini aracılık eder (61). BOHB, BAD proteinine bağlanabilir ve K⁺ kanallarının açılmasını etkileyebilir. Bu etki aynı zamanda azaltılmış glikolizle daha da artar ve bu da K⁺ kanallarını güçlendirmek için azaltılmış sitozolik ATP'ye yol açar. Apoptoz ve glikoz metabolizmasında ikili fonksiyonlara sahip bir protein olan BAD proteininin, beyin hücrelerinde glikoz ve keton cisimlerinin metabolizması üzerinde karşılıklı etkiler sağladığına dair genetik kanıtların olduğu bir çalışma da yapılmıştır. Bu etkiler BAD'ın fosforilasyonunu içerir ve apoptotik işlevinden bağımsızdır. Glikoz metabolizmasını azaltan BAD modifikasyonları, nöronlarda metabolik olarak duyarlı K-ATP kanallarının aktivitesinde belirgin bir artış ve bunun yanı sıra in vivo olarak davranışsal ve elektrografik nöbetlere karşı direnç sağlar. BAD'ın genetik ablasyonu ile dirençli nöbetler tersine çevrilebilir (66) (67).

Adenozin sinyalizasyonu da A1 reseptörleri üzerinden nöronal uyarılabilirliği azaltmaktadır. Artan adenozin seviyesi antikonvülzan sayılabilir. Son çalışmalar A1 reseptörleri deneysel olarak bozulan farelerde KD ile nöbetlerin tersine çevrilebildiği gösterilmiştir. Burada KD hücre dışı adenozini ve adenozin sinyalizasyonunu arttırarak antikonvülzan olarak çalıştığı varsayılmıştır (64) (68) (Şekil 12).

Glikoliz inhibisyonunun antikonvülzan etki yarattığı düşünülmektedir. Glikoz azalması ve keton cisimlerinin artması ile glikoliz inhibe olur. 2-deoksi-D-glikoz bir glikoz analogudur. Fosfoglikoz izomeraz basamağından glikolize katılır. Glikoz alımını azaltarak ve fosfoglikoz izomeraz için yarışarak glikolizi inhibe eder. Ayrıca 2-deoksi-D-glikoz'un beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) ve BDNF reseptörü TrkB'nin ekspresyonunun azaltarak nöbetleri azalttığı hipotezi sunulmuştur. BDNF prokonvülzandır, TrkB ise nöbetin direncini yükseltir (64).



Şekil 12. Ketojenik Diyetin Potansiyel Mekanizmaları (64)

Beta-hidroksi bütirat, histon deasetilaz (HDAC) aktivitesini inhibe ederek oksidatif strese karşı koruyuculuk sağlar. BOHB, HDAC1, HDAC3 ve HDAC4'ü inhibe eder. Bu inhibisyon, CAT, mitokondriyal SOD (Mn-SOD) ve metalotiyonin-2'yi içeren FOXO3A'daki genlerin upregülasyonuna neden olur (61).

2.2.4.3.5 Ketojenik diyetin anti-inflamatuar özelliklerinin muhtemel mekanizmaları

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda BOHB'nın direkt anti-inflamatuar mediyatör olduğu görüşü desteklenmektedir. Bu görüşle ilgili ilk çalışma 2009 yılında Ruskin ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışma ile KD'in ROS'ları azaltarak ve santral adenosini arttırarak termal nosisepsiyonu ve periferik ödemi azalttığı gösterilmiştir (69) (70). Daha sonra 2015 yılında Dupuis ve arkadaşları tarafından ratlara 2 hafta KD verilip, iki haftanın sonunda ratlara intraperitoneal (ip) LPS yapılmıştır. Deney sonunda ateşin ve proinflamatuar sitokinlerin (TNF-a ve IL-1 β) seviyelerinin azaldığı görülmüştür. KD alan grupların hipokampusünde IL-1 β mRNA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Bu deneyde KD'in yağ asidi profilini de modifiye ettiği düşünülmüştür. KD tedavisinden 14 gün sonar total yağ aside sentezi artmıştır. Poliansature yağ asitlerinden (PUFAs) bazı anti-inflamatuar sitokinlerin öncülü olan eikazopentaenoik asit (EPA) ve

dokosaheksaenoik asit (DHA) seviyeleri bu deneyde düşük ölçülmüştür. Diğer taraftanda da bazı proinflamatuvar sitokin öncüllerinden olan araşidonik asit (AA) ve omega-6 PUFAs düzeyleri de bu deneyde düşük bulunmuştur. Bu düzeyler ile Dupuis deneyinde n-3 PUFAs'ların KD'in anti-inflamatuvar özelliklerine aracılık etmediğini iddia etmiştir. Bununla beraber KD ile beslenenlerde düşük AA düzeylerinin pro-inflamatuvar sitokin seviyesinin azaltılmasına aracılık ettiğini söylemiştir (71).

Ketojenik diyet bazı dokularda anti-inflamatuvar özellikler göstermesinin yanı sıra hepatik steatoz, insülin direnci gelişimine neden olan dislipidemiye yol açar. Bu etkisini gösterebilmek için KD'in farklı dokular üzerindeki farklı inflamatuvar özellikleri çalışılmıştır. KD'in FGF21 (karaciğerde üretilir, adipositlerde etki gösterir, adinopektin üretimini ve salınımını artırır) sinyalini etkilediği; böylece karaciğer ve beyaz yağ dokusunda farklı inflamatuvar cevaplar oluşturduğu gösterilmiştir. KD ile karaciğerde artmış bir inflamasyon ve makrofaj birikimi olurken, beyaz yağ dokuda inflamasyon azalmaktadır. FGF21 düzeyleri KD ile plazmada artar. FGF21 gen ekspresyonu karaciğerde artar; ancak beyaz yağ dokuda azalır. Ayrıca TNF-a, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler ve Emr1, Cd68, Itgam gibi makrofaj birikimini sağlayan molekül düzeylerinin de karaciğerde arttığı, beyaz yağ dokuda azaldığı gösterilmiştir. KD karaciğerde FGF21 sinyalini bozarak, karaciğer lipit metabolizmasında bozulmaya yol açıp insülin direncini arttırmaktadır. Ancak beyaz yağ dokuda bakılan lipit birikim genleri (Lpl ve CD36) KD ile azalmıştır. Yani beyaz yağ dokuda lipoliz olsa bile lipitler karaciğere yönlendirilmektedir. Ayrıca yine KD ile beyaz yağ dokuda ROS'un üretimi daha az olmakta ve bu da inflamasyonun burada daha az olmasının bir nedeni olarak düşünülmektedir (72).

Ketojenik diyetin inflamasyon ilişkili hastalığı bulunan hayvan modellerinde de iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Bu hayvan modellerinde genellikle ağrı, gut, bakteriyel-viral inflamasyonlar, multipl skleroz ve parkinson hastalığı kullanılmıştır (73) (69).

Multipl skleroz (MS), beyaz cevheri etkileyerek motor, kognitif ve psikiyatrik bozukluklara yol açan demiyelinizan otoimmün bir hastalıktır. Deneysel

otoimmün ensefalomyelit (EAE) modellerinde MS'in hayvan modelleri kullanılır. Bir çalışmada 7 gün KD verildikten sonra EAD'li modellerde motor ve kognitif fonksiyonlar bakılmıştır. Burada spatial hafızanın arttığı gösterilmiştir. Aynı fareler 7T-MRG ile görüntülendiğinde periventriküler beyaz cevher lezyonlarının azaldığı gösterilmiştir. KD'in bunu özellikle CD4+ T hücreler ve CD11b/CD45+ makrofaj ve mikrogliaları azaltarak sistemik inflamasyonu modüle etmesiyle yaptığı düşünülmüştür. KD ile beslenen EAE modellerinde CD4+ CD25+ Foxp3+ Treg hücrelerinde artmaya eğilim vardır. KD grubu normal diyet ile beslenen grupla karşılaştırıldığında, sitokin ve kemokinlerin (IFN- γ , MCP-1, MIP-1a, MIP-1b) düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (73) (69).

Beta-hidroksi bütirat direkt NLRP3 inflamazomunu inhibe eder. NLRP3 kaspaz-1'i aktivasyonuna ve IL-1 β ve IL-18 salınımına neden olur. BOHB, ATP bağımlı kaspaz-1 aktivasyonunu ve LPS ile muamele edilmiş hücrelerde IL-1 β 'ın aktif formuna dönüşümünü inhibe eder. Bu durum glikoliz inhibisyonu ve ROS'ların azalması gibi açıklık ilişkili mekanizmalarla alakalı değildir (74). BOHB, NLRP3 inflamazomunun hücre içine potasyum girişini engelleyerek inhibe eder; ama aynı BOHB, NLRC4 ve AIM-2 ye dokunmaz (75).

2.2.4.3.6 Ketojenik diyetin nöroprotektif özelliklerinin muhtemel mekanizmaları

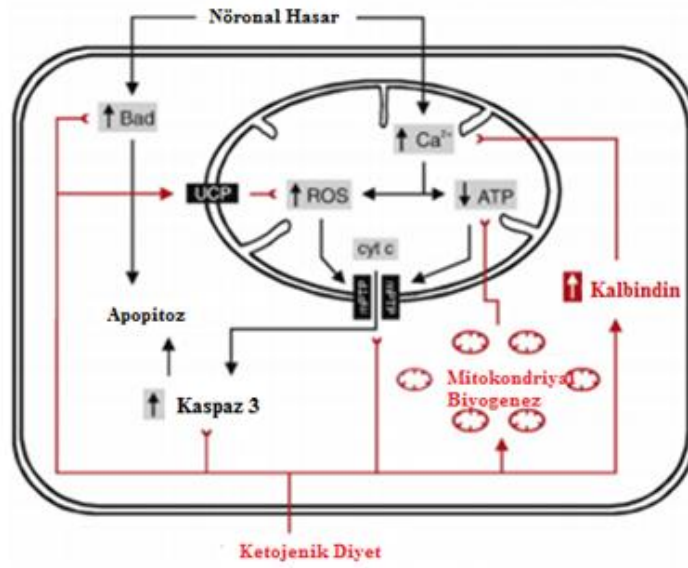
Ketojenik diyetin epilepsi tedavisindeki etkileri gösterilirken, beyin gelişimi üzerindeki etkileri hala netleştirilememiştir (76). Bu nedenle araştırmalar hala devam etmektedir. ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının modülasyonu, GABAerjik nörotransmisyonun yanı sıra KD'nin antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin artırılması, nöroprotektif özelliklerine katkıda bulunuyor gibi görünmektedir (77). KD; mitokondriyal işlevleri yükseltir, apoptoz ve inflamasyonu azaltır, nöroprotektif fonksiyonları artırır. KD hipokampusta UCP (uncoupling protein-1) üretimini ve aktivitesini artırır, mitokondriyal membran potansiyelini azaltarak ROS üretimini azaltır. KD hipokampusta glutatyon (ROS ve serbest radikalleri yok eden antioksidan) seviyelerini ve GPx aktivitesini yükseltir. Ayrıca, biyoenerjistik

enzimleri kodlayan genleri düzenler. Bu mitokondriyal etkilerin nöroprotektif mekanizmalardan biri olduğu düşünülmüştür (78).

KD epilepsilerde uyarılabilme eşiğini artırarak nöbet sayısını azaltır ve nöroprotektif etkilerin gelişimine aracılık eder. Bu etkisinin hipokampal uyarılabilirliği ve yosun lifi filizlenmesini azaltması ile ilgili olduğu düşünülmüştür (78).

KD'in nöroprotektif özelliklerine çoklu doymamış yağ asitleri de aracılık edilebilir. Antikonvülsan ve nöroprotektif özellikleri olan çoklu doymamış yağ asitlerinin beyin ve kan seviyeleri, (örneğin, dokosaheksaenoik asit), KD ile artmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitleri, hipokampal nöronların uyarılabilirliğini azaltır. Travmatik, iskemik ve eksitotoksik yaralanmalardan sonra nöronal sağkalımı artırır. Ayrıca, yağlı asitlerinin beta hidroksilasyon ürünleri olan keton cisimlerinin KD'dekine benzer nöroprotektif etkilere aracılık edebildiğine dair kanıtlar vardır (78).

Ketojenik diyetin nöroprotektif etki mekanizmalarından biri de antiapoptotik mekanizmaları arttırması ile alakalıdır. Bu mekanizma; proapoptotik faktörlerin kümelenmesi ve kaspaz-3'ün (proapoptotik faktör) azalmış üretiminin yanı sıra, kalbindinin (hücre içi kalsiyum tamponu) artan aktivitesidir. KD ayrıca proapoptotik faktör Bad'ın, 14-3-3 şaperon proteininden ayrılmasını da engeller. Bu nöroprotektif etkilere paralel olarak, KD, nöronal uyarılabilirliği sınırlandırarak beyin hasarını önleyebilir (78) (Şekil 13).



Şekil 13. KD'in nöroprotektif etki mekanizmaları (78)

Ketojenik diyetin sosyal davranıştaki olumlu etkileri hastalarda ve otizm spektrum bozukluğu (ASD) olan kemirgenlerde gösterilmiştir. KD ile ASD semptomları azalır. ASD semptomlarının azalması; KD'in gen ekspresyonlarını değiştirmesi, nörotransmisyon, protein fosforilasyonu gibi olumlu etkilerinin bir sonucu olduğu sanılmaktadır; fakat KD'in ASD'nin hangi patolojik sürecini etkileyerek bunu yaptığı hala net bilinmemektedir. Sosyal davranışın gelişmesinin lokomotor aktivite, azaltılmış kaygı ya da tanıma hafızasındaki değişiklikler ile ilişkili olmadığı 2017 yılında yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Hatta burada BOHB veya asetonun dışardan verilmesi sosyal davranışı etkilememiştir (77).

Ketojenik diyetin uzun dönemde nöroprotektif özelliğinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Qian ve arkadaşlarının 2004'te ratlarla yaptığı bir çalışmada; KD'nin aktivite düzeyi ve duygusallık üzerinde minimal etkisi olduğu ve beyin büyümesini önemli ölçüde bozduğunu iddia etmiştir. Bu çalışmada KD ve standart diyet (SD) grupları arasında patoloji skorlarında bir fark görülmedi. Nöbetlerin sayısını azaltmasına rağmen, KD görsel-uzamsal bellekte ciddi bozulmalara yol açmıştır. Yosun lifi filizlenmesini etkilemeden beyin gelişimini azaltmış olduğu bu çalışmada gösterilmiştir (76).

2.2.4.3.7 Ketojenik diyetin oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyonlar üzerindeki muhtemel mekanizmaları

Beta-hidroksi bütirat ve asetoasetat gibi ketonların yükselmesi anlamına gelen ketozis, glikoz sentezi için kas kullanımını engelleyerek, beyine glikoz sağlayıp aç kalmanın merkezini oluşturmuştur (79). Bu ketonlar oksidatif stresi azaltıp, antioksidanların düzeyini arttırarak serbest radikalleri temizler (80). Aslında BOHB'nin koenzim Q'yu okside etme ve NADP^+ 'yı azaltma kabiliyeti ROS hasarını azaltır. BOHB'nin diğer yararları arasında artmış ATP hidroliz enerjisi bulunur. Bu, ilaca dirençli epilepside, yaralanma ve anoksik durumlarda önemli olabilir (79).

Meperidin analogu ve serbest radikal kaynağı MPP^+ uygulanarak insanlarda, hayvanlarda oluşturulan parkinsonizmde, mezensefalik dopaminerjik primer nöronal költürlere 4 mM BOHB verilmesi ile bu nöronların MPP^+ tarafından indüklenen serbest radikal kaynaklı ölümden kurtarıldığı görülmüştür. Bu bulgular hafif ketozisin bu hastalıkta radikal toksisitesi üzerinden etkili bir tedavi olabileceğini düşündürmektedir (24).

Keton cisimlerinin diğer yararları arasında koenzim-Q'yu okside edebilme yetenekleri yer alır. Mitokondriyal ROS'un ana kaynağı aslında koenzim-Q'nun semikinon formudur. Bu semikinon ROS oluşturmak için direkt O_2 ile reaksiyona girer. Keton cisimleri ile koenzim-Q okside edilerek indirgenmiş koenzim-Q'nun azaltılması ile serbest radikallerin mitokondriyal üretimi azaltılabilir (79).

2008 yılında Jarrett ve ark, KD'in mitokondriyal redoks durumunu iyileştirip iyileştirmediğini göstermek amacı ile KD ile beslenen ratların hipokampal mitokondrisinde, H_2O_2 üretimi ve mtDNA hasarının miktarını çalışmıştır. KD ile beslenen ratlar, kontrol diyet ile karşılaştırıldığında, hipokampal mitokondriyal GSH ve GSH / GSSG oranlarında iki kat artış olduğu gösterilmiştir. Mitokondriyal redoks durumunun bir göstergesi olan indirgenmiş CoA (CoASH) ve bir antioksidan olan lipoik asit de KD ile beslenen ratların hipokampüsünde belirgin şekilde artmıştır. Bu çalışma ile KD'in GSH biyosentezini düzenlediğini, mitokondriyal antioksidan

durumunu arttırdığı ve mtDNA'yı oksidan kaynaklı hasardan koruduğunu anlaşılmıştır (81).

