



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**POST-TRAVMATİK EPİLEPSİ MODELİNDE
PREBİYOTİK VE PROBİYOTİK
TAKVİYELERİNİN ANTİEPİLEPTİK İLAÇ
TEDAVİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Dr. Uğur Aykın

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL – 2024



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**POST-TRAVMATİK EPİLEPSİ MODELİNDE
PREBİYOTİK VE PROBİYOTİK
TAKVİYELERİNİN ANTİEPİLEPTİK İLAÇ
TEDAVİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Dr. Uğur Aykın

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Yıldırım

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL - 2024

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimimde, Fizyoloji gibi önemli bir bilim dalında bilgi ve yöntem olarak her türlü tecrübesini benimle paylaşan, iyi bir akademisyen ve bilim insanı olabilmem için beni en iyi şekilde yönlendiren ve hem bir öğretim üyesi olarak hem de insani olarak ne olursa olsun doğru olanı savunma konusunda her zaman örnek aldığım değerli hocam ve danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet YILDIRIM'a desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim. Eğitim dönemimde ve ihtiyaç duyulan zamanlarda yol gösterici olmalarından dolayı ve aynı zamanda birlikte yaptığımız her türlü çalışmadaki sınırsız desteklerinden ötürü sayın Dr. Cumaali DEMİRTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Metehan AKÇA ve Dr. Öğr. Gör. Sezin KIROĞLU UZUN'a teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı anabilim dalımızdaki tüm hocalarıma teşekkür ederim. Eğitimimiz ve tezlerimiz sırasında beraber gülüp beraber üzüldüğümüz; yeri geldiğinde beni uzun uzun sabırla dinleyen, yeri geldiğinde de bizzat yardımcı olan sevgili eşim Dr. Gülebe AYKIN'a ve doğduğum andan itibaren her zaman yanımda olup ne olursa olsun beni destekleyeceğini bildiğim canım annem Nebiha AYKIN'a da sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı "Tıpta Uzmanlık Tez Projeleri" kapsamında destekleyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje No: 2023/028) teşekkür ederim.

Uğur AYKIN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TRAVMATİK BEYİN HASARI.....	4
2.1.1. Travmatik Beyin Hasarının Sınıflandırılması.....	4
2.1.2. Travmatik Beyin Hasarının Epidemiyolojisi	5
2.1.3. Travmatik Beyin Hasarının Patofizyolojisi	6
2.1.4. Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Komplikasyonlar	10
2.1.5. Travmatik Beyin Hasarının Tedavisi.....	12
2.1.6. Travmatik Beyin Hasarının Deneysel Modelleri	15
2.2. EPİLEPSİ	19
2.2.1. Epilepsinin Tarihçesi	19
2.2.2. Nöbet Tipleri ve Epilepsilerin Sınıflandırılması.....	20
2.2.2.1. Nöbet tiplerinin sınıflandırılması	20
2.2.2.2. Epilepsilerin sınıflandırılması	21
2.2.3. Epilepsinin Epidemiyolojisi.....	23
2.2.4. Epilepsinin Patofizyolojisi.....	24
2.2.5. Epilepsinin Tanı ve Tedavisi	25
2.2.6. Deneysel Epilepsi Modelleri.....	27
2.2.6.1. Genetik modeller.....	28
2.2.6.2. Kimyasal modeller	29
2.2.6.3. Elektriksel stimülasyon ile oluşturulan modeller.....	30
2.2.6.4. Post-travmatik epilepsi modelleri	31
2.3. MİKROBİYOTA.....	33
2.3.1. Bağırsak Mikrobiyotası	34
2.3.1.1. Bağırsak mikrobiyota kompozisyonu	34
2.3.1.2. Bağırsak mikrobiyotasının fonksiyonel özellikleri	35

2.3.2. Beyin-Bağırsak Aksı.....	36
2.3.3. Bağırsak Mikrobiyotasının Nörolojik Hastalıklar ile İlişkisi	38
2.3.4. Epilepsi ve Mikrobiyota	40
2.3.4.1. Epilepside mikrobiyota profilindeki değişimler.....	40
2.3.4.2. Epilepsinin patofizyolojisinde mikrobiyotanın rolü.....	41
2.3.4.2. Epilepsi tedavisinde mikrobiyota hedefli uygulamalar.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. DENEY TASARIMI VE MADDE UYGULAMALARI.....	46
3.1.1. Deney Hayvanları	46
3.1.2. Deney Dizaynı	46
3.1.3. Antiepileptik İlaçlar, Prebiyotik ve Probiyotiklerin Uygulanması	47
3.2. DENEYSEL MODELLER.....	50
3.2.1. Travmatik Beyin Hasarı Modelinin Oluşturulması	50
3.2.2. EEG Elektrotlarının Yerleştirilmesi	50
3.2.3. PTZ ile Post-travmatik Epilepsinin İndüklenmesi.....	52
3.3. EPİLEPTİK AKTİVİTE KAYDI.....	53
3.3.1. EEG Kaydı.....	53
3.3.2. Nöbetlerin Davranışsal Olarak Skorlanması	54
3.4. DAVRANIŞ TESTLERİ.....	56
3.4.1. Lokomotor Aktivite ve Anksiyeteye İlişkin Davranış Testleri.....	56
3.4.1.1. Açık alan (open field) testi.....	56
3.4.1.2. Rotarod testi	57
3.4.1.3. Yükseltilmiş artı labirent (elevated plus maze) testi	58
3.4.2. Öğrenme ve Hafızaya İlişkin Davranış Testleri	59
3.4.2.1. Pasif sakınma (passive avoidance) testi	59
3.4.2.2. Sekiz kollu ışınal labirent (radial arm maze) testi	60
3.4.3. Ağrıya İlişkin Davranış Testleri	61
3.4.3.1. Dinamik plantar test	61
3.4.3.2. Termal plantar test	61
3.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	62
4. BULGULAR	63
4.1. NÖBET PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI.....	63
4.1.1. Nöbet Başlangıç Latenslerinin Karşılaştırılması	63
4.1.2. Nöbet Şiddetlerinin Karşılaştırılması	65
4.1.3. Nöbet Frekanslarının Karşılaştırılması	67
4.1.4. Toplam Nöbet Sürelerinin Karşılaştırılması	69