2.2.4.3.8 Ketojenik diyet türleri ve alternatifleri

Ketojenik diyet insan metabolizmasında ketozise yol açması beklenen diyet türlerine verilen addır. KD, ATP sağlayan, açlığı taklit eden, vücudu glikoz yerine yağları kullanmaya zorlamayı amaçlayan, yüksek yağlı, düşük karbonhidratlı, orta dereceli bir protein diyeti olarak tanımlanmaktadır. KD'ler aslında açlığı tetiklemez. Açlıktan kaynaklanan yetersiz beslenmeyi önlemek amacı ile yeterli besin alınımı sağladıkları için sağlıklı bir büyüme ve gelişme sağlarlar (82).

Dört farklı KD tanımlanmıştır:

- 1.Klasik KD
- 2.Orta zincirli trigliserid diyeti (MCT)
- 3.Modifiye atkins diyeti (MAD)
- 4.Düşük glisemik indeks diyeti (LGIT)

Birbirlerine olan farkları ve nöbetteki etkinlikleri Ek-1 ve Ek-2’de gösterilmiştir.

2.2.4.3.8.1 Klasik KD

Klasik KD’de yağ ile kombine protein ve karbonhidrat arasında sabit bir oran vardır. Yüksek karbonhidratlı yiyecekler diyetten uzaklaştırılırken, yüksek yağlı yiyecekler tercih edilir. Hastane ortamında başlanır (83). Şu anda kullanılan klasik KD türü ilk olarak Mayo klinik grubunun belirlediği önerilere benzerdir. 1 g/kg protein, 10-15 g/kg karbonhidrat ve kalan kısım yağlardan sağlanır. (82) Oranlanarak yapıldığında; oranlar 3 veya 4 gram yağ a 1 gram protein ile beraber karbonhidrat olacak şekilde düzenlenir. (3:1 ya da 4:1) Bu oranlar enerjinin %90’ının yağlardan, %10’unun ise protein ve karbonhidratlardan geldiğini anlatır (84).

2.2.4.3.8.2 Orta zincirli trigliserid diyeti (MCT)

Orta zincirli trigliserid diyeti diyetinde, yağların çoğu enerji birimi başına daha çok keton ürettiği için, oktanoik ve dekanoik asitlerin orta zincirli trigliseridlerinden faydalanılır. Klasik KD de yağlar uzun zincirli yağ asitlerinden sağlanır (83). Orta zincirli yağ asitleri ise dolaşımda taşıyıcıya gerek duymadan karaciğere, karnitine gerek duymadan mitokondriye taşınmaktadırlar. Böylelikle daha hızlı taşınıp ve fazla okside edildiklerinden daha fazla keton üretimine neden olurlar. (85) MCT diyetinde kalorinin %60'ı MCT'lerden sağlanır; bu nedenle daha fazla çeşit besin tüketilebilir ve hasta uyumu arttırılabilir (84) (85).

2.2.4.3.8.3 Modifiye Atkins Diyeti (MAD)

Ketojenik diyet gibi yüksek yağ düşük karbonhidrat alımını amaçlar ama iki önemli farkı vardır: birincisi açlık gerekmez, ikincisi daha fazla protein alımına müsaade eder. Günlük 10-20 gram karbonhidrat alımına izin verir. Enerjinin %60'ı yağlardan %30'u proteinlerden gelir (82). Yağ alımını destekler. Ev ortamında başlanabilmesi ve kalori ve sıvı kısıtlaması olmaması nedeni ile uyumu kolaydır. Dirençli epilepsisi olan 87 çocuğun katıldığı MAD kullanılan uzun süreli bir çalışmada, hastaların 54'ü 6 aydan daha uzun süre diyetine devam etmiş, 33'ü ise daha az süre diyet yapmıştır. 54 çocuğun 30'unda (yani >%50 si) nöbetlerde iyileşme gözlemlenip, 19'u ise nöbetsiz seyretmiştir. Diğer 33 çocuğun %50'sinden fazlasında nöbet sıklığı azalmış, 16'sı ise nöbetsiz seyretmiştir (83).

2.2.4.3.8.4 Düşük Glisemik İndeks Diyeti

Düşük karbonhidrat diyetidir. Günlük karbonhidrat alımı 40-60 gram/gün şeklindedir. Düşük glisemik indeksli besinler kullanılır. Daha önce en az 3 AEİ kullanan 20 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, bu diyet ile hastaların %50'sinden fazlasında %90'ın üzerinde nöbet kontrolü sağlandığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir retrospektif çalışmada ise en az 3 AEİ kullanıp generalize veya fokal epilepsisi olan hastaların %40'ında %75-90'lara varan nöbet kontrolü sağlandığı gösterilmiştir (82).

2.4.4.4 Kalori kısıtlanması

Kalori kısıtlanması (KK) yaşa bağlı bozuklukları önlemek ve ömrü uzatmak için güvenilir diyet tedavilerindendir. Bir ad libitum diyetine kıyasla kalorisinin %10 ila 30 oranında kısıtlanmasının, çeşitli türlerin ömrünü uzattığı bilinmektedir. KK'nın yararlarının temel mekanizmaları henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bununla birlikte, bu mekanizmaları açıklamaya yönelik birçok çalışma yapılmaktadır. KK mekanizmalarının metabolik hızı değiştirmesi ve ROS ile ilgili olabileceğine dair göstergeler vardır. Moleküler sinyalizasyon sırasında, insülin/insülin benzeri büyüme faktörü sinyalizasyonu, rapamisin yolağının hedefi, adenosin monofosfat ile aktive edilmiş protein kinaz sinyalleme ve sirtuin, KK'nın yararlarına aracılık eden temel yollar olarak düşünülüp deneylerde çalışılmıştır (86).

2.4.4.4.1 Kalori kısıtlanmasının tarihçesi

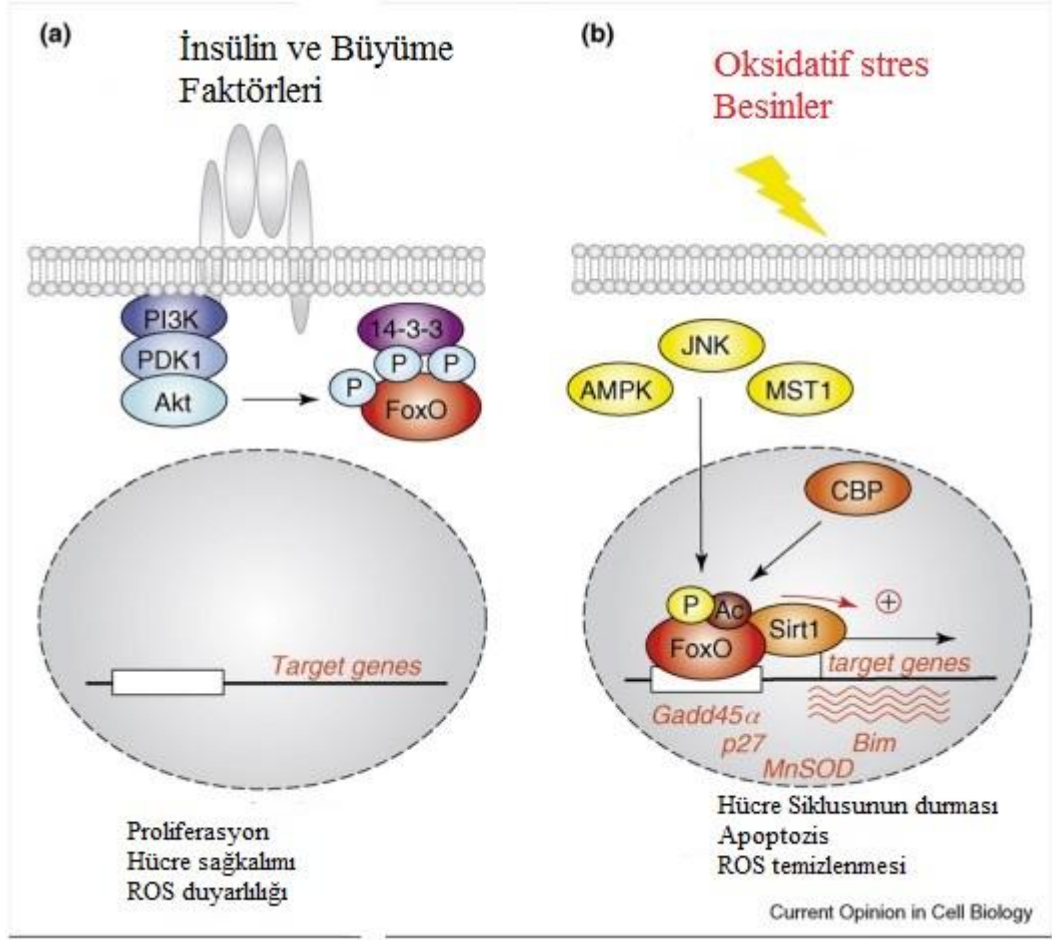
Kalori kısıtlanmasının yaşam üzerindeki etkilerinin ilk deneysel kanıtı Osborne ve ark. tarafından çalışılmıştır. 1900'lü yıllarda, ratlarda KK'nın rat büyümelerini yavaşlattığını, ancak yaşam sürelerini uzattıklarını bildirmişlerdir. KK'nın etkileriyle ilgili en dikkat çeken çalışma 1935'te McCay ve ark. tarafından yapılmıştır. KK'nın , sütten kesim yaşından itibaren %40 oranında rat ömrünü iki katına kadar uzattığını göstermiştir. Bu çalışmanın bulguları, Walford ve Weindruch tarafından 1986'da fareler kullanılarak yapılan bir dizi deneyle doğrulanmıştır. Weindruch, KK altında bırakılan farelerin, ad libitum ile beslenen kontrol grubundan daha uzun yaşadıklarını, yaşa bağlı hastalıkların başlangıcında gerilime ve dış görünüm ve fiziksel koşullarda iyileşme gösterdiklerini de bildirmiştir. Bugüne kadar, KK'nın yaşam ve sağlık üzerindeki etkileri, birçok model hayvanda mayadan memelilere kadar gösterilmiştir (86).

2.4.4.4.2 Kalori kısıtlanmasının etki mekanizmaları

Kalori kısıtlanmasının yaşlanma karşıtı olduğu ile ilgili hipotezler vardır. En güvenilir hipotez oksidatif stresin azalması ile ilişkilidir. Vücuda giren oksijen, hücrel

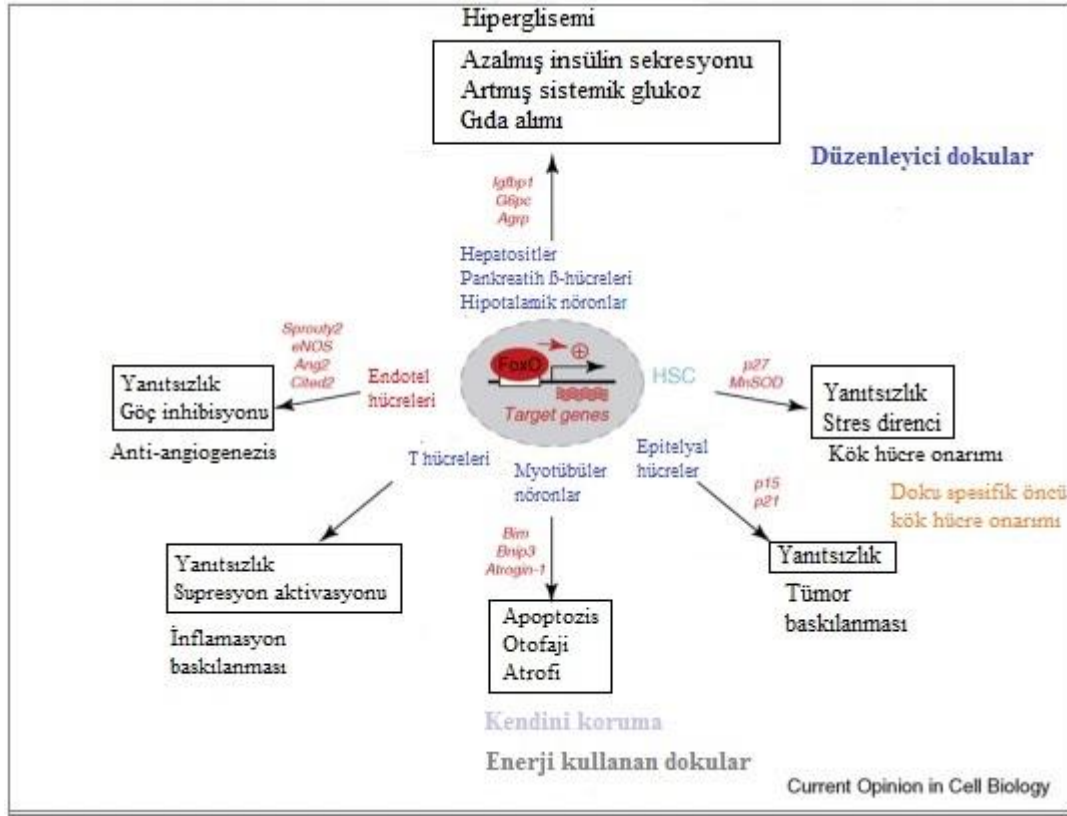
solunum yoluyla ROS'a dönüşür. Bu da hücrelerdeki makromoleküllere saldırarak yaşa bağlı değişikliklerin başlamasına neden olur. KK'ın ROS üretimini azalttığı ve yaşlanmayı geciktirdiği düşünülmektedir (86) (87). Ama bu konu ile ilgili tartışmalarda devam etmektedir. SOD'u olmayan farelerin artan oksidatif strese karşı yaşlanma göstermediği bir çalışmada gösterilmiştir. Bu nedenle hala ek çalışmalara ihtiyaç vardır (86).

Çeşitli hayvan modellerinde ana enerji kaynağı olan glikozun aşırı alınımı, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi yaşa bağlı hastalıkları tetikler. Serumdaki artmış glikoz seviyeleri ve ardından gıda alımı, insülin hormonunun salgılanmasına neden olur. Bu da insülin / IGF sinyalleşmesini aktive eder. İnsülin ile bağlandıktan sonra, insülin reseptörü, PI3K / Akt / Ras gibi faktörleri aktive eder ve bu faktörler aracılığı ile Forkhead (FOXO-stres yanıt genleri) transkripsiyon faktörü bastırır. KK ile, birçok türde sistemik insülin / IGF sinyalleşme seviyeleri kesinlikle azalır. Bu nedenle; KK, insülin / IGF sinyalinde yaşlanma karşıtı etkisi ile aracı olarak önerilmiştir. Bununla birlikte, KK'nin uzun süreli yaşamı uzatma etkisinin insülin / IGF sinyalleme yolağına bağlı olup olmadığı hala açık değildir. KK ile FOXO transkripsiyon faktörlerinin arttırılmaya çalışıldığı düşünülmektedir. Forkhead transkripsiyon faktörlerinin FOXO ailesi ise, tümör baskılanması, enerji metabolizması ve organizma uzun ömürlülüğünde işlev görür. FOXO faktörleri; insülin, büyüme faktörü, besin maddesi ve oksidatif stres uyaranlarının ana alt hedefleridir. FOXO'ya bağımlı hücresel yanıtlar arasında glukoneogenez, nöropeptid sekresyonu, atrofi, otofaji, apoptoz, hücre döngüsünü durdurma ve stres direnci bulunur (86) (88) (Şekil 14, Şekil 15).



Şekil 14. FOXO transkripsiyon faktörlerinin büyüme faktörleri ile negatif regülasyonu ve FOXO faktörlerinin oksidatif ve besinsel stres uyarıcıları ile pozitif regülasyonu.

(a) Büyüme faktörleri veya insülin ile uyarılmayla, Akt, FoxO faktörlerini, doğrudan üç basamakta fosforile eder ve fosforile FOXO, şaperon 14-3-3 ile bağlanır. Böylece FOXO'ya bağlı transkripsiyonun inhibisyonu meydana gelir. Büyüme faktörlerinin veya insülinin varlığında, FOXO'ya bağlı transkripsiyon, hücresel proliferasyon ve hayatta kalmayı teşvik etmede inhibe edilir, aynı zamanda hücreyi oksidatif hasara duyarlı hale getirir. (b) Oksidatif ve besin stres uyarıcıları, AMPK (AMP bağımlı kinaz), JNK (Jun-N-terminal kinaz), MST1 (memeli Ste20) ve CBP (KKEB bağlayıcı protein) gibi faktörlerle FOXO faktörlerinin bir dizi düzenleyici bölgede fosforilasyonunu, asetilasyonunu ve monoubikuitinasyonunu uyarır. Oksidatif strese cevap olarak, FoxO faktörleri çekirdeğe yer değiştirir ve deasetilaz Sirt1'e bağlanır. Anahtar modifikasyon noktaları, FoxO faktörlerini hücre döngüsü tutuklanmasında ve strese yanıtta rol alan spesifik genlere dönüştürüyor gibi görünmektedir. (88)



Şekil 15. Doku homeostazında FOXO transkripsiyon faktörlerinin rolü.

FOXO'ya bağımlı transkripsiyon, hepatositler, pankreas b-hücreleri ve hipotalamik nöronlar gibi organizmanın düzenleyici hücrelerinde glikoneogenezi, insülin sekresyonunu ve gıda alımını düzenleyerek sistemik glikoz seviyelerini arttırmaya yarar. Miyositler ve nöronlar gibi enerji kullanan hücrelerde, FOXO faktörlerinin atrofi, otofaji veya apoptoziyi başlatmak için açlık ve oksidatif stres gibi sert çevre koşullarına cevap olarak aktif hale geldiği görülmektedir. T hücrelerinde, FOXO faktörleri proliferasyonu ve hiperaktivasyonu azaltır. Vasküler sistemin endotelial hücrelerinde, FOXO faktörleri proliferasyonu baskılamak ve göçü inhibe etmek için genleri düzenler. FOXO faktörleri ayrıca, hematopoetik kök hücrelerin (HSC) ve epitel progenitör hücrelerin korunmasında, sessizliği, stres direncini ve / veya terminal farklılaşmasını koordine ederek çok önemli bir rol oynar. Genel olarak, FOXO faktörlerinin organizmanın gelişmiş çevre koşullarını öngörerek hayatta kalmasını sağlamak için açlık gibi sert çevresel koşullara cevaben organizmal bir metabolik kapanmayı teşvik ettiği görülmektedir (88).

Kalori kısıtlamasının anti-inflamasyonda da etkili olduğu düşünülmüştür. Kalori fazlalığı ile meydana gelen tip-2 diyabet ve obezite gibi hastalıklardaki steril inflamasyon immün aktivasyona neden olan temel durumdur. Bu gibi hastalıklarda NLRP-3, aşırı kalori alımı ile artar. KK ile NLRP-3 inhibe edilmeye çalışılmıştır. (NLRP3 kompleksi kaspaz-1 aktivasyonu ile proIL-1 β ve proIL-18'in inflamasyonu güçlendiren biyoaktif sitokinlere bölünmesine neden olur) KK ile bu hastalıklardaki

mitokondriyal biyogenezis de sağlanmaya çalışılır. KK ile AMP-activated protein kinaz (AMPK=enerji durumunun azalmasıyla aktive edilir) aktive olur. Bu enzim sayesinde ATP seviyeleri korunarak mitokondriyal fonksiyonlar iyileştirilir. Kalori kısıtlanmasıyla ayrıca hücre içi NAD⁺ seviyeleri artar. NAD⁺, bazı sirtuin proteinlerinin (NAD⁺ gerektiren ,deasetilaz aktivitesine sahip bir enzim grubudur, 7 alt grubu vardır:SIRT1-7) ve AMPK'nın kofaktörüdür. KK ile AMPK ve SIRT-1 birbirlerinin etkilerini düzenlerler. AMPK ve SIRT1, peroksizom proliferatörle aktive edilmiş reseptör koaktivatör-1a (PGC-1a) ve FOXO gibi mitokondriyal gen ekspresyonunun anahtar transkripsiyonel aktivatörleri dahil olmak üzere birçok ortak hedefi paylaşır. Kalori fazlalığı ile hücre içi ATP artar, AMPK azalır, NAD azalır, SIRT-1 azalır , PGC-1a azalır ve mitokondriyal biyogenezis azalır (89).

Kalori kısıtlaması çoğu türdeki yaşa bağlı hastalıkların başlamasını geciktirir, ancak insanlık dışı primatlardaki etkisi tartışmalıdır (90). AMPK, KK'nın yaşamı uzatma etkisinin altında yatan temel bir besin tetiklemeli sinyal yoludur. Enerji yoksunluğu altında, LKB (serin-treonin karaciğer kinaz b), AMPK'yı fosforile eder ve aktive eder. Nematod model sistemi, AMPK'nın yaşamın uzatılması konusundaki işlevini KK ile destekleyen kanıtlar üretmiştir. AMPK'yı (aak-2) aşırı üreten solucanların, kontrollerden daha uzun yaşadığı gösterilmiştir. Glikoz kısıtlaması, aak-2 aktivitesini arttırdığı da gösterilmiştir. Ayrıca, KK ile ömür uzatma etkisinin bir *C. elegans* modelinde aak-2'ye bağlı olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, AMPK'nın KK'nın memeli sistemlerindeki uzun ömürlülük üzerindeki etkilerinin bir aracı olup olmadığı hala açık değildir (86).

Kalori kısıtlamasının kardiyovasküler hastalık gelişimini azaltarak da yaşama katkı sağladığı ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır. Normalde endotelial disfonksiyon, oksidatif stres ve inflamasyon, vasküler yaşlanma ile ilişkilidir ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimine neden olur. Vasküler disfonksiyon üzerindeki etkilerini tanımlamak amacı ile KK'in vazoprotektif etkiler yapıp yapmadığı çalışılmıştır. Ratların kullanıldığı bu çalışmada ad libitum diyet ile KK diyetin koroner arter endotel hücrelerindeki anti-inflamatuar ve antioksidatif özellikleri kıyaslanmıştır.

KK alanların koroner arter endotel hücrelerinde TNF-a ilişkili ROS üretimi ve NFKB üretimini azalttığı gösterilmiştir (91).

Kalori kısıtlamasının antioksidatif özelliklerini göstermek amacı ile 2013 yılında 42 rat üzerinde beslenmeye oksidatif yanıt arasındaki ilişki çalışılmıştır. Bu amaçla rat karaciğer ve plazmalarından AST, ALT, SOD, kortikosteron, nitrit ve nitrat (NOx), malondialdehit (MDA) ve glutatyon seviyeleri çalışılmıştır. Akut ve kronik açlık arasındaki farkları gösterebilmek için 42 hayvan 5 gruba ayrılmıştır. (Kontrol grubu ve alması gereken kaloringin %80, %60, %40, %20'sini (akut açlık) alması şeklinde gruplar) Alması gereken kaloringin günlük %60'ını alan grupta Mn-SOD aktivitesi, GSH ve NOx konsantrasyonları artmıştır. Akut açlık grubunda ve günlük kalori ihtiyacının% 20'sini alan grupta glutatyon seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Şiddetli KK ve akut açlık, oksidatif hasarı artırır ve karaciğerin antioksidan kapasitesini azaltır. Orta dereceli KK, Mn-SOD aktivitesindeki ve glutatyon konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak karaciğerin antioksidan kapasitesini artırır (92).

2.4.4.4.3 Kalori kısıtlı diyetin nöroprotektif özelliklerinin muhtemel mekanizmaları

Hücre içi ROS'un yaşamın asıl belirleyicisi olduğunu ileri süren serbest radikal yaşlanma teorisi geliştirilmiştir (93). Bu nedenle nöroprotektif özellikler araştırılırken de mitokondri yakından incelenmeye başlanmıştır. KK'in nöroprotektif özellikleri mitokondriyal fonksiyonları artırması ve proapoptotik, inflamatuvar faktörleri azaltan gen ekspresyonlarını düzenlemesine dayandırılmaktadır (78).

Mitokondriyal hasar ve glutamat ekzotoksitesisi gibi durumlarda hücre içi kalsiyum miktarı artar. Mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif hasar meydana gelir (78). Normalde ETZ'de az miktarda üretilen süperoksit anyon radikali, hücre hasarı sonrası hücre içi kalsiyumun artması ile aşırı üretilir (93). Süper oksit anyon radikali, H₂O₂ 'ye dönüştürülür. Bu proteinlere, lipidlere ve DNA'ya oksidatif hasar verip hücre hasara neden olur. Sonuçta nörolojik hastalık belirtileri ortaya çıkar (94). KK ile SOD, GPx ve CAT gibi antioksidan savunmaların arttığı düşünülür (78).

Ayrıca yine KK ile mitokondriyal biyogenez mekanizmalarından olan AMPK ve GLUT-4 üretimi artar. Bu artışla hipokampusu bağıli mekansal öğrenme yeteneğinin artabileceğı 2017’ de bir rat deneyinde gösterilmiştir (95).

Kalori kısıtlaması ile nörogenezisin de arttığı düşünölmektedir (78). Nörogenezis, hipokampal bölgedeki kök hücrelerin yeni nöronlara ve diğeri beyin hücrelerine farklılaşması ve çoğalmasıdır. Nörogenezis yaşla beraber azalır. Nöroinflamasyon, oksidatif stres ve beyin hasarı, yüksek yağlı ve yüksek şekerli diyetler, alkol ve opioid bağımlılığı gibi faktörler nörojenezisi azaltır. Yaban mersini, salyonik asit, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA’lar) ve PUFA’larla zenginleştirilmiş diyetlerin yanı sıra KK ve fiziksel egzersiz nörogenezisi indükler. Besinlerin ve diyet faktörlerinin nörogenezi nasıl etkilediğı ile ilgili mekanizmaların çoğı henüz belirlenememiştir. Ama yine de beslenme yaklaşımları özellikle yetişkin nörojenezini uyarmak, nörodejeneratif hastalıklar ve bilişsel gerilemeyi önlemek için umut vaat edicidir (96). KK’nin, yetişkin kemirgenlerde BNDF seviyelerini artırarak nörojenezisi arttırdığını gösteren ilk çalışma Lee ve arkadaşları tarafından 2002 de yapılmıştır (97). KK yapılan ratlarda nörogenezdeki artışın, hücre çoğalmasından ziyade, yeni üretilen hücrelerin ölümünün azalmasından kaynaklandığı görölmektedir (98).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1 Hayvan Bakımı

Toplam 54 adet 8 haftalık dişi Wistar albino rat (170 g ile 200 g ağırlığında), klimalı bir odada 12 saatlik aydınlık ve karanlık döngülerle, sıcaklığın ($22 \pm 2^{\circ} \text{C}$) ve bağıl nemin (65-70) bulunduğu klimalı bir odaya yerleştirildi. Çalışma Mayıs 2019-Haziran 2019 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAMER)'nde gerçekleştirildi. Tüm deney protokolleri, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Bakım ve Kullanım Kurulu tarafından onaylandı. Laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı için kılavuz bu çalışmada başarıyla kullanılmıştır.

3.2 Diyet tedavisi

Bazal tartılar alındıktan sonra ratlar 5 gruba ayrıldı. Standart diyet 2,6 kcal/gr olacak şekilde, KD ise total kalorisinin %67,2'si yağ, %17,6'si protein, %0,2'si karbonhidrat, 6.7 kcal/gr olacak şekilde yerel tedarikçi tarafından (Arden Araştırma ve Deney), ekibimiz tarafından da yapılan birkaç müdahale ile Research Diets, D12369B KD'e göre hazırlandı. 1 haftalık yem +4 derecede, daha fazlası -20 derecede saklandı. Diyet içerikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Diyet İçerikleri

Diyet İçerikleri	SD	KD
Kazein 90		100,0
DL-Metiyonin+Lsistein	0,68	1,5
Selülöz	6	50,0
Zeytin yağı	0	338,0
Mineral Miks S10026	* ¹	10,0
Vitamin Miks 10001	* ²	10,0
Kolin Klorür	1,0	2,0
Mısır yağı	2,7	50,0

*¹:Fosfor:%0,6, Sodyum:%0,1

*²: VitA:24000 IU/kg, VitD3:3000 IU/kg, VitE:300 mg/kg, VitK3:30 mg/kg, VitB1:20 mg/kg, VitB2:20 mg/kg, VitB6:12mg/kg, Vitb12:100 mcg/kg, Biotin 6,3mg/kg, Nikotinik asit:100mg/kg, Pantotenik asit:41 mg/kg

3.3 Deney Protokolü

Çalışmada 54 tane Winstar tipi ratlar randomize olarak 5 gruba (G) ayrıldı. Bazal ağırlıkları ölçüldükten sonra 6 haftalık ratlar 7 hafta süre ile beslenmeye başlandı. Bu zaman aralığı ketojenik diyetle tam metabolik uyum sağlanması ve davranış deneylerinin yapılabilmesi amacı ile seçildi.

G1: Standart diyet ad libidum (SD) (n=6)

G2: Standart diyet + LPS grubu ad libidum (SD+LPS) (n=6)

G3: Ketojenik diyet + LPS (KD + LPS) ad libidum olacak şekilde beslendi. (n=15)

G4:Kalorisi kısıtlanmış KD (KKKD) KD'den alacaklarının %30'u kısıtlanmış şekilde beslendi. (n=15)

G5: Kalorisi kısıtlanmış diyet (KKD + LPS) SD'den alacaklarının %30'u kısıtlanmış şekilde (n=12)

Tablo 2. Deney Grupları

<u>DENEY GRUPLARI</u>	<u>RAT SAYISI</u>
G1: STANDART DİYET SALİN GRUBU (SD)	6
G2: STANDART DİYET LPS GRUBU (SD+LPS)	6
G3: KETOJENİK DİYET LPS GRUBU (KD+LPS)	15
G4:KALORİSİ KISITLANMIŞ KETOJENİK DİYET ARKAN LPS GRUBU (KKKD+LPS)	15
G5:KALORİSİ KISITLANMIŞ DİYET LPS GRUBU (KKD+LPS)	12
Toplam:	54

Su, tüm gruplara ad libidum şeklinde verildi. Tüm deney grupları haftada bir kez tartıldı. 2. haftanın sonunda oftalmik ven kullanılarak kanda glukometre ile kan glikozu, keton cihazı ile de BOHB düzeyi bakıldı. Yeterli keton düzeyi sağlandıktan sonra SD alan gruplara (n=10) ve KD (n=10), KKKD (n=10) ve KKD (n=10) alanlara 6. haftanın sonunda LPS verilmeden önce davranış yüzme testi ve obje tanıma testi yapıldı. 7. haftanın sonunda testler bittikten 1 gün sonra LPS alacak gruplara 150 mcg/kg LPS (sigma;Escherichia coli serotip 055:B5 saat 10.00 da), LPS almayacak olan SD (n=6) grubuna da 100 µL normal salin ip verildi. LPS verildikten 4 saat sonra ratlara ketamin 100 mg/kg ip uygulanıp intrakardiyak IL-1 β , IL-6, TNF-a, SOD düzeyleri için kan alındı.

3.4 Keton ve Glikoz Ölçümü

Glikoz ve BOHB düzeyleri, deneyin 2. haftasında ketozisin kontrolü amacı ile oftalmik venden kan alınarak, glikoz ve keton stripleri ile Optimum Xeed marka ölçüm cihazı kullanılarak ölçüldü (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois).

3.5 Morris Su Labirenti Testi

Morris su labirent testindeki performans, hipokampal fonksiyon ve hipokampal uzun vadeli öğrenme (LTP) ile koreledir. NMDA reseptör antagonistleri kullanılarak yapılan iki çalışma ile hipokampal NMDA reseptörü fonksiyonu ile spesifik olarak ilişkilendirilmiştir (99). Morris su labirent testi için paslanmaz çelikten dairesel bir tank (çapı 160 cm, yüksekliği 35 cm) su havuzu olarak kullanıldı. Tank dört sabit noktadan dört kadrana oluşturacak şekilde bölündü. Bu havuz içerisine havuzla aynı renkte (görüntüyle ilgili herhangi bir yanlış pozitif sonucu elimine etmek için) 10x10x10 cm ölçülerinde bir kaçış platformu yerleştirildi. Bu platform çalışma boyunca havuzun sabit bir kadranda ve su yüzeyinin 1.5 cm altında tutuldu. Yüzme egzersizi dört gün boyunca saat 10:00 ve 16:00 arasında 32 ± 1 ° C su sıcaklığında gerçekleştirildi. Hayvanlara beş ardışık gün boyunca 10'ar dakika ayrılarak dört deneme yapıldı ve bu süre zarfında dört ayrı sabit noktadan platforma ulaşmak için geçen süre değerlendirildi. 5. gün ratlar sadece bir noktadan bırakılıp platforma ulaşması için geçen süre kaydedildi. Bu test uzaysal öğrenme ve hafızanın bir ölçüsü olarak kabul edildi.

3.6 Yeni Obje Tanıma Testi

Yeni obje tanıma testi; bir bellek edinme ve bir hatırlama evresi içerir. Bu test ile hipokampusun, bir nesnenin yerini veya nesnenin hatırlanmasında rol oynadığını, ancak prefrontal korteksin yeni nesne tercihi daha fazla dahil olduğunu gösterilmiştir (99). 50x50x30 cm siyah pleksiglastan yapılmış bir düzenekte yarı karanlık ortamda gerçekleştirildi. Bir hayvanın testi tamamlandıktan sonra diğer hayvanı teste almadan önce düzeneğe ve objelere etanol ile silinerek temizlendi.