4.1.5. Uygulanan Toplam PTZ Dozlarının Karşılaştırılması.....	71
4.2. DAVRANIŞ PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI	73
4.2.1. Lokomotor Aktivitelerin Karşılaştırılması	73
4.2.1.1. Açık alan testinde toplam katedilen mesafelerin karşılaştırılması....	74
4.2.1.2. Açık alan testinde merkezi karelere giriş sayısının karşılaştırılması	75
4.2.1.3. Açık alan testinde şahlanma sayılarının karşılaştırılması	76
4.2.2. Anksiyete Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	76
4.2.2.1. Açık alan testinde merkezi karede geçirilen sürelerin karşılaştırılması	78
4.2.2.2. Açık alan testi defekasyon sayılarının karşılaştırılması	78
4.2.2.3. Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayılarının karşılaştırılması	79
4.2.2.4. Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolda kalma sürelerinin karşılaştırılması	79
4.2.2.5. Yükseltilmiş artı labirent testinde donma sürelerinin karşılaştırılması	79
4.2.2.6. Yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kola giriş sayılarının karşılaştırılması	81
4.2.2.7. Yükseltilmiş artı labirent testi anksiyete indekslerinin karşılaştırılması	81
4.2.3. Zorlu Motor Aktivitelerin Karşılaştırılması.....	81
4.2.4. Korku Hafızası Performanslarının Karşılaştırılması	83
4.2.5. Mekansal Hafıza Performanslarının Karşılaştırılması.....	83
4.2.6. Ağrı Eşiği Düzeylerinin Karşılaştırılması	84
4.2.6.1. Dinamik plantar test ayak çekilen kuvvetlerinin karşılaştırılması	84
4.2.6.2. Dinamik plantar test ayak çekme latenslerinin karşılaştırılması.....	85
4.2.6.3. Termal plantar test ayak çekme latenslerinin karşılaştırılması	86
5. TARTIŞMA	87
6. SONUÇLAR	95
7. KAYNAKLAR	96
8. EKLER.....	129
9. ÖZGEÇMİŞ	130

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Antiepileptik ilaçlar.....	26
Tablo 2.2: Rodent post-travmatik epilepsi modelleri.....	33
Tablo 3.1: Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler.....	48
Tablo 3.2: Modifiye Racine skorlaması.....	54



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Travmatik beyin hasarının patofizyolojisi.....	9
Şekil 2.2: TBH sonrası PTE gelişimi.....	13
Şekil 2.3: TBH'nin deneysel modelleri.....	18
Şekil 2.4: Nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırılması.....	21
Şekil 2.5: Nöbet ve epilepsi tiplerinin sınıflandırılması.....	23
Şekil 2.6: Epilepsi patofizyolojisinde nöronal uyarılabilirlik dengesinin eksitasyon lehine bozulması.....	25
Şekil 2.7: Beyin-bağırsak aksı.....	38
Şekil 2.8: Epilepsi ve mikrobiyota ilişkisi.....	42
Şekil 3.1: Deney dizaynı.....	47
Şekil 3.2: Travma oluşturma düzeneği.....	51
Şekil 3.3: Elektrot cerrahisi.....	52
Şekil 3.4: Elektrofizyolojik kayıt sistemi.....	53
Şekil 3.5: Sprague-Dawley sıçanlarda bazal ve PTZ uygulamasını takiben iktal aktivite sırasındaki EEG traseleri	55
Şekil 3.6: Açık alan testi.....	56
Şekil 3.7: Rotarod testi.....	57
Şekil 3.8: Yükseltilmiş artı labirent testi.....	58
Şekil 3.9: Pasif sakınma testi.....	59
Şekil 3.10: Sekiz kollu ışınal labirent testi.....	60
Şekil 3.11: Termal plantar test düzeneği.....	62
Şekil 4.1: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin nöbet başlangıç latenslerine etkisi	64
Şekil 4.2: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin nöbet şiddetine etkisi	66

Şekil 4.3: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin nöbet frekansına etkisi	68
Şekil 4.4: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin toplam nöbet süresine etkisi	70
Şekil 4.5: Racine 4/5 düzeyinde nöbet oluşturmak için uygulanan PTZ doz ortalamaları.....	72
Şekil 4.6: Açık alan testinde bir deneğin katettiği güzergah.....	73
Şekil 4.7: Açık alan testinde gruplara ilişkin ısı haritaları.....	74
Şekil 4.8: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testinde katedilen toplam mesafeye etkisi.....	75
Şekil 4.9: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testinde merkezi karelere giriş sayısına etkisi.....	75
Şekil 4.10: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testide şahlanma sayısına etkisi.....	76
Şekil 4.11: Yükseltilmiş artı labirent testinde bir deneğin katettiği güzergah	77
Şekil 4.12: Yükseltilmiş artı labirent testine gruplara ilişkin ısı haritaları	77
Şekil 4.13: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testinde merkezde geçirilen toplam süreye etkisi.....	78
Şekil 4.14: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testi defekasyon sayısına etkisi.....	78
Şekil 4.15: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollara giriş sayısına etkisi.....	79
Şekil 4.16: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen süreye etkisi.....	80
Şekil 4.17: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde donma süresine etkisi.....	80