Birinci gün (Alıştırma günü): Aynı kafesteki tüm hayvanlar grup halinde pleksiglasta düzeneğe konulacak ve 60 dakika ortamda hiçbir obje olmaksızın test düzeneğine alışmaları sağlandı. Bu süreç tüm hayvanlar için tekrarlandı.

İkinci gün (Test günü): Test, 60 dakika ara ile birbirinden ayrılmış iki adet 3 dakikalık periyottan oluşturuldu. Birinci 3 dakikalık periyot tanıma evresi olarak kabul edildi ve bu periyotta birbiri ile aynı iki obje test düzeneğine yerleştirilip, 3 dakikalık süreçte deney hayvanının düzenekte serbestçe gezinerek bu objeleri tanıması sağlandı. 3 dakikalık süre dolduğunda hayvan düzenekten alındı ve kafesine konuldu (T1). 60 dakikalık aradan sonra hayvanın T1’de görmüş olduğu objelerden bir tanesi değiştirilecek ve tekrar aynı düzeneğe alınarak 3 dakika boyunca hayvanın düzenekte her iki obje ile de serbestçe vakit geçirmesi sağlandı (T2).

Her iki periyot da (T1 ve T2) bilgisayar destekli kamera ile kayıt altına alındı ve hayvanların T2 de her iki objeye karşı ilgileri de skorlandırıldı.

3.7 Serum Analizi

Obje tanıma testinden bir gün sonra LPS alacak gruplara 150 mcg/kg LPS (sigma;Escherichia coli serotip 055:B5 saat 10.00 da) intraperitoneal (ip) verildi. LPS verildikten 4 saat sonra ratlara ketamin 100 mg/kg intraperitoneal uygulanıp intrakardiyak kan alındı.

İnterlökin-1 β , IL-6, TNF-alfa, SOD ve BOHB ölçümleri için üretici talimatlarına göre ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) kitlerinde çalışılmak üzere kanlar toplandı. Serum eldesi için numuneler 20 dakika pıhtılaşma için bekletildikten sonra +4 °C’de 2000 g’de 15 dakika santrifüj edildi. Analiz edilmeden önce numuneler alikotlanarak -80° C ultraderin dondurucuda muhafaza edildi. Toplanan kan numunelerinde ELISA yöntemi kullanılarak IL-1 β (Thermo Fischer) pg/mL, IL-6 (Thermo Fisher) pg/mL, TNF- α (Thermo Fisher) pg/mL, BOHB (Abbkine) μ mol/L düzeyleri ve SOD (Cayman) U/mL aktivitesi ölçüldü. Okumalar Tecan marka Infinite 200 pro model mikropalak okuyucuda yapıldı.

3.7.1 Serum TNF- α analizi

Tümör nekroz faktör-a analizi sandviç ELISA yöntemi ile kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, ABD, katalog no: BMS622). Analiz için serum örnekleri kullanılmıştır. Analiz öncesi örnekler 1:2 oranında dilüsyon yapılmıştır. TNF-a analizinde standartlar, örnekler ve biyotin işaretli poliklonal anti-rat TNF-a antikoru, poliklonal anti-rat TNF-a antikoru ile kaplanmış mikropalak kuyucuklarında inkübe edilir. İnkübasyonun ardından yıkama işlemiyle bağlanmayan biyotin işaretli poliklonal anti-rat TNF-a beta antikoru uzaklaştırılır. Birinci yıkama sonrasında streptavidin-HRP konjugat eklenir, bir saatlik bir inkübasyon süresinin ardından yıkanarak bağlanmayan konjugatlar atılır ve kalan konjugat, substrat solüsyonu (TMB) ile reaksiyona sokulur. Reaksiyon asidik bir solüsyonun eklenmesiyle durdurulur. Oluşan sarı renkli ürünün absorbansı 450 nm’de ölçülür. Ölçülen absorbans TNF-a konsantrasyonu ile orantılıdır. Elde edilen absorbans değerleri, kit içeriğinde bulunan ve konsantrasyonları bilinen standart çözeltilerin absorbans değerleri aracılığıyla oluşturulan “TNF-a standart eğrisi” ile kıyaslanarak her bir örnekte bulunan TNF-a miktarı saptanır.

3.7.2 Serum IL-1 β analizi

İnterlökin-1 β analizi sandviç ELISA yöntemi ile kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, ABD, katalog no: BMS630). Analiz için serum örnekleri kullanılmıştır. Analiz öncesi örnekler 1:2 oranında dilüsyon yapılmıştır. IL-1 β analizinde standartlar, örnekler ve biyotin işaretli poliklonal anti-rat IL-1 β antikoru, poliklonal anti-rat IL-1 β antikoru ile kaplanmış mikropalak kuyucuklarında inkübe edilir. İnkübasyonun ardından yıkama işlemiyle bağlanmayan biyotin işaretli poliklonal anti-rat IL-1 β beta antikoru uzaklaştırılır. Birinci yıkama sonrasında streptavidin-HRP konjugat eklenir, bir saatlik bir inkübasyon süresinin ardından yıkanarak bağlanmayan konjugatlar atılır ve kalan konjugat, substrat solüsyonu (TMB) ile reaksiyona sokulur. Reaksiyon asidik bir solüsyonun eklenmesiyle durdurulur. Oluşan sarı renkli ürünün absorbansı 450 nm’de ölçülür.

Ölçülen absorbans IL-1 β konsantrasyonu ile orantılıdır. Elde edilen absorbans değerleri, kit içeriğinde bulunan ve konsantrasyonları bilinen standart çözeltilerin absorbans değerleri aracılığıyla oluşturulan “IL-1 β standart eğrisi” ile kıyaslanarak her bir örnekte bulunan IL-1 β miktarı saptanır.

3.7.3 Serum IL-6 analizi

İnterlökin-6 analizi sandviç ELISA yöntemi ile kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, ABD, katalog no: BMS625). Analiz için serum örnekleri kullanılmıştır. Analiz öncesi örnekler 1:2 oranında dilüsyon yapılmıştır. IL-6 analizinde standartlar, örnekler ve biyotin işaretli monoklonal anti-rat IL-6 antikoru, monoklonal anti-rat IL-6 antikoru ile kaplanmış mikropalak kuyucuklarında inkübe edilir. İnkübasyonun ardından yıkama işlemiyle bağlanmayan biyotin işaretli monoklonal anti-rat IL-6 antikoru uzaklaştırılır. Birinci yıkama sonrasında streptavidin-HRP konjugat eklenir, bir saatlik bir inkübasyon süresinin ardından yıkanarak bağlanmayan konjugatlar atılır ve kalan konjugat, substrat solüsyonu (TMB) ile reaksiyona sokulur. Reaksiyon asidik bir solüsyonun eklenmesiyle durdurulur. Oluşan sarı renkli ürünün absorbansı 450 nm’de ölçülür. Ölçülen absorbans IL-6 konsantrasyonu ile orantılıdır. Elde edilen absorbans değerleri, kit içeriğinde bulunan ve konsantrasyonları bilinen standart çözeltilerin absorbans değerleri aracılığıyla oluşturulan “IL-6 standart eğrisi” ile kıyaslanarak her bir örnekte bulunan IL-6 miktarı saptanır.

3.7.4 Serum BOHB analizi

Beta-hidroksi bütrat analizi sandviç ELISA yöntemi ile kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Abbkine, Inc., Çin, katalog no: KTE100913). Analiz için serum örnekleri kullanılmıştır. Analiz öncesi örnekler 1:5 oranında dilüsyon yapılmıştır. BOHB analizinde standartlar ve örnekler anti-rat BOHB antikoru ile kaplanmış mikropalak kuyucuklarında inkübe edilir, yıkanır ve ardından HRP-konjugat işaretli anti-rat

BOHB antikoru eklenerek ilk inkübasyonda tutulan BOHB molekülleri işaretlenir. Inkübasyonun ardından yıkama işlemiyle bağlanmayan HRP-konjugat işaretli anti-rat BOHB antikoru uzaklaştırılır. İkinci yıkama sonrasında kromojen solüsyonu eklenir, 15 dakikalık bir inkübasyon süresinin ardından reaksiyon asidik bir solüsyonun eklenmesiyle durdurulur. Oluşan sarı renkli ürünün absorbansı 450 nm’de ölçülür. Ölçülen absorbans BOHB konsantrasyonu ile orantılıdır. Elde edilen absorbans değerleri, kit içeriğinde bulunan ve konsantrasyonları bilinen standart çözeltilerin absorbans değerleri aracılığıyla oluşturulan “BOHB standart eğrisi” ile kıyaslanarak her bir örnekte bulunan BOHB miktarı saptanır.

3.7.5 Serum SOD aktivite ölçümü

Süperoksit dismutaz aktivite ölçümü ELISA yöntemi ile enzimatik olarak tayin edilmiştir (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, ABD, katalog no: 706002). Analiz için serum örnekleri kullanılmıştır. Analiz öncesi örnekler 1:5 oranında dilüsyon yapılmıştır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, tetrazolium tuzu ile meydana getirdiği formazan boyasının 450 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdaki uzaklaştırarak formazan reaksiyonunu inhibe eder. SOD’nin bir ünitesi tetrazolium tuzu indirgenme hızının % 50 inhibisyonudur. Tüm standart ve örneklerin absorbans değerleri en düşük standartın absorbansına bölünerek doğrusallaştırılmış oran hesaplanır. Standartların bilinen aktivitelerine denk gelen doğrusallaştırılmış oran değerleri kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi ve denklemi oluşturulur. Bu denklem ile hasta örneklerinin konsantrasyonları hesaplanır.

3.7.8 İstatiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-

Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca değerler kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen (nonparametrik) değişkenler gruplar arasında değerlendirilirken Kruskal Wallis Testi kullanılmıştır. Anlamlı çıkan değerlerin posthoc ikili karşılaştırmaları Mann Whitney U Testi ile yapılmıştır. Birden fazla ölçülen değerlerin gruplar arasındaki değişiminin karşılaştırması Tekrarlayan Ölçümler Analizi ile yapılmıştır. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi. Bellek testlerini değerlendirmek için ayrıca Graphpad Prism programı da kullanıldı.

4. BULGULAR

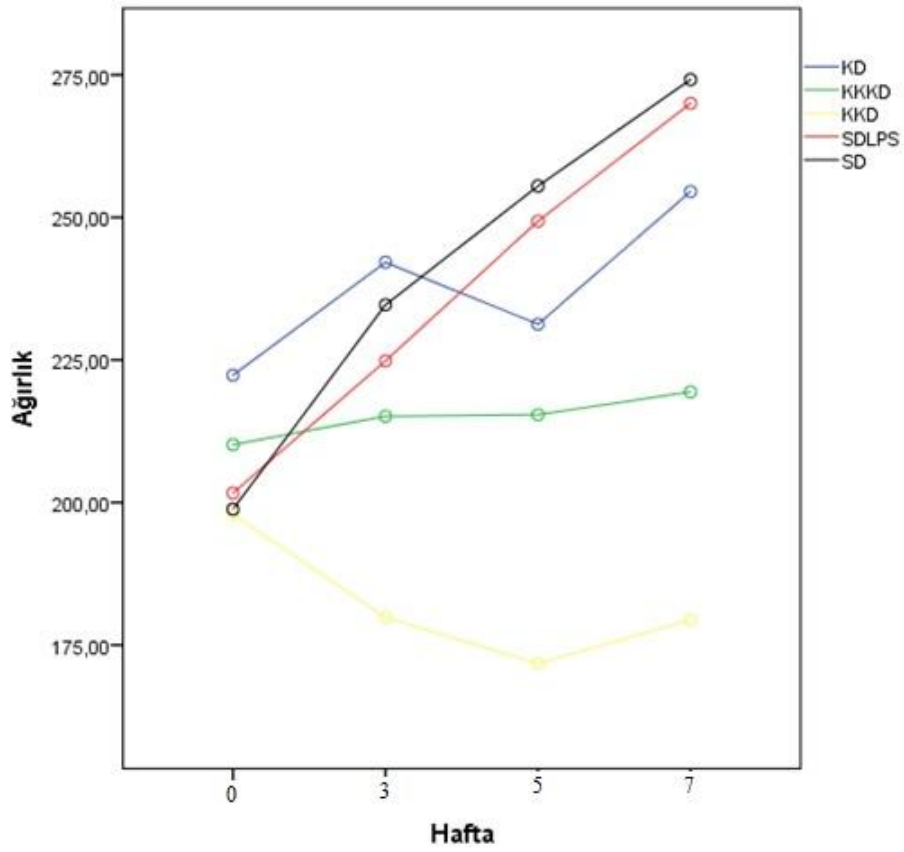
4.1 Ağırlık Değişimleri

Ağırlık değişimleri diyet gruplarına göre karşılaştırılmış ve anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Yapılan posthoc analizle bu anlamlılığın hangi gruplar arasında olduğu incelenmiştir. Buna göre KKKD ile KD ve SD grupları arasında anlamlı fark vardır. KKD grubunda ağırlık az da olsa sürekli artmıştır. KD grubunda önce artmış, sonra azalmış ve tekrar artmıştır. SD grubunda düzenli bir artış olduğu görülmektedir. KKD grubu ile diğer gruplar arasında da anlamlı fark vardır. KKD grubu önce azalma eğiliminde olup son ölçümde artış göstermiştir. Diğer gruplar ilk hafta artış göstermiştir (Tablo 3, Tablo 4).

Tablo 3. Ölçülen ağırlıkların gruplara göre karşılaştırılması

	0.hafta tartısı			3.hafta tartısı			5.hafta tartısı			7.hafta tartısı		
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan
KD	222,33	±14,62	220,00	242,13	±20,84	240,00	231,27	±30,25	220,00	254,53	±24,95	250,00
KKKD	210,13	±20,67	210,00	215,13	±14,90	212,00	215,40	±17,03	210,00	219,40	±23,19	215,00
KKD	197,92	±17,51	192,50	179,83	±17,88	174,50	171,75	±16,70	166,50	179,42	±23,78	169,50
SDLPS	201,67	±13,66	202,50	224,83	±10,30	227,50	249,33	±9,03	250,00	270,00	±17,03	266,00
SD	198,83	±10,46	198,50	234,67	±11,41	237,00	255,50	±14,20	259,00	274,17	±9,45	274,50

Tekrarlayan ölçümler analizi



Şekil 16. Grupların haftalara göre ağırlık değişimi

Tablo 4. Grupların haftalara göre ağırlık değişimleri

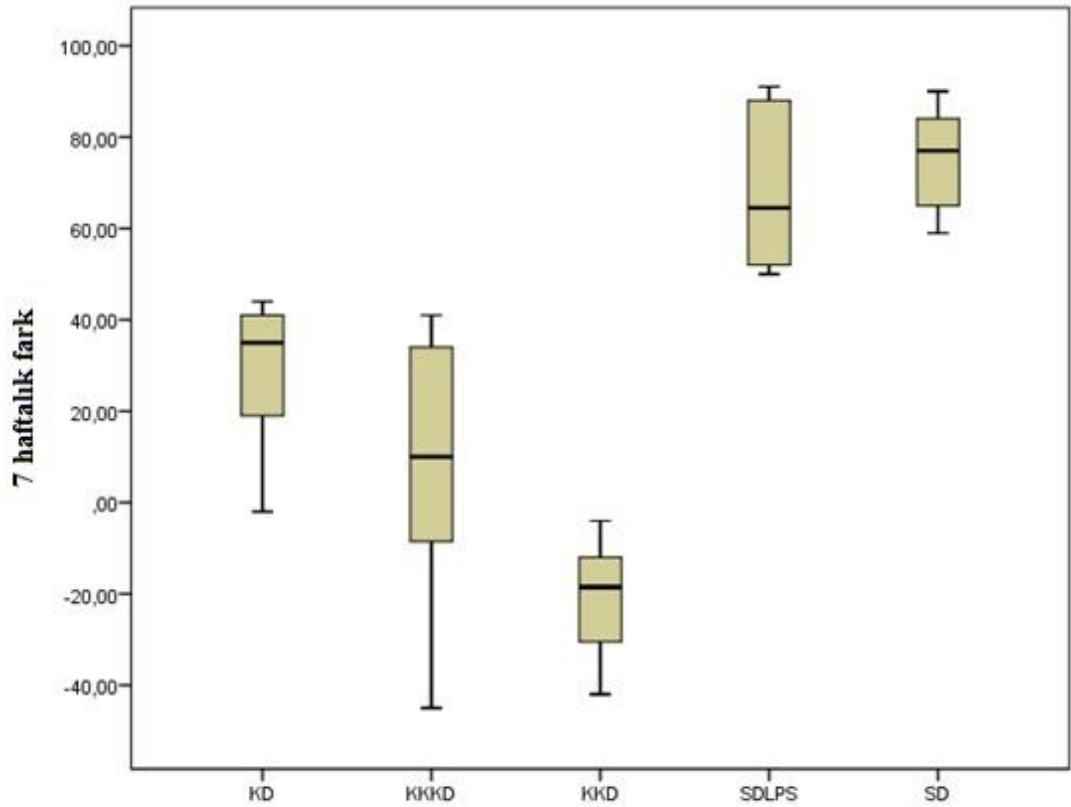
	0-3. hafta farkı			3-5. hafta farkı			5-7. hafta farkı		
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan
KD	19,80	±13,00	20,00	-10,87	±13,86	-9,00	23,27	±13,95	28,00
KKKD	5,00	±16,12	-1,00	,27	±7,76	2,00	4,00	±16,03	,00
KKD	-18,08	±5,02	-20,00	-8,08	±6,27	-9,50	7,67	±16,18	8,50
SDLPS	23,17	±9,28	22,00	24,50	±6,83	24,50	20,67	±10,65	20,00
SD	35,83	±18,02	31,00	20,83	±11,07	20,50	18,67	±5,47	17,00

Gruplar arasında ağırlıktaki 7 haftalık fark karşılaştırılmıştır. Buna göre KD grubundaki ağırlık artışı KKKD ve KKD gruplarına göre daha fazla, SDLPS ve SD gruplarına göre daha azdır. KKKD grubundaki ağırlık artışı KKD grubuna göre daha

fazla, SDLPS ve SD gruplarına göre daha azdır. KKD grubunda ağırlık değişimi SDLPS ve SD gruplarına göre daha azdır (Tablo 5, Şekil 17).