Şekil 4.18: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kollara giriş sayısına etkisi.....	81
Şekil 4.19: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyete indeksine etkisi.....	82
Şekil 4.20: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin rotarod testi düşme latensine etkisi	82
Şekil 4.21: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin pasif sakınma test latensine etkisi.....	83
Şekil 4.22: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin sekiz kollu ışımsal labirent testinde doğru kolu bulma latensine etkisi.....	84
Şekil 4.23: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin dinamik plantar testte ayak çekilen kuvvet miktarına etkisi.....	85
Şekil 4.24: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin dinamik plantar testte ayak çekme latensine etkisi	85
Şekil 4.25: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin termal plantar testte ayak çekme latensine etkisi.....	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

AD	Artdeşarj
AEİ	Antiepileptik
AIF	Apoptoz indükleyici faktör
AMPA	α -Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit
AMPAR	α -Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit reseptörü
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CCK	Kolesistokinin
CCL2	Kemokin ligand 2
CDC	Hastalık önleme ve kontrol merkezi
DK	Dekompresif kraniyektomi
DNA	Deoksiribonükleik asit
EAN	Elektroşok aracılı nöbet
EEG	Elektroensefalogram
ESS	Enterik sinir sistemi
FMT	Fekal mikrobiyota transplantasyonu
GABA	Gama-aminobütirik asit
GAD	Glutamik asit dekarboksilaz
GAERS	Strasbourg genetik absans epilepsi sıçanları
GEPR	Genetik epilepsiye eğilimli sıçan
GF	Germ-free
Gİ	Gastrointestinal
GKS	Glasgow koma skoru
GLP-1	Glukagon benzeri peptit 1

GLUT-1	Glukoz taşıyıcısı 1
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
ICAM	İntrasellüler adhezyon molekülü
IL	İnterlökin
ILAE	International League Against Epilepsy
İKB	İntrakraniyal basınç
KBB	Kan-beyin bariyeri
KD	Ketojenik diyet
KKD	Kontrollü kortikal darbe
LCM	Lakosamid
LEV	Levetirasetam
LGS	Lennox-gestaut sendromu
MECP2	Metil-CpG-bağlayıcı protein 2
miRNA	MikroRNA
MR	Manyetik rezonans
MS	Multipl skleroz
MSS	Merkezi sinir sistemi
NMDA	N-metil-d-aspartat
NMDAR	N-metil-d-aspartat reseptörü
OSS	Otonom sinir sistemi
PCS	Sarsıntı sonrası sendromu
PHT	Fenitoin
PTE	Post-travmatik epilepsi
PTZ	Pentilentetrazol
PYY	Peptit YY
ROM	Radikal oksijen molekülleri

SE	Status epileptikus
SPH	Sıvı perküsyon hasarı
TBH	Travmatik beyin hasarı
TLE	Temporal lob epilepsisi
TNF	Tümör nekroz faktör
VCAM	Vasküler hücre adezyon molekülü
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo/Rijwijk
WAR	Wistar Odyojenik Sıçan



POST-TRAVMATİK EPİLEPSİ MODELİNDE PREBİYOTİK VE PROBİYOTİK TAKVİYELERİNİN ANTİEPİLEPTİK İLAÇ TEDAVİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

ÖZET

Amaç: Sunulan tez çalışmasında, sıçanlarda oluşturulan post-travmatik epilepsi (PTE) modeli kullanılarak levetirasetam (LEV) ve lakosamid (LCM) tedavisinde prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik takviyelerinin katkısının epileptik nöbet ve farklı davranışsal parametreler üzerindeki etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sprague-Dawley sıçanlara ağırlık düşürme metodu ile travmatik beyin hasarı oluşturulduktan ve elektroensefalogram elektrotu yerleştirildikten 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg dozda intraperitoneal pentilentetrazol (PTZ) enjeksiyonu ile PTE modeli indüklendi. PTZ enjeksiyonu birer hafta ara ile toplamda 4 kez tekrarlandı ve epileptik nöbetlere ilişkin davranışsal ve elektrofizyolojik veriler kaydedildi. İlk PTZ uygulamasından önce, tedaviye ilişkin ilk doz başlanarak 28 gün boyunca 100 mg/kg LEV, 30 mg/kg LCM veya 1 gr/kg inülin, 10×10^9 /kg VSL#3 veya 1 gr/kg inülin + 10×10^9 /kg VSL#3 kombinasyonları oral gavaj yoluyla uygulandı. Tedavi uygulamasının son haftasında açık alan, rotarod, sekiz kollu ışınal labirent, yükseltilmiş artı labirent, pasif sakınma ve ağrı testleri yapıldı.

Bulgular: LEV ile birlikte uygulanan pro/sinbiyotiklerin nöbet şiddetini azalttığı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,01$), LCM ile birlikte uygulanan probiyotiklerin toplam nöbet süresinde azalmaya ve nöbet başlangıç latensinde artışa neden olduğu ($p<0,05$) belirlendi. LCM ile birlikte uygulanan pre/sinbiyotiklerin açık alan testinde kat edilen toplam mesafeyi artırdığı tespit edildi ($p<0,05$). Tek başına LCM uygulamasının rotarod düşme latensini azalttığı ($p<0,05$) LCM ile birlikte uygulanan pre/pro/sinbiyotik kombinasyonlarının dinamik plantar testte ağrı eşiğini yükselttiği saptandı (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,01$).

Sonuç: Sunulan tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre, LEV ve LCM ile birlikte uygulanan VSL#3 şeklindeki probiyotiklerin PTZ ile kolaylaştırılan

PTE'ye bağlı epileptik nöbetler üzerinde antiepileptik ilaçların etkinliğini artırdığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Travmatik beyin hasarı, Post-travmatik epilepsi, Antiepileptik, Prebiyotik, Probiyotik



EFFECTS OF PREBIOTIC AND PROBIOTIC SUPPLEMENTS ON ANTIEPILEPTIC DRUG THERAPY IN POST- TRAUMATIC EPILEPSY MODEL

ABSTRACT

Aim: In the presented thesis study, it was aimed to investigate the effects of prebiotics, probiotics and synbiotic supplements in levetiracetam (LEV) and lacosamide (LCM) treatment on epileptic seizure and different behavioral parameters using the post-traumatic epilepsy (PTE) model created on rats.