Tablo 5. Gruplar arasında 7 haftalık tartı farkının karşılaştırılması

	1-7 haftalık fark			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	32,20	±19,32	35,00	<0,001
KKKD	9,27	±25,31	10,00	
KKD	-18,50	±17,01	-18,50	
SDLPS	68,33	±17,85	64,50	
SD	75,33	±12,39	77,00	



Şekil 17. Grupların 7 haftalık ağırlık farkı değerleri

SD+SDLPS grupları birleştirilerek (çünkü LPS yapılmadan önce deney grupları tartılmıştır) diğer gruplar ile karşılaştırılmıştır. SD+SDLPS grubundaki 7 haftalık tartı değişim yüzdesi (%36,19±8,73), KD grubuna (%14,53±8,43), KKKD grubuna (%5,01±12,14) ve KKD grubuna (%-9,36±8,88) göre daha fazladır. (Tablo6)

Tablo 6. 7 haftalık tartı farkı yüzdesi

	7 haftalık tartı farkı yüzdesi			p
	Ort	s.s.	Medyan	
SD+SDLPS	36,19	±8,73	35,99	
KD	14,53	±8,43	14,89	<0,001
KKKD	5,01	±12,14	5,00	<0,001
KKD	-9,36	±8,88	-10,14	<0,001

Mann Whitney U Testi

4.2 Glukoz Düzeyleri

Ölçülen glikoz değerlerindeki değişimin gruplar arasında karşılaştırılması sonucu anlamlı ilişki bulunamamıştır (p=0,828) (Tablo7). 7. haftada LPS ve salin uygulaması sonrası bakılan kan şekerlerinde KD alan grupta ortalama 118,53±31,0, KKKD alan grupta 110,80±16,74 , KKD grubunda 86,92±19,07 , SDLPS grubunda 101,33±5,35, SD grubunda 102,50±5,75 şeklinde tespit edilmiştir. Hipoglisemi veya hiperglisemi yaratan diyet terapisi olmamıştır.

Tablo 7. Gruplar arasında glikoz değerlerinin karşılaştırılması

	14. gün kan şekeri			7.hafta kan şekeri			p
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
KD	120,87	±29,84	114,00	118,53	±31,08	124,00	0,828
KKKD	103,73	±11,66	104,00	110,80	±16,74	113,00	
KKD	95,75	±6,06	92,50	86,92	±19,07	80,50	
SDLPS	103,17	±7,14	103,00	101,33	±5,35	100,00	
SD	103,00	±6,29	102,50	102,50	±5,75	100,00	

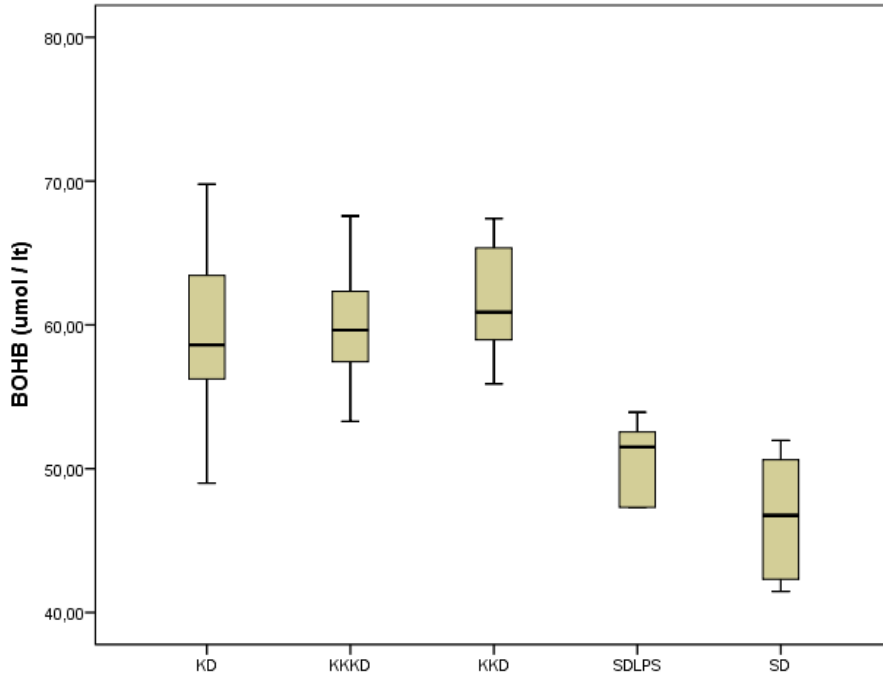
4.3 Beta-Hidroksi Bitürat Ölçümleri

BOHB değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. KD, KKKD, KKD gruplarının BOHB değerleri SDLPS, SD gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 8, Şekil 18).

Tablo 8. Gruplar arasında BOHB değerlerinin karşılaştırılması

	BOHB			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	59,40	±5,56	58,61	<0,001
KKKD	60,24	±4,62	59,64	
KKD	61,75	±3,85	60,89	
SDLPS	50,69	±2,82	51,52	
SD	46,65	±4,38	46,76	

Kruskal Wallis Testi



Şekil 18. Gruplara göre BOHB değerleri

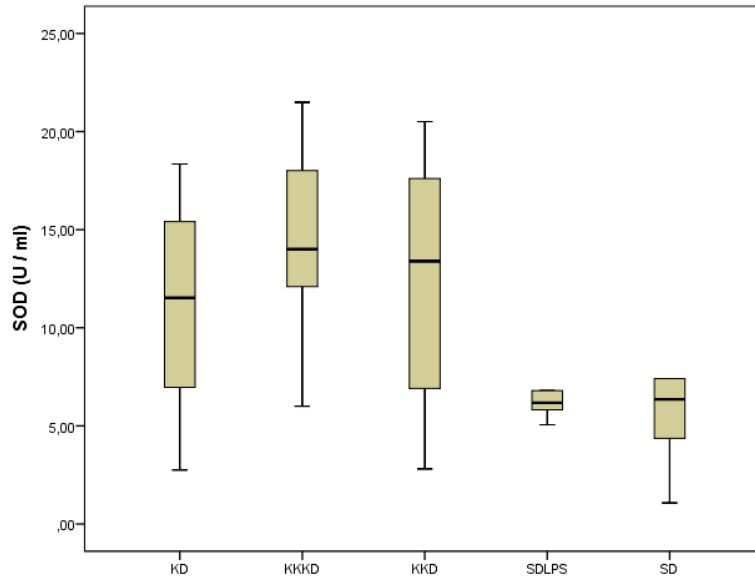
4.4 Süperoksit Dismutaz Ölçümleri

Süperoksit dismutaz düzeyi gruplara göre karşılaştırılmıştır. Buna göre KKKD grubunun SOD değeri SDLPS ve SD gruplarına göre daha yüksektir ($p:0,007$). KKKD grubu ile KD ve KKD grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Yani ketonemi yaratan diyetlere bakıldığında SOD düzeyleri arasında belirgin bir farklılık tespit edilememiştir (Tablo 9, Şekil 19)

Tablo 9. Gruplar arasında SOD değerinin karşılaştırılması

	SOD (U/ml)			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	11,00	±5,44	11,53	0,007
KKKD	14,51	±4,47	14,01	
KKD	12,49	±6,07	13,40	
SDLPS	6,86	±2,19	6,18	
SD	6,39	±3,86	6,35	

Kruskal Wallis Testi



Şekil 19. Gruplara göre SOD değerleri

4.5 İnterlökin-1 Düzeyleri

Sitokin düzeylerine bakıldığında LPS ile inflamasyon oluşturulmayan grupta sitokin düzeyleri önemsenmeyecek kadar düşüktür. LPS yapılan gruplarda, IL-1 değeri gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı ilişki saptanamamıştır. Salınan SD grubu hariç diğer tüm diyet terapilerinde IL-1 düzeyi benzer oranda artış

göstermiştir. Salin alan grubun IL-1 düzeyi önemsenmeyecek kadar düşük ölçülmüştür (Tablo 10).

Tablo 10. Gruplar arasında IL-1 değerinin karşılaştırılması

	IL-1 (pg/ml)			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	573,68	±271,21	488,54	0,087
KKKD	739,91	±524,30	551,82	
KKD	854,32	±762,79	468,77	
SDLPS	683,79	±374,15	595,43	
SD	156,63	±114,93	97,34	

Kruskal Wallis Testi

4.6 İnterlökin-6 Düzeyleri

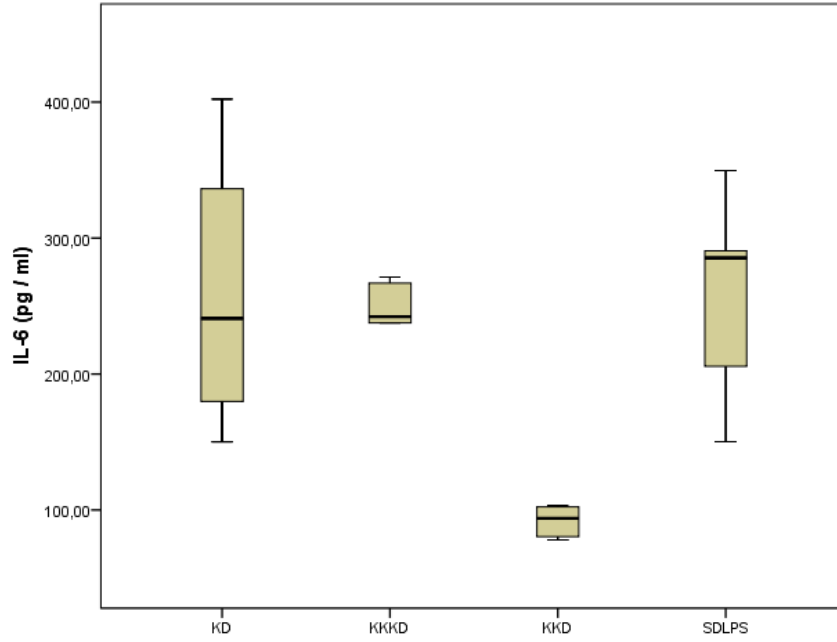
İnterlökin-6 gruplar arasında karşılaştırıldığında; KKD grubunun ($91,92 \pm 10,89$ pg/ml) IL-6 değerinin diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p:0,004$) (Tablo 11, Şekil 20).

Tablo 11. Gruplar arasında IL-6 değerinin karşılaştırılması

	IL-6 (pg/ml)			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	260,79	±101,68	240,94	0,004
KKKD	234,19	±45,96	242,14	
KKD	91,92	±10,89	93,87	
SDLPS	256,31	±78,32	285,46	

Kruskal Wallis Testi

(*IL-6 düzeyi SD grubunda ölçülemeyecek kadar düşük saptandığı için tabloya eklenmemiştir.)



Şekil 20. Grupların IL-6 değerleri

4.7 Tümör Nekroz Faktör-a Düzeyleri

TNF-a değeri grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı ilişki olmadığı görülmüştür (Tablo 12). LPS yapılan gruplarda TNF-a değeri benzer şekilde artmıştır. Salin yapılan SD grubunda ise önemsiz derecede düşük gelmiştir.

Tablo 12. TNF alfa değerinin gruplara göre karşılaştırılması

	TNF-a			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	118,686	±31,78	111,676	0,077
KKKD	132,975	±27,59	129,976	
KKD	135,663	±46,81	121,902	
SDLPS	133,525	±31,17	132,177	
SD	97,502	±16,72	99,054	

Kruskal Wallis Testi

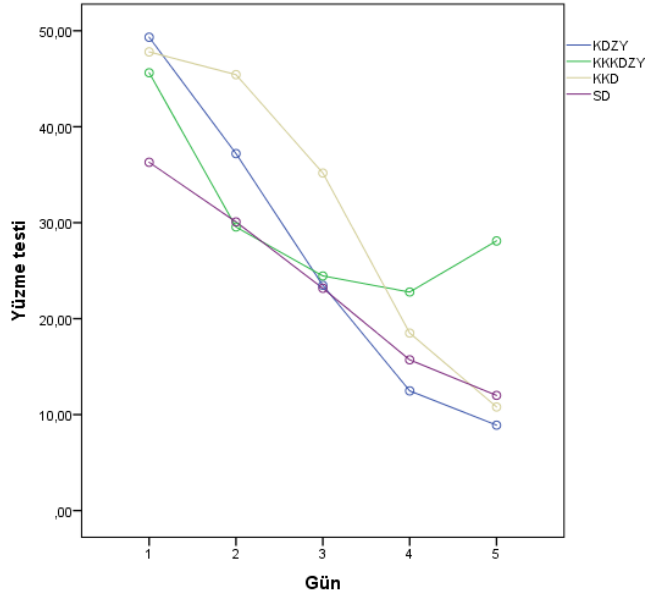
4.8 Morris Su Labirenti Testi ve Yeni Obje Tanıma Testi

Morris su labirenti testi sonuçlarının değişimi gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı ilişki olduğu görülmüştür. Fakat yapılan posthoc analizle gruplar arasında anlamlı ilişki olmadığı saptanmıştır. Tüm gruplarda tekrarlayan uygulamalar sonucu test günü hedef kadranı bulma süresi azaldı; ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadı (Tablo 13, şekil 21, şekil 22)

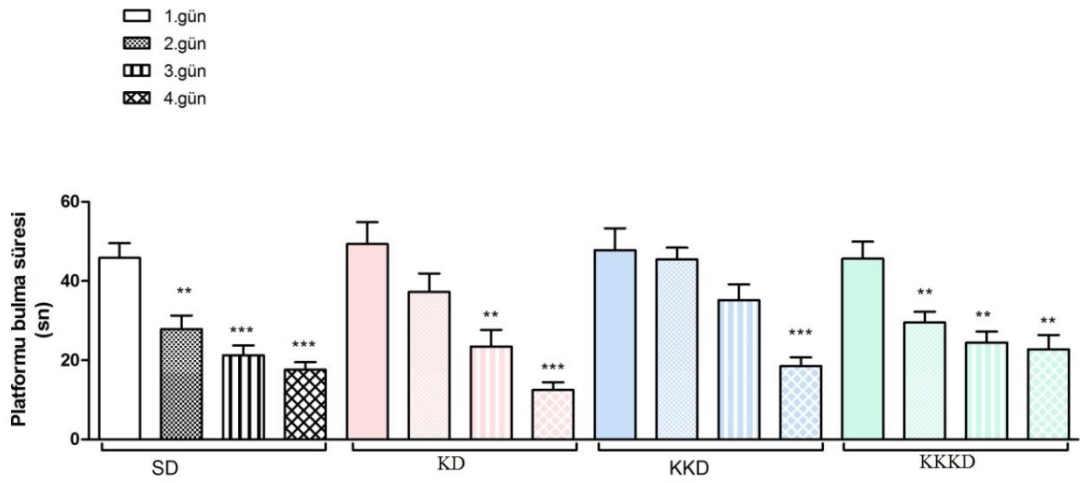
Tablo 13. Grupların günlük yüzme testi sonuçlarının karşılaştırılması