Material and Methods: PTE model was created by intraperitoneal injection of pentylenetetrazol (PTZ) at a dose of 30+15+15 mg/kg, 7 day after traumatic brain injury was induced by the weight-drop method and the electroencephalogram electrode was placed in Sprague Dawley rats. PTZ injection was repeated 4 times in total with one-week intervals and behavioral and electrophysiological data regarding epileptic seizures were recorded. Starting with the first dose of treatment before the first PTZ application, 100 mg/kg LEV, 30 mg/kg LCM or combinations with 1 g/kg inuline, 10×10^9 /kg VSL#3 or 1 gr/kg inuline + 10×10^9 /kg VSL#3 were administered via oral gavage for 28 days. At the last week of treatment, open field, rotarod, radial arm maze, elevated plus maze, passive avoidance and plantar pain tests were performed.

Results: It was determined that pro/synbiotics administered together with LEV reduced the severity of seizures ($p < 0,001$ and $p < 0,01$, respectively), while probiotics administered together with LCM caused a decrease in the total seizure duration and increase in the seizure onset latency ($p < 0,05$). It was found that pre/synbiotic application with LCM increased the total distance traveled in the open field test ($p < 0,05$). While LCM alone reduced rotarod fall latency ($p < 0,05$), pre/pro/synbiotic combinations given with LCM were found to increase the pain threshold in the dynamic plantar test ($p < 0,05$, $p < 0,01$ and $p < 0,01$, respectively).

Conclusion: According to the findings obtained from the presented thesis study, it was determined that probiotics in the form of VSL#3 administered together with both LEV and LCM increased the effectiveness of antiepileptic drugs on epileptic seizures caused by PTE facilitated with PTZ.

Key Words: Traumatic brain injury, Post-traumatic epilepsy, Antiepileptic, Prebiotic, Probiotic



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Travmatik beyin hasarı (TBH) kafanın çarpmaya, darbeye veya sarsılmaya maruziyeti sonucu veya delici bir kafa yaralanması ile beynin normal işlevinde meydana gelen bozulma olarak tanımlanmaktadır (1). TBH'nin yaygın nedenleri arasında sporla ilgili yaralanmalar, düşmeler, araba kazaları ve askeri olaylar yer almaktadır. Dünya genelinde yıllık yaklaşık olarak 69 milyon kişinin TBH yaşadığı bildirilmiştir (2). TBH vakalarının yaklaşık %80'i hafif, %10'u orta ve %10'u ise ağır düzeyde gerçekleşmektedir (3). TBH'de birincil etki, hem fokal yaralanma (kontüzyon) hem de yaygın yaralanmalar (aksonal ve vasküler hasar) neden olurken, aylarca ve yıllarca ilerleyebilen (nörodejenerasyon, aksonal plastisite, hemodinamik bozukluklar ve inflamasyon) ikincil hasar kaskadlarına yol açmaktadır (4). Çoğu TBH, bu etkilere bağlı olarak uzun vadeli engelliliğe, bilişsel gerilemeye, psikiyatrik hastalıklara ve travma sonrası bozukluklara neden olmaktadır (3). TBH'nin neden olduğu yaygın sekonder bozukluklar arasında nöbetler ve post-travmatik epilepsi (PTE) yer almaktadır (5). Uluslararası Epilepsi İle Mücadele Derneği (ILEA)'nin tanımlamasına göre PTE, yapısal nedenlere bağlı bir epilepsi tipi olup, hasta TBH'den 7 gün sonra provoke edilmemiş nöbetler geçirdiğinde teşhis konulmaktadır (6). TBH'li hastaların yaklaşık %80'ine TBH sonrası 2 yıl içinde PTE tanısı konulmaktadır (5). TBH nöbet ve PTE'nin yanı sıra uyku bozuklukları, depresif belirtiler, öğrenme ve hafıza eksiklikleri, kişilik değişiklikleri, anksiyete benzeri davranışlar, sosyal etkileşimlerde güçlük, denge ve motor bozukluk gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik işlev bozukluklarına yol açmaktadır. Bu komorbid durumlar bireyin yaşam kalitesi üzerinde, belki de nöbetlerin kendisinden bile daha fazla olumsuz bir etkiye sahip olabilmektedir (1,7). Davranışsal işlevler ve nöbetler arasındaki ilişki oldukça karmaşık olup, muhtemelen hem tekrarlayan nöbet aktivitesinden hem de nöbetleri kontrol etmek için kullanılan terapötiklerden etkilenmektedir (8).

Farklı epilepsi tiplerinin tedavisinde 20'den fazla antiepileptik ilaç (epilepsi hastalarının 1/3'ü bu ilaçlara dirençli olmakla birlikte) kullanılmasına rağmen şu anda TBH ile bağlantılı PTE'leri etkili bir şekilde tedavi edebilecek herhangi bir farmakolojik ajan mevcut değildir (9). Son on yılda epilepsiye ilişkin klinik çalışmalarda çoğu, iyon kanallarını hedefleyen 40'tan fazla ilaç adayına ilişkin testler başarısız olmuştur (10). Bu

bileşiklerin PTE'yi tedavi etmedeki başarısızlığı, PTE'nin karmaşıklığından veya TBH sonrası epileptogenezi düzenleyen henüz bilinmeyen farklı mekanizmalardan kaynaklanıyor olabilir (11). Bu nedenle PTE'ye ilişkin tedavi stratejileri kapsamında enzimler, glial hücreler, nörovasküler bileşenler, oksidatif stres molekülleri ve nükleer proteinler gibi iyon kanalları dışındaki yeni ve nöronal olmayan hedef veya mekanizmaların araştırılması önemli görünmektedir (10).

İnsan bağırsak mikrobiyotası, konakçısı ile simbiyotik olarak yaşayan ve sağlıklı bireyde önemli immünolojik, metabolik ve koruyucu işlevleri yerine getiren yaklaşık 1.000 farklı türden tahmini 100 milyar-100 trilyon arası hücreden oluşmaktadır (12). İnsan ve diğer memeli mide-bağırsak sisteminde yer alan mikrobiyotanın büyük bir bölümünü oluşturan bakteri popülasyonu hem konakçısına bağlıdır hem de onu etkilemektedir. Bu çift yönlü ilişkiye çeşitli biyolojik yollar aracılık etmekte ve diyet, stres, uyku, egzersiz ve sosyal etkileşimler gibi çevresel faktörler tarafından düzenlenmektedir (13). Mikrobiyota ile beyin arasındaki bu çift yönlü ilişki de nöral, endokrin, metabolik ve bağışıklık sisteminin dahil olduğu yollar ile gerçekleşmektedir ve bu bağlantı yolağı mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenini olarak adlandırılmaktadır (14).

Epilepsinin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisini inceleyen ve özellikle son 3 yıl içerisinde yoğunlaşan literatür birlikte değerlendirildiğinde, epilepsili hastalarda mikrobiyota profilinde bozulma, yani disbiyoz ile birlikte epilepsi gelişimi ve şiddeti arasında bir ilişkinin var olduğunu gösteren sınırlı sayıda da olsa klinik delillerin bulunduğu ve ayrıca bu durumun, yani disbiyoz ile epilepsi yatkınlığı arasındaki ilişkinin özellikle deneysel epilepsi modellerinde incelendiği ve disbiyozu gidermeye ve epilepsi şiddeti ve yatkınlığını azaltmaya yönelik bazı faydalı mikrobiyota manipülasyonlarının denendiği görülmüştür. Bununla birlikte literatürde kafa travması veya beyin yaralanmasına bağlı gelişen PTE'nin kontrol ve tedavisine yönelik herhangi bir klinik veya prelinik deneysel çalışma bulunmamaktadır. Sunulan tezde, ağırlık düşürme yöntemi ile oluşturulan TBH sonrası subkonvulsan dozlarda pentilentetrazol (PTZ) enjeksiyonu ile provoke edilen deneysel PTE modelinde, PTE'nin klinik pratiğinde düşük yan etki potansiyellerinden dolayı tercih edilen levetirasetam (LEV) ve lakosamid (LCM) tedavisine prebiyotik olarak kullanılan inülin, probiyotik olarak kullanılan 7 farklı bakteri türünü içeren VSL#3 ve sinbiyotik olarak bu iki prebiyotik ve probiyotiğin birlikte uygulanmalarına dayalı takviyelerin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca

uygulanan tedavilerin PTE'ye bağlı öğrenme ve hafızada yetersizlik, anksiyete gelişimi, motor fonksiyonlarda zayıflama gibi bilişsel ve motor komorbid bozukluklar üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için davranış testleri gerçekleştirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TRAVMATİK BEYİN HASARI

2.1.1. Travmatik Beyin Hasarının Sınıflandırılması

TBH klinik ciddiyeti dikkate alınarak hafif, orta ve ağır olarak 3 kategoride sınıflandırılmaktadır. Bu kategorilerin ayrımı post-travmatik amnezi süresi, bilinç kaybı ve Glasgow koma skorunu (GKS) içerecek şekilde 3 parametreye (15) ya da bilinçte dalgalanmaların devam ettiği toplam süre ve yapılan radyolojik görüntülemelerin normal ya da anormal olmasının eklenmesiyle birlikte 5 parametreye göre (16) yapılabilmektedir. İlk 24 saatteki GKS 13-15, bilinç kaybı 30 dakikadan, bilinç değişimi 24 saatten ve amnezisi 1 günden daha az süren, görüntülemesi normal olan hastaların TBH'si hafif; GKS 9-12, bilinç kaybı 30 dakikadan fazla ancak 24 saatten az olan, bilinç değişimleri 24 saati aşan, amnezisi 1 günden fazla ancak 7 günden az sürüp görüntülemesi normal ya da anormal olabilen hastaların TBH'si orta, GKS 3-8, bilinç kaybı veya değişimi 24 saatten, amnezisi 7 günden fazla olup görüntülemesi normal ya da anormal olabilen hastaların TBH'si ağır olarak sınıflandırılır. Bu sınıflandırma yapılırken özellikle GKS, bilinç kaybı-değişimi ve amnezi süresi parametrelerinden bir üst kategoriye ait tek bulgu olması hastanın o kategoriye alınması için yeterlidir. Ancak görüntüleme bulguları sıklıkla tek başına yeterli kabul edilmemekte ve diğer kriterler hafif TBH sınıflamasına uyuyor ancak hematoma veya kafatası kırığı gibi anormal görüntüleme bulguları mevcutsa hafif komplike TBH olarak isimlendirilebilmektedir (17). Dünya genelinde travmaları engelleyici ya da travmaya bağlı hasarı oluşabilecek hasarı tamamen engellemek ya da en aza indirmek için alınan önlemlerin artması sebebiyle, ağır TBH görülme sıklığı azalmaktadır (18).

TBH'de sıklıkla kullanılan nörogörüntüleme tekniği bilgisayarlı tomografide elde edilen bulgulara göre de radyologlar TBH'yi Marshall ve Rotterdam skalalarına göre sınıflandırabilmektedir. Bu skalalarda sisternalardaki kompresyon, beyinde orta hatta shift denilen herhangi bir kanama ya da travmaya sekonder kayma durumu, epidural kitle lezyonu, intraventriküler, intraserebral ya da subaraknoid kanama vb. olup olmaması değerlendirilerek bir puan verilir ve klinisyenin hasar durumu hakkında bilgi sahibi olması amaçlanır.