	1. gün			2. gün			3. gün			4. gün			5. gün		
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan
KD	49,33	±17,49	55,00	37,20	±14,80	36,50	23,48	±13,22	19,75	12,48	±6,16	12,13	8,90	±7,91	6,00
KKKD	45,63	±13,57	47,88	29,55	±8,47	31,38	24,45	±8,81	25,38	22,78	±11,39	21,38	28,10	±22,50	22,50
KKD	47,80	±17,44	45,63	45,43	±9,55	47,88	35,18	±12,64	33,38	18,50	±7,09	15,38	10,80	±9,07	8,00
SD	36,29	±10,25	36,88	30,08	±13,52	27,63	23,17	±9,30	22,13	15,71	±5,57	17,75	12,00	±6,69	10,50

Tekrarlayan lmler analizi



Şekil 21. Gruplara göre günlük yüzme testi sonuçları



Şekil 22. Gruplara göre günlük yüzme testi sonuçları (Graphpad Prism)

Gruplar arasında yeni obje tanıma ile kısa bellek yanıtını değerlendirmek için Discrimination Index ($p=0,335$) ve Preferential Index ($p=0,335$) değerleri karşılaştırılmış, anlamlı ilişki bulunamamıştır. (Tablo 14, Tablo 15, Şekil23)

Tablo 14. Gruplar arasında Discrimination Index karşılaştırması

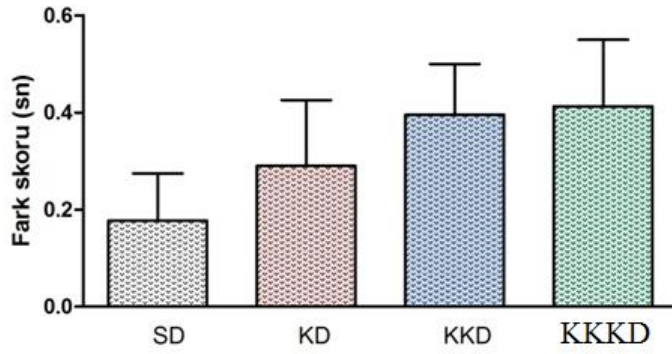
	Discrimination Index (Fark skoru)			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	,29	±,52	,27	0,335
KKKD	,05	±,53	,10	
KKD	,30	±,48	,48	
SD	-,09	±,54	,16	

Kruskal Wallis Testi

Tablo 15. Gruplar arasında Preferential Index karşılaştırması

	Preferential Index			p
	Ort	s.s.	Medyan	
KD	,65	±,26	,64	0,335
KKKD	,53	±,27	,55	
KKD	,65	±,24	,74	
SD	,46	±,27	,58	

Kruskal Wallis Testi



Şekil 23. Yeni obje tanıma testinde gruplar arası fark skoru (Graphpad Prism)

5. TARTIŞMA

Ketojenik diyet, yüksek yağ ve düşük karbonhidrat ile ketonemi ve rölatif hipoglisemi yaratan bir diyetir (100). Kritik hastalıklarda hiperglisemi, hipoglisemi ve kan glukozunun sürekli değişiklik göstermesi yükselen morbidite ve mortalitenin belirleyicisidir. Glikozdaki bu değişikliklere enteral ve parenteral nutrisyon ile değişen insulin seviyelerinin aracılık ettiği düşünülür (4). Bu amaçla diyet karbonhidratlarının eliminasyonu veya aşırı azaltılması, yağ bazlı metabolizmaya ve azalmış insülin seviyelerine neden olur. Birkaç hafta sonra vücut, sürekli ketonemi ve ketonüri ile sonuçlanan bir ketojenik duruma ulaşır. Böyle ketojenik durum yaratmak için üç diyet terapisi seçilebilir: KK, KKKD, ÖKD (ökalorik KD). İlk iki diyet terapisi kilo kaybına neden olup tip-2 DM’de kilo kaybını sağlaması amacı ile kullanılır. ÖKD ise çocuklarda AEİ dirençli epilepsilerde kullanılırken kilo kaybı yaratmadan normal büyümeye de izin verir. KKKD ve KKD gibi ciddi hipokalorik rejimlerin kullanımı, sepsis ve majör yanıklar, travmatik beyin hasarı ve majör travma gibi ciddi katabolik durumlarda etkisiz kalabilir. ÖKD ile yeterli protein alımı sayesinde uygun klinik sonuçlar alınabilir; ama yine de ÖKD’nin de orta ile şiddetli yaralanmalarda ve ciddi enfeksiyonlarda sonuçları iyileştirmede etkili olup olmadığı bilinmemektedir (101).

Ökalorik ketojenik diyetler yeterli kalori desteği sağlarken, kan glukozunun sürekli değişkenlik göstermesini, lipit disregülasyonu ve organ disfonksiyonu yapmadan minimize etmeye çalışırlar (102). Nandivada ve ark. 2016’da 6 haftalık erkek farelerde yaptığı çalışmada ÖKD alan grupta LPS ile oluşturulan akut inflamasyon sonrası postprandiyal periyotta hipoglisemi riskinin SD’e göre daha az, postabsorptif fazda ikisinin eşdeğer oranda hipoglisemi yaptığını söylemiştir (4). Aynı çalışmada SD ve ÖKD alanların tartılarında önemli bir değişiklik olmamıştır (4). 2016 yılında yaş ortalaması 4.6 yıl olan epilepsili 158 çocuğun dahil edildiği bir çalışmada KD’in en sık yan etkileri arasında kusma, gıda reddi ve hipoglisemi olduğu tespit edildi. (103) En son 2019 yılında Lorenzo ve ark.’nın omega-3 ağırlıklı KD (O3KD), ÖKD ve SD’i karşılaştırdığı ratlarla yaptığı bir çalışmada

glikoz değerlerinin postprandiyal periyotta üç diyet grubunda da benzer olduğunu ama postabsorptif periyotta sadece SD ile LPS uygulanan ÖKD grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı sayılabilecek, endotoksin uygulamasından sadece 60 dk sonra saptanan, ÖKD’de de daha yüksek glukoz seviyeleri olduğunu gösterdi (101). Aynı çalışmada ağırlıklar kıyaslandığında ÖKD ve O3KD alan gruplar daha düşük tartı alımı elde ettiler. SD’ye kıyasla KD ile beslenen bazı grupların elde ettiği bu düşük ağırlıklar, kısmen ketoz durumu ve sonuçta ortaya çıkan ketonüri ile artan diürezle açıklanabilir kanısına varıldı (101). Çalışmamızdaki tartı durumları Lorenzo ve ark.’larının yaptığı çalışmaya neredeyse benzerdir (101). Bizim çalışmamızda da SD alan gruplarda düzenli bir tartı alımı vardı. Bazal tartılarına göre belirgin tartı kazanımı elde ettiler. KKKD, SD ve KD ile kıyaslandığında en az tartı elde eden gruptu. KKD alanların tartıları ise kendi bazal tartıları ile kıyaslandığında tartı kaybı yaşadıkları görüldü. Lorenzo ve ark.’larının yaptığı çalışmada SD’in kalori kısıtlanmış hali yoktu (101). Çalışmamızda bu tartı durumları ile keton (BOHB) ve glikoz düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Bu nedenle büyüme döneminde olan çocukların tartı kaybı yaşamadan hipokalorik diyet ile ketonemi durumunu sağlamaları için KD terapilerinin KKD’e tercih edilmesi gerektiği düşünüldü.

Ketonemi yapan diyet terapileri son zamanlarda AEİ dirençli epilepsi ve inflamasyon ilişkili epileptik ensefalopatilerde kullanılsa da yarattıkları inflamatuvar cevaplar sayesinde deneysel nörolojik hastalık modellerinde de kullanılmaya başlanmıştır. KD’in bu inflamatuvar cevaplarının özellikle proinflamatuvar sitokin düzeylerini azaltarak yaptığı düşünülür. (100) 2015 yılında Dupuis ve arkadaşları tarafından ratlara 2 hafta KD verilip, iki haftanın sonunda ip LPS yapılmıştır (71). Deney sonunda ateşin ve pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF-a ve IL-1 β) seviyelerinin azaldığı görülmüştür (71). 2015 yılında Asrih ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada da KD ile TNF-a ve IL-1 β düzeylerinin karaciğerde artıp, beyaz yağ dokusundan azaldığı gösterilmiştir (72). Bu durum KD’in farklı dokularda farklı inflamatuvar yanıtlar oluşturabileceğini göstermiştir (72). KKD’nin de anti-inflamasyonda etkili olduğu düşünülmüştür. Kalori fazlalığı ile meydana gelen tip-2 diyabet ve obezite gibi hastalıklardaki steril inflamasyon, immün aktivasyona neden

olan temel durumdur. Bu gibi hastalıklarda NLRP-3, aşırı kalori alımı ile artar. KK ile NLRP-3 inhibe edilmeye çalışılarak IL-1 β gibi sitokin düzeyleri azaltılmaya çalışılır (89). Sepsis çalışmalarında ise kalori fazlalığının bakteriyel inflamasyonda ölümcül olabileceği gösterilmişken, viral inflamasyonlarda mortaliteye karşı koruyucu olabileceği gösterilmiştir (104). 2015 yılında Nandivada ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise inflamatuvar cevap olarak bakılan IL-6 ve TNF-a düzeylerinde postabsortif ve postprandiyal periyotlarda KD ile SD alan ratlar arasındaki sitokin farklılıkları anlaşılmaya çalışılmıştır (4). Postprandiyal periyotta IL-6 seviyelerinde SD+LPS ve KD+LPS alanlarda önemli bir farklılık olmadığı, TNF-a düzeyinin ise KD+LPS alanlarda belirgin yüksek olduğu görülmüştür. Ancak postabsortif periyotta KD alanlarda IL-6 ve TNF-a düzeyi belirgin düşük ölçülmüştür (4). Lorenzo ve ark.'larının 2019 yılında yaptıkları deneyde KD ve SD uygulanan ratlara LPS sonrası postabsorbif ve postprandial dönemlerde inflamatuvar yanıt bakıldı (101). IL-6 seviyeleri bu deneyde O3KD alanlarda postabsortif dönemde en düşük iken postprandiyal dönemde diyetler arasındaki sitokin düzeyi farkı kayboldu. TNF-a düzeyi ise postabsortif dönemde O3KD alanlarda ÖKD ve SD alanlara göre düşük iken IL-6'da olduğu gibi postprandiyal dönemde benzer şekilde yükseldi (101). Bizim çalışmamızda ip LPS sonrası serumda bakılan pro-inflamatuvar sitokin cevaplarında KD, KKKD, KKD ve SD gruplarında IL-1 β ve TNF-a düzeyleri ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ve hepsinde bu sitokinlerin düzeyi artmıştır. IL-6 cevabı ise KKD'de belirgin azalmıştır (p=0,004). Ancak KD ve KKKD durumlarında da IL-6 seviyesi artmıştır. IL-6 hem proinflamatuvar hem de anti-inflamatuvar etkili bir sitokindir. IL-6'nın KKD alanlarda anti-inflamatuvar faza geçmiş olabileceğini düşündük. Çalışmamızda KD, KKKD ve KKD ile benzer BOHB seviyesi sağlanarak ketozis oluşturulduğunu ketozis ile IL-1 β ve TNF-a yanıtlarının baskılanmadığını gösterdik. Ayrıca ratlarımızdan LPS ve salin ip enjeksiyonu sonrası kan almadan önce bir hafta boyunca her deney grubundan 10 rata bellek testi yaptık ve bu durumun dişi ratları fazladan strese soktuğunu düşündük. Bu stres durumunun akut bakteriyel inflamasyona verilecek cevabı etkileyip IL-1 β ve TNF-a düzeylerini arttırmış olabileceğini düşündük. Aynı zamanda Nandivada ve Lorenzo'nun çalışmalarına benzer olarak biz kan örneklerimizi postprandiyal zamana denk gelecek şekilde aldık, ancak farklı olarak

postabsoratif dönemde kan örneği almadık (4) (101). Bu çalışmalara benzer şekilde TNF-a ve IL-1 yanıtlarını postprandiyal dönemde yüksek bulduk (4) (101). Bu durumun yağ asidi sirkülasyonu ile alakalı olabileceği görüşü çalışmamızla da desteklenmektedir. KKD'de IL-6 yanıtının baskılanmasının, KKD'nin KD ve KKKD'ye üstünlüğü olabileceğini düşündük.

Beta-hidroksi bütirat ve asetoasetat gibi ketonların yükselmesi anlamına gelen ketozis, glikoz sentezi için kas kullanımını engelleyerek, beyine glikoz sağlayıp aç kalmanın merkezini oluşturmuştur (79). Bu ketonlar oksidatif stresi azaltıp, antioksidanların düzeyini arttırarak serbest radikalleri temizlerler (80). Aslında BOHB'nin koenzimQ'yu okside etme ve NADP⁺'yi azaltma kabiliyeti ROS hasarını azaltır (79). Çalışmalar, KD'nin mitokondriyal niceliği ve / veya niteliği etkileyerek oksidatif stresi etkileyebileceğini göstermiştir. Bu bilgiye dayanarak Parry HA ve ark.'ları 10 aylık 344 rat ve izokalorik KD ve SD'nin kullanıldığı bir deneyde, karaciğer ve iskelet kas dokusundan SOD1 ve CAT düzeylerine baktı (105). Bakılan SOD1ve CAT antioksidan seviyeleri, KD'de anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek (sırasıyla, p = 0.094 ve p = 0.062) bulundu. Burada KD'in antioksidan seviyelerinde değişiklik yapmadan mitokondri hacmini arttırdığı gösterildi (105). Oksidatif stres ve inflamasyon, spinal kord hasarlanmasının ardından iki anahtar patolojik mekanizma olduğu için 2018 yılında Lu Y. ve ark.'ları spinal kord hasarlanması sonrası SD ve KD'in yanıtlarına baktılar (106). KD'in hem antioksidan hem de anti-inflamatuar özelliklere sahip olduğunu gösterdiler. Antioksidan belirteç olarak SOD, anti-inflamatuar belirteç olarak ise myeloperoksidaz (MPO) düzeylerini kullandılar. KD alanlarda SOD belirgin yüksek, MPO belirgin düşük çıktı (106). Bu mekanizma üzerinden yapılan bir başka deney ise 2017 yılında Wang X ve ark. aitti (107). Farklı diyet müdahaleleri ile indüklenen ketojenik metabolizmanın, hasarlı spinal korda sahip ratlarda, potansiyel antioksidan kapasiteyi nasıl etkilediğini araştırmak istediler. KD, gün aşırı KD, gün aşırı SD ve SD'i 2 hafta boyunca ratlara uyguladılar. 2. haftanın sonunda spinal kord hasarı öncesi ve hasardan 24 saat sonrasında, antioksidan parametreler olarak FOXO3a, SOD ve CAT baktılar. Ketonu yükselten diyetlerin bu antioksidan parametreleri yükselttiğini gösterdiler. Ve bu üç diyet içinde antioksidan parametleri en fazla yükselten grubun gün aşırı uygulanan KD

olduğunu buldular (107). Biz de çalışmamızda keton düzeylerini arttıran diyet terapileri arasında bir fark olup olmadığını göstermeye çalıştık. Çalışmamızda antioksidan parametre olarak kullanılan SOD düzeyi, SD ve SDLPS alan gruplarda belirgin düşük; KD, KKKD ve KKD alanlarda ise yüksek bulundu. SDLPS ve SD gruplarına kıyasla SOD düzeyini en fazla arttıran KKKD olmasına rağmen, keton sağlayan diyetler arasında belirgin bir farklılık tespit edilemedi ve bu üç diyetin antioksidatif özellikler bakımından birbirlerine üstünlükleri olmadığı gösterildi.