2.1.2. Travmatik Beyin Hasarının Epidemiyolojisi

Dünya genelinde travmatik beyin hasarı epidemiyolojisine yönelik kesin bilgi elde etmek oldukça zordur. Bunun önemli sebeplerinden biri hafif TBH olan hastaların büyük bir kısmının hastaneye başvurmamasıdır. Hafif TBH'nin, tüm TBH'lerin yaklaşık %80'ini oluşturduğu düşünüldüğünde pek çok kişinin kayda alınmamış ve takibi yapılamamış olabileceği görülmektedir (16,19). 2016 yılında yapılmış Global Hastalık Yüğü Çalışmasında dünya genelinde TBH insidansının 27.080.000, prevalansının 55.500.000 olduğu tahmin edilirken yaşa göre standardize edilmiş insidans oranının 100.000'de 369, prevalans oranının ise 100.000'de 759 olduğu ve 1990 yılından 2016'ya insidansın %3.6, prevalansın ise %8.4 oranında arttığı tespit edilmiştir (20). Türkiye'ye bakıldığında insidansın 248.553, insidans oranının 100.000'de 316, prevalansın 557.595; prevalans oranının 100.000'de 708 olduğu ve 1990 yılından 2016'ya kadar insidansın %15.7, prevalansın %13.2 oranında düştüğü görülmüştür. ABD içinse insidans 1.110.000, insidans oranı 100.000'de 333, prevalans 2.350.000, prevalans oranı 100.000'de 605 olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada TBH'ye bağlı engelli olarak yaşamak zorunda kalan kişi sayısının 8.000.000'dan fazla olduğu saptanmıştır. Başka bir çalışmada ise önceki çalışmaya göre daha yüksek olarak dünya geneli TBH insidansı 69.000.000 olarak hesaplanmıştır (2). Hafif TBH geçirenlerin %10'unda, orta düzey TBH geçirenlerin %66'sında ve ağır TBH geçirenlerin %100'ünde kalıcı engel meydana geldiği bildirilmiştir (21).

Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) 2019 yılında ABD'de TBH'ye bağlı 223.000'den fazla hastaneye yatış ve 60.000'den fazla ölüm olduğunu hesaplamıştır (22). TBH sebepleri olarak düşmeler, başta motorsiklet olmak üzere trafik kazaları, intihar, mesleki, spor ya da eğlence faaliyetleri ile ilişkili kazalar ve saldırılar gösterilmektedir (23). Yaşlı ve çocukluk dönemindeki popülasyonda düşme en başta gelen sebepken trafik kazaları yetişkinlerde daha fazladır. TBH'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm oranları 75 yaş üstü hastalarda çok daha yüksektir (24). Düşmeye bağlı TBH 2003 yılından 2012 yılına %43'ten %54'e artarken, trafik kazalarına bağlı TBH %39'dan %24'e gerilemiştir (25). Özellikle ragbi, futbol, buz hokeyi gibi sporlarda TBH daha sık gözükmemektedir (26). Savaş alanında bulunan askerlerde de TBH önemli bir risktir (27). Irak'tan dönen 2.525 askeri inceleyen bir çalışmada TBH'ya bağlı bilinç kaybı görülme oranı %4.9, bilinç bozukluğu görülme oranı ise %10.3 bulunmuştur (28). ABD Savunma Bakanlığı 2000 ile 2022 yılları arasında %1'i ağır, %82.3'ü hafif olmak üzere 468.000'den fazla askeri personelin TBH geçirdiğini tespit etmiştir (29). TBH erkeklerde kadınlara göre daha fazla olup farklı kaynaklarda farklı oranlar (2:1 ve 2.8:1)

bildirilmiştir (30, 31). CDC verilerine göre yine erkeklerde hastaneye yatış oranı 2 kat, ölüm oranı ise 3 kat daha fazladır. Sosyoekonomik durumu düşük olan kişilerde de TBH görülme riski daha yüksektir (30). Başta güneydoğu asya ve batı pasifik ülkeleri olmak üzere düşük ve orta düzey gelirli popülasyona sahip ülkelerde yüksek gelir düzeyine sahip ülkelere göre TBH vakaları neredeyse 3 kat daha fazladır (2).

2.1.3. Travmatik Beyin Hasarının Patofizyolojisi

Travmalar, beyinde primer beyin hasarı ve sekonder beyin hasarı olmak üzere 2 farklı hasar durumu oluşturabilir. Bu iki durum, aslında birbiriyle ilişkili olmasına rağmen tanı ve tedavileri oldukça farklılık göstermektedir.