Ketojenik diyetin epilepsi tedavisindeki etkileri gösterilirken, beyin gelişimi üzerindeki etkileri hala netleştirilememiştir. Bu nedenle araştırmalar hala devam etmektedir (76). KD; mitokondriyal işlevleri yükseltir, apoptoz ve inflamasyonu azaltır, nöroprotektif fonksiyonları artırır. KK'nin de nöroprotektif özellikleri mitokondriyal fonksiyonları artırması ve proapoptotik, inflamatuvar faktörleri azaltan gen ekspresyonlarını düzenlemesine dayandırılmaktadır (78). 2017 yılında Newman ve ark.'larının yaptığı çalışmada ise KD ve siklik uygulanan KD'nin orta yaşta ölüm oranını azalttığı ama maksimum ömrü etkilemediği tespit edildi. Aynı deneyde KD yaşlılıkta bellek performansını iyileştirmiştir. (108) KK ile hafıza arasında ilişkiyi göstermek için mitokondriyal biyogenez mekanizmalarından olan AMPK ve GLUT-4'e bakılmıştır. KK ile AMPK ve GLUT-4 üretiminin arttığı bulunmuştur. Bu artışla hipokampusu bağlı mekansal öğrenme yeteneğinin artabileceği 2017'de bir rat deneyinde gösterilmiştir (95). KK'nın, yetişkin kemirgenlerde BDNF seviyelerini artırarak nörojenezi arttırdığını gösteren ilk çalışma Lee ve arkadaşları tarafından 2002 de yapılmıştır (97). 2016 yılında 10 ay boyunca KK ile beslenen 36 haftalık 30 fareye yaş ile ilişkili öğrenme durumunun değerlendirilmesi için Morris'in su tankı testi uygulanmış, KK'nın apoptozisi baskılayarak uzun süreli belleğin gelişimine yardım ettiği gösterilmiştir (109). Son zamanlarda çeşitli çalışmalar, Sirtuin 1 proteininin (SIRT1) KK'ı takiben nöroproteksiyonda önemli bir rol oynadığını göstermiştir. 2019 yılında Rubovitch'nin yaptığı bir fare modelinde, hafif derecede kapalı beyin travmasının ardından korteks ve hipokampusta SIRT1 düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu bulunmuştur (110). Bu azalmadan sonra fareler günlük KK ve gün aşırı aralıklı beslenmeye tabii tutulmuştur. Burada hipokampusu bağlı öğrenme ve hafızayı

değerlendirebilmek için yeni obje tanıma testi kullanılmıştır. Ad libitum ile beslenen farelerde yaralanmadan 30 gün sonra hipokampusu bağlı öğrenme ve hafıza bozulmuş, ancak günlük KK ve gınaşırı aralıklı beslenme uygulanan gruplarda bozulmamıştır. Bu sonuçlar, travmatik beyin hasarı olanlarda, beyin hasarını azaltmak ve fonksiyonel sonucu iyileştirmek için KK'yı ve gün aşırı aralıklı beslenmeyi klinik kullanım için potansiyel bir tedavi şekli olarak göstermiştir (110).

Ketojenik diyetin uzun dönemde nöroprotektif özelliğinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Qian ve arkadaşlarının 2004'te ratlarla yaptığı bir çalışmada; KD'nin aktivite düzeyi ve duygusallık üzerinde minimal etkisi olduğu ve beyin büyümesini önemli ölçüde bozduğu iddia edilmiştir (76). Bu çalışmada KD ve SD grupları arasında patoloji skorlarında bir fark görülmemiştir. Nöbetlerin sayısını azaltmasına rağmen, KD görsel-uzamsal bellekte ciddi bozulmalara yol açmıştır. Yosun lifi filizlenmesini etkilemeden beyin gelişimini azaltmış olduğu bu çalışmada gösterilmiştir (76). 2019'da Huang J ve arkadaşları 2-3 aylık farelere KD uygulayarak yaptığı çalışmada KD alan farelerin yavaş kilo artışı ve artmış nöbet eşiği göstermesine rağmen, davranış testleri ve elektrofizyolojik deneylerde SD ile beslenen farelerle benzer yanıtlar elde etmiştir (111). Biz de çalışmamızda ketonemi yaratan diyetlerin nöroprotektif özelliklerini anlamak için ratlara uzun ve kısa dönem bellek fonksiyonlarını test edebilmek amacıyla Morris'in su tankı testi ve yeni obje tanıma testlerini uyguladık. Ancak bu testlerin sonucunda SD ile diğer diyet terapileri arasında anlamlı bir farklılık bulamadık. Çalışmamız ile şimdilik ketozis yaratan bu diyet terapilerinin birbirlerine ve SD'ye üstünlüklerinin olmadığı gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

- KKD diyet terapileri arasında tartı kaybına yol açan tek gruptur.
- KD ve KKKD, SD ile kıyaslandığında beklendiği gibi daha az tartı alımına neden olmuştur.
- KKD, IL-6 düzeyini baskılayan tek diyet grubudur.
- KKKD, SD'ye göre SOD düzeyini en belirgin arttıran gruptur. Ketozis yapan üç diyet grubunda da SOD düzeyi artmıştır. KKKD, KD ve KKD ile kıyaslandığında aralarındaki fark anlamlı olmamakla beraber SOD düzeyini daha fazla yükseltmiştir. Büyüme döneminde tartı alımını da engellemediği için antioksidan tedavi olarak KD ve KKKD kullanılabilir.
- Glukoz düzeyleri diyet terapileri arasında farklılık göstermemiştir. Hipoglisemi veya hiperglisemi yapan diyet grubu saptanmamıştır. Ketonemi yapan diyet terapileri bu amaçla güvenle kullanılabileceği çalışmamızda gösterilmiştir.
- IL-1 β ve TNF-a düzeyleri LPS yapılan tüm diyet gruplarında yüksek bulunmuştur. Ketonemi yapan diyetlerin anti-inflamatuvar özelliklerini göstermek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.
- Uzun ve kısa dönem bellek üzerine etkilerine bakıldığında tüm diyet terapileri arasında anlamlı bir fark saptanamadığı için büyüme döneminde keton yaratan diyet tedavilerinin bellek üzerine etkilerinde, SD'e üstünlüklerinin olmadığı çalışmamız ile gösterilmiştir.

7. KAYNAKÇA

1. Abbas Abul K., Andrew HH Lichtman, and Shiv Pillai. Temel İmmünoloji. Güneş Tıp Kitapevleri, 2015.
2. Özbek M., Hitit M., Ergün E., Beyaz F., Ergün L. Toll Benzeri Reseptörler. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2017;5(2): 180-192.
3. Traba Javier, and Michael N. Sack. The role of caloric load and mitochondrial homeostasis in the regulation of the NLRP3 inflammasome. Cellular and molecular life sciences, (2017);74(10): 1777-1791.
4. Nandivada P, Fell GL, Pan AH, Nose V, Ling PR, Bistrian BR, Puder M. Eucaloric ketogenic diet reduces hypoglycemia and inflammation in mice with endotoxemia. Lipids, 2016;51(6): 703-714.
5. Banerjee Monisha, and Madhukar Saxena. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. Clinica chimica acta, 2012;413(15-16): 1163-1170.
6. Dinarello AC. Interleukin-1. Cytokine & Growth Factor Reviews, 1997;8(4): 253-265. 10.1016/S1359-6101(97)00023-3.
7. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochim Biophys Acta., 2011;1813(5): 878-88. 10.1016/j.bbamcr.2011.01.034.
8. Milica Milovan Borovcanin, Ivan Jovanovic, Gordana Radosavljevic, Jelena Pantic, Slavica Minic Janicijevic, Nebojsa Arsenijevic and Miodrag L. Lukic. Interleukin-6 in Schizophrenia—Is There a Therapeutic Relevance. Front. Psychiatry, 2017. 10.3389/fpsy.2017.00221.
9. Ghasemi H. Roles of IL-6 in Ocular Inflammation: A Review. Ocul Immunol Inflamm, 2018;26(1): 37-50. 10.1080/09273948.2016.1277247.
10. Rose-John Stefan. Interleukin-6 Family Cytokines. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017. 10.1101/cshperspect.a028415.
11. Lim, H., Lee, S. H., Lee, H. T., Lee, J. U., Son, J. Y., Shin, W., Heo, Y. S. Structural Biology of the TNF α Antagonists Used in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. International Journal of Molecular Sciences, 2018;19(3): 768. 10.3390/ijms19030768.

12. Frances B. TNF- α in promotion and progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2006;25: 409–416. 10.1007/s10555-006-9005-3.
13. Palladino, M. A., Bahjat, F. R., Theodorakis, E. A., and Moldawer, L. L. Anti-TNF- α therapies: the next generation. *Nature reviews Drug discovery*, 2003;2(9): 736-746. doi:10.1038/nrd1175 .
14. Akash MSH., Rehman K., and Liaqat A. Tumor necrosis factor-alpha: Role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2017;119(1): 105–110. doi:10.1002/jcb.26174.
15. Terzioğlu E. İnflamasyonun İmmünolojik Özellikleri. *ANKEM dergisi*, 2004;18(2): 156-157.
16. Rivera MT., De Souza AP., Araujo-Jorge TC., De Castro SL., and Vanderpas J. Trace Elements, Innate Immune Response and Parasites. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2004;41(8): 1020-1025.
17. Madigan MT., Martinko JM. Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Palme Yayıncılık, İstanbul, 2009.
18. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*, 2006;141(2): 312-322.
19. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006;10;160(1): 1-40.
20. Manish Mittal, Mohammad Rizwan Siddiqui, Khiem Tran, Sekhar P. Reddy, and Asrar B. Malik. Reactive Oxygen species in inflammation and tissue injury. *Comprehensive Invited Review*, 2014;20(7): 1126–1167.
21. Sezer K. Keskin M. Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Dergis.*, 2014;28(1): 49-56.
22. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Oksijen toksisitesi ve serbest radikal örsentisi. Marks temel medikal biyokimyası 2. baskı. Güneş Tıp Kitapevleri, 2007.
23. Nordberg J, Arnér ESJ. Reactive Oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biol. Med.*, 2001;31, 1287–1312.
24. Veech Richard L. The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 2004;70(3): 309-319.

25. Abdellah Mansour, Florian L. Muller, Yuhong Li, Rainer Ng , John Faulkn , Michelle Hamilton b , Arlan Richardson, Ting-Ting Huang, Charles J. Epstein , Holly Van Remmen. Alterations in mitochondrial function, hydrogen peroxide release and oxidative damage in mouse hind-limb skeletal muscle during aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2006;127(3):298–306. doi: 10.1016/j.mad.2005.11.004.
26. Peng TI, Yu PR, Chen JY, Wang HL, Wu HY, Wei YH. Visualizing common deletion of mitochondrial DNA-augmented mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis upon oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*, 2006;1762: 241-255.
27. Volko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*, 2007;39: 44-84.
28. Onat T, Emerk K. Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri Temel Biyokimya. Saray Medikal Yayıncılık, 1996, 520-528.
29. Long Hea, Ting He, Shabnam Farrar, Linbao Ji, Tianyi Liu,Xi Ma. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species.*Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017;44(2): 532-553. DOI: 10.1159/000485089.
30. Eu JP, Liu L, Zeng M, Stamler JS. An apoptotic model for nitrosative stress. *Biochemistry*, 2000;39(5), 1040-1047.
31. Koca N, Karadeniz F. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 2003; 16, 32-37.
32. Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, Van Montagu M, Inzé D, Van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stres responses. *Cell Mol Life Sci*, 2000;57: 779-795.
33. Krishnendu Sinha, Joydeep Das, Pabitra Bikash Pal, Parames C. Sil. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013. DOI 10.1007/s00204-013-1034-4.
34. Joseph St. Geme, Kliegman RM. Çocukluk Çağı nöbetleri. Nelson Textbook of Pediatrics, 2018.
35. Abraham M. Rudolph , George E. Lister , Lewis R. First , Anne A. Gershon Colin D. Rudolph. Epilepsi Epidemiyolojisi, Nöbet sınıflaması, Epilepsi Sendromları. Rudeolph Pediatri, 2013.

36. Robert S. Fisher, Robert S. Fisher, Carlos Acevedo, Alexis Arzimanoglou, Alicia Bogacz, J. Helen Cross. A practical clinical definition of epilepsy. İlae Official Report, 2014.
37. Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, Peltola J. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 2017;58(4): 531-542.
38. İbrahim Bora, S.Naz Gürses, Candan Gürses. *Epilepsi*, 2008;14(2).
39. Pitkänen A, Kharatishvili I, Karhunen H, Lukasiuk K, Immonen R, Nairismägi J, Nissinen J. Epileptogenesis in experimental models. *Epilepsia*, 2007;48, 13-20.
- Pitkanen A, Kharatishvili I, Karhunen H, Epileptogenesis in experimental models. *Epilepsia*, 2007, 48.
40. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. "Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes." *Epilepsia* 30.4 (1989): 389-399.
41. Özkara Ç, Ataklı D. *Epilepsi*, Birinci Baskı. US Yayınları, İstanbul, 2001.
42. Massimo Avoli, Jacques Louvel, Rene Pumain, Rüdiger Köhling. Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. Elsevier, 2005; 166–200.
43. Hall, John E. Guyton Tıbbi Fizyoloji. 2003.
44. Dibbens LM, Harkin LA, Richards M, Hodgson BL, Clarke AL, Petrou S, Mulley JC. The role of neuronal GABAA receptor subunit mutations in idiopathic generalized epilepsies. *Neuroscience letters*, (2009);453(3): 162-165.
45. Wallace R. Mutations in GABA-receptor genes cause human epilepsy. *Lancet Neuro*, 2002;1(4): 212
46. E. Teichgraber LA, Lehmann TN, Meencke HJ, Weiss T, Nitsch R, Deisz RA. Impaired function of GABA(B) receptors in tissues from pharmacoresistant epilepsy patients. *Epilepsia*, 2009;50(7): 1697- 1716.
47. Serdaroglu A, Ozkan S, Aydin K, Gücüyener K, Tezcan S, Aycan S. Prevalence of Epilepsy in Turkish children between the ages of 0 and 16 years. *Journal of Child Neurology*, Ankara, 2004.
48. Bharucha NE, Sander JW AS, AlDeeb S, Carpio A, Cereghino J, Elwes R, Rwiza H. The epidemiology of the epilepsies: future directions. *Epilepsia*, 1997;38(5): 614-618.

49. Yeni NG, Tanı C. Epilepsi Çalışma Grubu, Rehberi Tanı. Galenos Yayınevi, İstanbul, 2015, 27-33.
50. Akdağ G, Algın İD, Erdinç OO. Epilepsi. Osmangazi Tıp Dergisi, Special Issue 2016.
51. Shorvon, Simon D. The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*, 2011;52(6): 1052–1057.
52. Crumrine, Patricia K. Antiepileptic drug selection in pediatric epilepsy. *Journal of Child Neurology*, 2002;17:252-258.
53. Dario J, Englot MD, Harjus Birk, Edward F, Chang MD. Seizure outcomes in non-resective epilepsy surgery: An update. *Neurosurg Rev*, 2017;40(2): 181–194.
54. Aimee F. Luat, MD, Leigh Coyle, RD Deepak Kamat, MD The Ketogenic Diet: A Practical Guide for Pediatricians., *Pediatric Annals*, 2016, 45.
55. John M. Freeman, MD, Eric H. Kossoff, MD, Adam L. Hartman, MD. The Ketogenic Diet: One Decade Later. *Pediatrics*, 2019, 119.
56. Wheless JW. History of the ketogenic diet. *Epilepsia*, 2008.
57. Alexander L. Rogovik, Ran D. Goldman. Ketogenic diet for treatment of epilepsy. *Canadian Family Physician*, 2010.
58. Brian SF, Michael S. Rutenberg JN. Silver MW, Warren DW, Theriaque GE, Duncan P, Stacpoole W, Mark LB. Differential Metabolic Effects of Saturated Versus Polyunsaturated Fats in Ketogenic Diets. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2004;89(4):1641–1645.
59. Pamela C. Champe, Richard A. Harvey, Denise R. Ferrier. Lippincott's Illustrated Reviews serisinden, Biyokimya. Nobel Tıp Kitapevleri, 2007.
60. <https://bio.libretexts.org>. Alıntı Tarihi: 04 haziran 2019. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3ABiochemistry_Free_and_Easy_\(Ahern_and_Rajagopal\)/06%3AMetabolism_I/6.11%3AFatty_Acid_Oxidation](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3ABiochemistry_Free_and_Easy_(Ahern_and_Rajagopal)/06%3AMetabolism_I/6.11%3AFatty_Acid_Oxidation).
61. Lavanya B. Achanta, Caroline DR. β -Hydroxybutyrate in the Brain: One Molecule, Multiple Mechanisms. Springer Science+Business Media, New York, 2016.
62. Samala R, Klein J, Borges K. The ketogenic diet changes metabolite levels in hippocampal extracellular fluid. *Neurochem Int*.