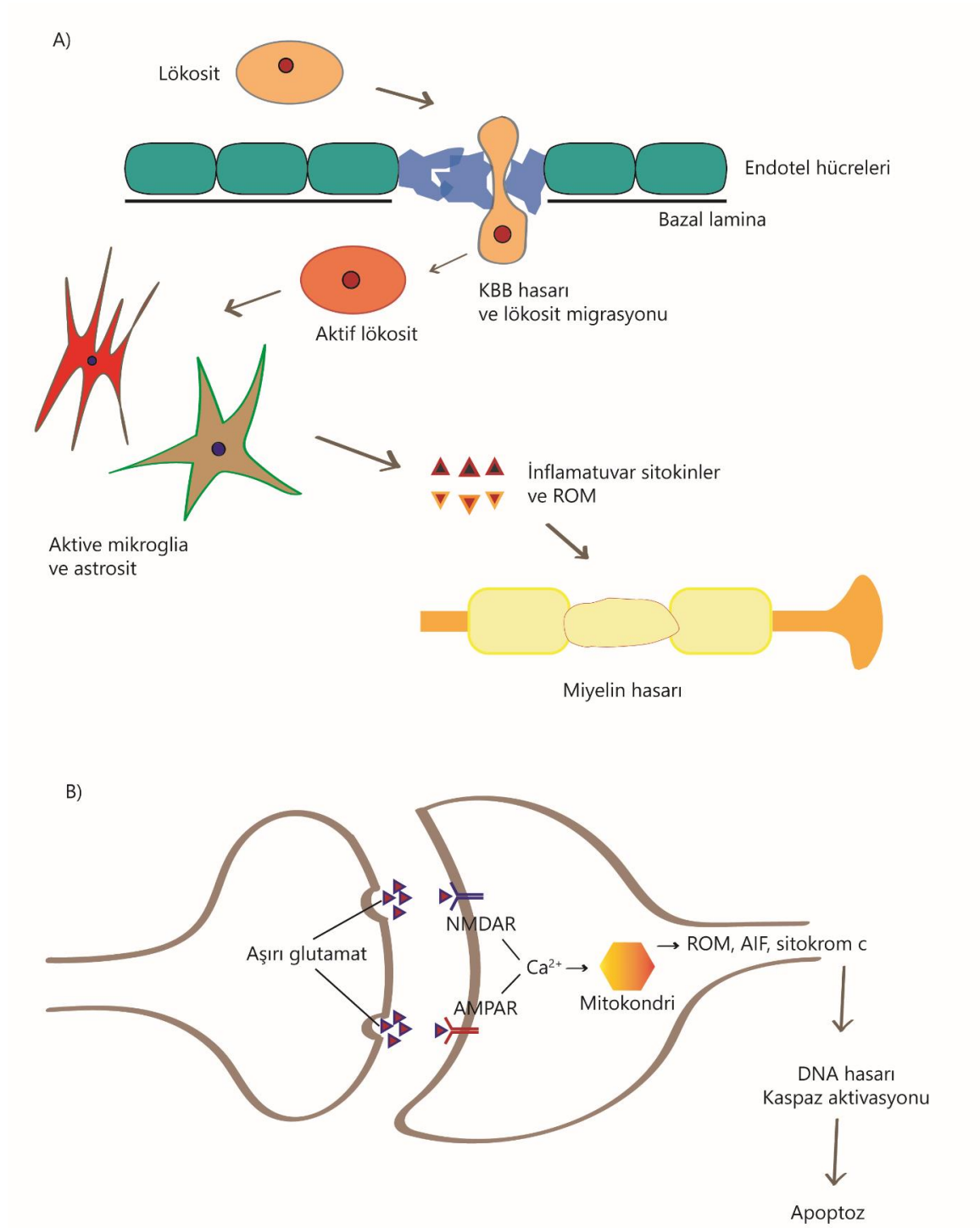
Primer beyin hasarı travmayla birlikte akut dönemde gelişen hasardır. Bu hasar farklı cisim ve yüzeylerle kafaya alınan darbelerle doğrudan temasla olabileceği gibi kurşun ya da sivri cisimlerle penetran yaralanmalarla, elektriksel, termal ya da kimyasal hasarlarla, hızlı ivmelenmelerle ya da patlama sonrasındaki şok dalgası ile de gerçekleşebilir. Gerçekleşen hasar genellikle fokal ve diffüz olarak 2'ye ayrılır. Fokal hasarda lokal bir bölgede değişimler mevcutken, diffüz hasarda uzun aksonal yıpranmalar ya da yırtılmalar söz konusudur. Fokal etkiler primer beyin hasarında çok daha sık görülürken, sekonder hasar daha fazla diffüz aksonal etkilere sebep olur. Kafaya alınan travma sonrasında en sık görülen fokal hasarlar kontüzyona bağlı doku hasarı, kafatası kırıkları hem vasküler hem de nöronal yapılarda laserasyonlar, vasküler laserasyonlar sonrası kanamaya bağlı gelişen epidural hematoma, subdural hematoma, subaraknoid kanama, intraserebral ve intraventriküler kanamalardır. Kafatası kırıkları deprese ya da non-deprese olabilir. Epidural hematoma dura ile kafatası arasında meydana gelen kanamadır ve genellikle kafatası kırığı ile birlikte olur. Sütur hattını geçmez, radyolojik görüntülerde limon ya da lens şeklinde olan hiperintensite görülür. Sıklıkla orta meningeal arter hasarı mevcuttur ve arteriyel kanama olduğu için basınç hızla artar, kısa süre içinde nörolojik patolojiler ortaya çıkar (32). Epidural kanamalarda lucid interval adı verilen, travmada yaşanan bilinç kaybı geçtikten bir süre sonra artan intrakraniyal basınç sebebiyle hastanın durumunun tekrar kötüleşmesiyle karakterize bir klinik durum gözlemlenebilir. Subdural hematoma ise daha çok kortikal köprü venleriyle ilişkili olup kanama sütur hattını geçebilir ve radyolojik görüntülerde hilal şeklindedir. Serebral hasar riski subdural hematoma daha yüksektir. Subaraknoid kanama pial damarlarla ilişkili olup travmayla meydana gelebileceği gibi anevrizma rüptürü gibi travmaya bağlı olmayan nedenlerle de gelişebilir. Tek

bir alanda değil farklı alanlarda küçük subaraknoid intensiteler görülüp tanı konulabilir ancak diğer kanamalara göre tanı koymak daha zordur. İntraventriküler kanama ise ventriküllerde radyolojik hiperintensite oluşturur ve ventrikülleri çok fazla genişleterek shift ile hidrosefali oluşturabilir. Ağır TBH geçiren hastaların yaklaşık 1/3'ünde koagülopati geliştiği ve hemorajik durumlarını daha da bozup kötü nörolojik sonuçlara sebep olduğu tespit edilmiştir (33). Kapalı kafa travmalarında, akselerasyon-deselerasyon ya da rotasyonel travmalarda gözlenebilen “coup-countercoup” adı verilen (34) ve “darbe-karşı darbe” anlamına gelen bir durum gelişebilir. Bu durumun mekanizması, darbe alınan fokal alanın tam karşıt bölgesinde beyin yapılarının kafatası içerisinde ileri-geri hareketinden dolayı hasar gelişimi olarak ifade edilir.