63. Chowdhury GM, Jiang L, Rothman DL, Behar KL. The contribution of ketone bodies to basal and activity-dependent neuronal oxidation in vivo. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2014.
64. Andrew Lutas, Gary Yellen. *The ketogenic diet: metabolic influences on brain excitability and epilepsy*. National Institutes of Health, Boston, 2013.
65. Bough KJ, Rho JM. Anticonvulsant mechanism of the ketogenic diet *Epilepsia* . Epilepsia, Arizona, 2007.
66. Alfredo Gimenez-Cassina, Juan Ramon Martinez-Francois, Jill K. Fisher, Benjamin Szlyk, Klaudia Polak. BAD-Dependent Regulation of Fuel Metabolism and KATP Channel Activity Confers Resistance to Epileptic Seizures. *Cell Press*, Boston, 2012.
67. Boison D. New insights into the mechanisms of the ketogenic diet. *Curr Opin Neurology*, 2017;30(2): 187.
68. Stafstrom CE, Ockuly JC, Murphree L, Valley MT, Roopra A, Sutula TP. Anticonvulsant and antiepileptic actions of 2-deoxy-D-glucose in epilepsy models. *Ann Neurol*, 2009;65(4): 435-447.
69. Masino SA. (Ed.). *Ketogenic diet and metabolic therapies: expanded roles in health and disease*. Oxford University Press, 2016.
70. Ruskin DN, Kawamura M, Masino SA. Reduced pain and inflammation in juvenile and adult rats fed a ketogenic diet. *Plos One*, 2009;4(12): e8349.
71. Nina D, Niccolo C, Jean-François B, Stephane A. Ketogenic diet exhibits anti-inflammatory properties. *Epilepsia*. 2017;56(7): e95-e98.
72. Mohamed Asrih, Jordi Altirriba, Françoise Rohner-Jeanrenaud, François R. Jornayvaz. Ketogenic Diet Impairs FGF21 Signaling and Promotes Differential Inflammatory Responses in the Liver and White Adipose Tissue. *Plos One*, Geneva, 2015.
73. Kim DY, Hao J, Liu R, Turner G, Shi FD, Rho JM. Inflammation-mediated memory dysfunction and effects of a ketogenic diet in a murine model of multiple sclerosis. *Plos One*, 2012;7(5): e35476..
74. Yun-Hee Youm, Kim Y. Nguyen, Ryan W. Grant, Emily L. Goldberg, Monica Bodogai, Dongin Kim, Dominic D'Agostino, Noah Planavsky⁶, Christopher Lupfer, Thirumala D. Kanneganti, Seokwon Kang⁸, Tamas L. Horvath, Tarek M. Fahmy, Peter A. Crawford, Arya Biragyn,. Ketone body β -hydroxybutyrate blocks the

NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. Nat Med. Authormanuscript, 2015.

75. Michael W, Gleeson, Rolland C. Dickson. Quelling Inflammation with Ketosis and Steric Chemistry. Clinical and Translational Gastroenterology, 2016.

76. Qian Zhao, Carl E. Stafstrom, Dong Dong Fu, Yingchu Hu, and Gregory L. Holmes. *Detrimental effects of the Ketogenic Diet on Cognitive Function in Rats*. Pediatric Research, 2004. 10.1203/01.PDR.0000112032.47575.D1.

77. Daniela Kasprowska-Liśkiewicz, Arkadiusz D. Liśkiewicz, Marta M. Nowacka-Chmielewska, Joanna Nowicka, Andrzej Małecki, Jarosław J. Barski. The ketogenic diet affects the social behavior of young male rats. Physiology & Behavior, 2017. 10.1016/j.physbeh.2017.06.007.

78. Marwan A. Maalouf, Jong M. Rho, and Mark P. Mattson. The Neuroprotective Properties Of Calorie Restriction, The Ketogenic Diet, And Ketone Bodies. NIH Public Access, 2008. 10.1016/j.brainresrev.2008.09.002..

79. Veech RL, Chance B, Kashiwaya Y, Lardy HA, Cahill GF Jr. , Ketone Bodies, Potential Therapeutic Uses IUBMB Life, 2001 51: 241-247.

80. Tiffany Greco, Thomas C Glenn, David A Hovda and Mayumi L Prins. Ketogenic diet decreases oxidative stress and improves mitochondrial respiratory complex activity. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2016;36(9): 1603-1613. doi:10.1177/0271678x15610584.

81. Jarrett SG, Milder JB, Liang LP, Patel M. The ketogenic diet increases mitochondrial glutathione levels J Neurochem., 2008;106(3): 1044-1051. doi:10.1111/j.14714159.2008.05460.x.

82. Roehl K, Sewak S. L. Roehl, K., & Sewak, S. L. (2017). Practice Paper of the Academy of Nutrition and Dietetics: Classic and Modified Ketogenic Diets for Treatment of Epilepsy. Journal 117(8), 1279–1292,

83. Radhika D, Susan E, Elaine W. Ketogenic diet. Canadian journal of neurological sciences, 2013, 40.

84. Ünalp A. Çocukluk çağı epilepsilerinde ketojenik diyet uygulamaları. İzmir Dr Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi, 2017; 7(3): 169-177.

85. Stafstrom, Carl E. Dietary Approaches to Epilepsy Treatment: Old and New Options on the Menu. Epilepsy Currents, 2004, 4(6).

86. Min, Shin-Hae Lee & Kyung-Jin. Caloric restriction and its mimetics. The Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology, 2013.

- 87.. Merry BJ. Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2002.
88. Salih DA, Brunet A. FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging. Current opinion in cell biology, 2008;20(2): 126-136.
89. Sack, JT, Michael N. The role of caloric load and mitochondrial homeostasis in the regulation of the NLRP3 inflammasome.HHS Public Access, 2017. doi: 10.1007/s00018-016-2431-7..
90. Julie A: mattison, Ricki J. Colman, T. Mark Beasley, david B. Allison, Joseph W. Kemnitz, George S. Roth, Donald K. Ingram, Richard Weindruch, Rafael de Cabo, Rozalyn M. Anderson. Caloric restriction improves health and survival of rhesus monkeys.Nature Communications, 2017. 10.1038/ncomms14063.
91. Csiszar A, Labinskyy N, Jimenez R, Pinto JT, Ballabh P, Losonczy G, Ungvari Z. Anti-oxidative and anti-inflammatory vasoprotective effects of caloric restriction in aging: role of circulating factors and SIRT1. Mechanisms of ageing and development, 2009;130(8): 518-527.
- 92.. Marija Stankovic, Dusan Mladenovic, Milica Ninkovic, Danijela Vucevic, Tina Tomasevic, Tatjana Radosavljevic. Effects of caloric restriction on oxidative stress parameters Gen. Physiol. Biophys, 2013. 10.4149/gpb_2013027.
93. Robert S. Balaban, Shino Nemoto, Toren Finkel. Mitochondria, Oxidants, and Aging. Cell, 2005;120(4). doi.org:10.1016/j.cell.2005.02.001.
94. Keller JN, Schmitt FA, Scheff SW, Ding Q, Chen Q, Butterfield DA, Markesbery WR. *Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild cognitive impairment.* Neurology, 2005;64: 1152–1156, 10.1212/01.WNL.0000156156.13641.BA.
95. Ma L, Wang R, Dong W, Zhao Z. *Caloric restriction can improve learning and memory in C57/BL mice probably via regulation of the AMPK signaling pathway.* Experimental Gerontology, 2017. 10.1016/j.exger.2017.11.013.
- 96.. Poulouse SM, Miller MG, Scott T, Shukitt-Hale B. Nutritional Factors Affecting Adult Neurogenesis and Cognitive Function. Advances in Nutrition, 2017. 10.3945/an.117.016261.
97. Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain- derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. Journal of neurochemistry, 2002;82(6): 1367-1375. 10.1046/j.1471-4159.2002.01085.x.

98. Lee J, Duan, W, Long JM, Ingram DK, Mattson MP. Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, in the dentate gyrus of rats. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2000. 10.1385/JMN:15:2:99.
99. Tamashiro, Zachary AC, Kellie L.K. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *HHS Public Access*, 2015. 10.1016/j.physbeh.2015.06.008.
100. French JA, Koepp M, Naegelin Y, Vigeveno F, Auvin S, Rho JM, Dichter MA. Clinical studies and anti- inflammatory mechanisms of treatments. *Epilepsia*, 2017;58: 69-82.
101. Anez-Bustillos, Lorenzo, Metabolic and Inflammatory Effects of an ω -3 Fatty Acid–Based Eucaloric Ketogenic Diet in Mice With Endotoxemia. *American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 2019. 10.1002/jpen.1688.
102. Phinney SD, Bistrian BR, Wolfe RR, Blackburn GL. The human metabolic response to chronic ketozsis without caloric restriction:physical and biochemical adaptation. *Metabolism*, 1983;32(8): 155-162,
103. Lin A, Turner Z, Doerr SC, Stanfield A, Kossoff EH. Complications During Ketogenic Diet Initiation: Prevalence, Treatment, and Influence on Seizure Outcomes. *Pediatr Neurol*, 2017;68: 35-39.
104. Andrew Wang, Sarah C. Huen, Harding H. Luan, Shuang Yu, Cuiling Zhang, Jean Dominique Gallezot, Carmen J. Booth, and Ruslan Medzhitov. Opposing effects of fasting metabolism on tissue tolerance in bacterial and viral inflammation. *CellPress*, 2016;166, 1512-1525. 10.1016/j.cell.2016.07.026.
105. Parry HA, Kephart WC, Mumford PW, Romero MA, Mobley CB, Zhang Y, Roberts MD, Kavazis AN. Ketogenic diet increases mitochondria volume in the liver and skeletal muscle without altering oxidative stress markers in rats. *Heliyon*, 2018;4(11): e00975.
106. Lu Y, Yang YY, Zhou MW, Liu N, Xing HY, Liu XX, Li F. Ketogenic diet attenuates oxidative stress and inflammation after spinal cord injury by activating Nrf2 and suppressing the NF- κ B signaling pathways. *Neurosci Lett.*, 2018;14(683): 13-18.
107. Wang X1, Wu X2, Liu Q, Kong G, Zhou J, Jiang J, Wu X, Huang Z, Su W, Zhu Q5. Ketogenic Metabolism Inhibits Histone Deacetylase (HDAC) and Reduces Oxidative Stress After Spinal Cord Injury in Rats. *Neuroscience*, 2017;16(366): 36-43.

108. Newman JC, Covarrubias AJ, Zhao M, Yu X, Gut P, Ng CP, Huang Y, Haldar S, Verdin E. Ketogenic Diet Reduces Midlife Mortality and Improves Memory in Aging Mice. *Cell Metab*, 2017;26(3): 547-557.
109. Ma L, Wang R, Dong W, Li Y, Xu B, Zhang J, Zhao Z. Long-term caloric restriction in mice may prevent age-related learning impairment via suppression of apoptosis. *Behav Brain Res.*, 2016;15(315): 45-50.
110. Rubovitch V, Pharayra A, Har-Even M, Dvir O, Mattson MP, Pick CG. Dietary energy restriction ameliorates cognitive impairment in a mouse model of traumatic brain injury. *J Mol Neurosci*, 2019;67(4): 613-621.
111. Huang J, Li YQ, Wu CH, Zhang YL, Zhao ST, Chen YJ, Deng YH, Xuan A, Sun XD,. The effect of ketogenic diet on behaviors and synaptic functions of naive mice. *Brain Behav*, 2019;9(4): e01246.
112. Sinha SR, Kossoff EH. Ketogenic diet. *The Neurologist*, 2005;11: 161–170.
113. Kennedy AR, Pissios P, Otu H, Xue B, Asakura K, Furukawa N, Maratos-Flier, E. A high-fat, ketogenic diet induces a unique metabolic state in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2009;292(6): E1724-E1739.

8. EKLER

Ek 1. Farklı Ketojenik Diyet İçerikleri ve Artıları/Eksileri (83)

Diet	İçeriği	Artıları	Eksileri
Klasik KD	Herhangi bir oran olabilir ama genellikle 3-4:1 4:1 oranında: 90% yağ, 4% kh, 6% protein vardır	Ebeveynler, her yemeğin ne kadarını vereceğini tam olarak bilirler; Çok tutarlıdır, bu nedenle ketonlarda çok az değişiklik vardır; Diyetisyen tam olarak çocuğun ne aldığını bildiği için ayarlaması kolaydır; Ebeveynler tarafından daha az kayıt tutma gerektirir	Çocuğun iştahına dayanarak tüketilen miktarı ayarlamak zordur; Çocuk tabağındaki her şeyi yemelidir; Protein miktarı çocuğun alması gerekenenden daha kısıtlıdır Tartı ve ölçüm içerir; yemek hazırlamaktan daha fazla zaman alır
Orta Zincirli Trigliserid Diyeti	Herhangi bir oranda Genelde 4:1 10% LCT , 60% MCT 20% kh, 10% protein	Daha fazla protein sağlar Fazla protein içerdiği için yağ ve yemek çeşitliliğinin olduğu fazla volümler vardır	Yiyeceklerin tartılmasını ve ölçülmesini içerir yemek hazırlamak için zaman alıcı; Gastrointestinal yan etkiler
Modifiye Atkins Diyeti	Yaklaşık 1.1:1 oranı 65% yağ, 10% Kh , 25% protein	İştahdaki değişikliklere göre ayarlamak için daha fazla esneklik sağlar Daha fazla protein sağlar; Büyük protein porsiyon büyüklüğü, yağların karıştırıldığı daha fazla hacme izin verir; Daha az tartı ölçüm, daha hızlı yemek hazırlığı;	Yağ miktarlarıyla ilgili kesin kurallar yoktur; İstenilen ketozu sağlamak için yeterli yağı belirlemek için deneme gerektirir; Genellikle keton üretiminde daha fazla değişkenlik vardır Diyette düzenlemelere izin vermek için daha fazla kayıt tutma gerektirir
Düşük Glisemik İndeks Diyeti	Yaklaşık 0.6:1 oranı 60% yağ, 10%kh , 30% protein	İştahdaki değişikliklere göre ayarlamak için daha fazla esneklik sağlar Daha fazla protein sağlar; Büyük protein porsiyon büyüklüğü, yağların karıştırıldığı daha fazla hacme izin verir; Daha az tartı ölçüm, daha hızlı yemek hazırlığı;	Glisemik indeksi düşük gıdalar hakkında bilgi gerektirir; Diyetle düzenlemelere izin vermek için daha fazla kayıt tutma gerektirir

Ek 2. Dirençli epilepsisi olan hastalarda farklı KD tiplerinin etkileri (83)

Geleneksel KD		
<u>Çalışma</u>	<u>Hasta sayısı</u>	<u>Cevap oranları</u>
Kinsman ve ark 1992	58 çocuk (≥ 2 AEİ and multipl nöbet tipi)	%67'sinin 6 ayda >50 azaldı
Vining ve ark 1998	51 çocuk (>10 nöbet/hafta)	%50'sinin 6 ayda >50 azaldı
DiMario ve ark 2001	24 çocuk (multiple nöbet tipi)	%54'ünün 6 ayda >50 azaldı
Kang 2005	199 çocuk (≥ 4 nöbet/ay ve ≥ 3 AEİ)	%58'inin 6 ayda >50 azaldı
Neal ve ark 2009	73 çocuk (günlük nöbet ve ≥ 2 AEİ)	%25'inin 6 ayda >50 azaldı
Dressler 2010	50 çocuk (≥ 2 AEİ's)	%50'sinin 6 ayda >50 azaldı
Thamongkol 2012	64 çocuk ve 4 yetişkin (başarısız ≥ 2 AEİ)	%48'inin 3 ayda >50 azaldı
Orta Zincirli Trigliserid Diyeti		
Huttenlocher 1971	12 çocuk (≥ 2 AEİ)	%50'sinin 6 ayda >50 azaldı
Mak ve ark 1999	13 çocuk (≥ 2 AEİ's ve multiple nöbet tipi)	%70'sinin 6 ayda >50 azaldı
Neal ve ark 2009	72 (günlük nöbet ve ≥ 2 AEİ)	%20'sinin >6 ayda >50 azaldı
Düşük Glisemik İndex Diyeti		
Pfeifer ve ark 2005	20 hasta (≥ 3 AEİ)	%50'sinin 6 ayda >90 azaldı
Muzykewicz 2009	76 çocuk (≥ 3 AEİ)	%54'ünün 6 ayda >50 azaldı
Coppolla 2011	15 hasta (4 nöbet/ay ve ≥ 3 AEİ)	%40'ının 12 ayda $>75-90$ azaldı
Modifiye atkins diyeti		
Kossoff ve ark 2006	20 çocuk (>3 nöbet/hafta ve başarısız ≥ 2 AEİ)	%65'inin 6 ayda >50 azaldı %35'inin >90 azaldı
Kossoff ve ark 2008	30 yetişkin (>1 nöbet/hafta ve başarısız ≥ 2 AEİ)	%33'ünün 6 ayda >50 azaldı
Weber ve ark 2009	20 çocuk (>1 nöbet/hafta ve başarısız ≥ 2 AEİ)	%40'ının 3 ayda >50 azaldı
Chen ve ark 2012	87 çocuk (≥ 2 AEİ)	%55'inin 6 ayda >50 azaldı; %38'inin 12 ayda >50 azaldı
Kim ve ark 2012	20 çocuk (≥ 2 AEİ)	%45'inin >50 azaldı

Ek 3. Etik Kurul Onayı


MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	74.2018.mar	ÇALIŞMA: TEZ		
	PROJE ADI	Ketojenik ve kalori kısıtlı diyetin anti-inflamatuvar etkilerinin incelenmesi			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Dilşad TÜRKDOĞAN			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER			
	DESTEKLEYİCİ				
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 09.07.2018 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
ÜYELER					
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	Araştırmacı
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	<i>Kabasakal</i>
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	<i>Yarat</i>
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	<i>Rezzan Gulhan</i>
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	<i>Gurkan Sert</i>
Vet. Dr. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	<i>Dilek Ozbeyli</i>
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	<i>Cihanşah Muratoğlu</i>