Travmatik beyin hasarında hem primer hasar hem de sekonder hasarın sonucu olarak fokal ya da global beyin ödemi de gelişebileceği ve ödemin en fazla travma sonrası 24 ve 48. saatler arası meydana gelebileceği belirtilmektedir (35). Beyin ödemi sitotoksik, vazojenik ve osmotik (interstisyel) olmak üzere 3'e ayrılır (35). İki durumda da intrakraniyal basınç artışı ve sekonder iskemi oluşur. Vazojenik ödem primer hasarla ilgiliyken sitotoksik hasar sekonder hasar olarak görülür (36). Vazojenik ödemden sorumlu tutulan 2 durum, endotelial hücre işlev bozukluğu nedeniyle kan-beyin bariyerinin (KBB) görevini yapamaması ve arteriyel karbondioksit (CO₂) yüksekliği sebebiyle refleks serebral vazodilatasyondur (37). Endotelial bariyer bozulduğu zaman intrasellüler ortamdan interstisyel ve ekstrasellüler ortama aşırı iyon ve protein geçişi ile birlikte sıvı hacmi artar ve ödem gelişir. Sitotoksik ödemde ise hem astrositler de hem de nöronlarda intrasellüler sıvı hacmi artar. Bu hacim artışı hücrelerdeki metabolik bozukluklar ve enerji eksikliğinden dolayı Na⁺-K⁺-ATPaz gibi iyon pompalarının görevlerini yerine getirememesi ve membran permeabilitesinin artmasına bağlı olarak hücre içindeki osmotik yükün artışından kaynaklanmaktadır (38). Osmotik ödem vasküler ya da sitotoksik bir durum olmamasına karşın hiponatremi gibi elektrolit dengesizliklerinde beyin dokusuna aşırı su girişiyle meydana gelir. Travma sonrasında gelişen serebral iskemi sebebiyle hasarlı dokuda hiperosmolar bir ortam oluşabileceği için hızlı ve büyük miktarda izotonik sıvı infüzyonu osmotik ödeme yol açar (35).

Sekonder beyin hasarı travma anından sonra farklı zaman aralıklarında başlayabilen, saatler ya da günler sürebilen ve çoğunlukla eksitotoksisite, oksidatif hasar ve inflamasyon gibi moleküler patolojilerle ilişkili bir durumdur (32). Bununla birlikte serebral vazospazm, hipo ya da hiperperfüzyon, hidrosefali, post-travmatik epilepsi ya da beyin hernisi gibi moleküler olmayan patolojiler ya da komplikasyonlar da sekonder beyin hasarı olarak değerlendirilir. Eksitotoksisite, nöronlardaki NMDA ve AMPA gibi eksitasyona sebep olan reseptörlerin

özellikle glutamat olmak üzere fazla miktardaki eksitatör nörotransmitterler ile aşırı uyarılması sonucu hasarlanmasıdır (Şekil 2.1). TBH sonrasında da fazla miktarda hücre lizisi gerçekleşmekte ve ekstrasellüler sıvıda artan glutamat ve aspartat aşırı depolarizasyon oluşturarak eksitotoksisite başlatmaktadır (39, 40). Aşırı glutamat ile eksitasyon hücre içine çok miktarda kalsiyum iyonunun (Ca^{2+}) girmesine neden olmakta ve Ca^{2+} endonükleazlar ve proteazlar gibi çeşitli enzimleri aktive etmektedir. Bu enzimlerin aşırı aktivasyonu da hücre çekirdeğinde, sitoplazmada ve membranlarda hasara yol açmaktadır. Eksitotoksisite aynı zamanda tek başına osmotik dengesizliğe, oksidatif strese ve mitokondriyal disfonksiyon sonucu sitokrom c salınımı sonrası kaspaz aktivasyonu ile apoptoza yol açmaktadır (32, 41, 42). Bu mekanizma, özellikle travmaya bağlı ya da iskemik ve metabolik sebeplerle nekroza giden hücrelerden farklı olarak direkt hasara uğramayan hücrelerin apoptoz ile kaybını açıklar. Hipokampüsün hayvanlarda oluşturulan TBH modellerinde hasara dayanıklılığı en az olan bölgelerden biri olduğu gösterilmiştir (43). TBH sonrasında hipokampüs hasarına bağlı hafıza bozuklukları önemli bir yüküdür. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada özellikle hipokampüste gelişmekte olan immatür nöronlarda hasarın daha fazla ve daha hızlı olduğu gösterilmiştir (44). İmmatür nöronlarda gama-amino bütirik asit (GABA) aktivitesi, matür nöronlardaki GABA aktivitesinden farklı olarak eksitasyona yol açmaktadır. Bu nedenle travma sonrası GABA aracılı eksitotoksisite immatür hücrelerin hassasiyetini açıklayabilen bir olgudur (45). TBH'de eksitotoksisteyi önlemek ya da azaltmak amacıyla ifenprodil, taxoprodil ve amantadin gibi NMDA reseptör antagonistlerinin etkileri çalışılmaktadır (36, 46). TBH'nin oluşturduğu hücresel metabolik bozukluklar, iskemi ve eksitotoksisite gibi etkenlere bağlı olarak üretilen reaktif oksijen ve nitrojen metabolitleri (süperoksit, hidrojen peroksit, peroksinitrit, nitrik oksit) giderek artar, anti-oksidan sistem (glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimler) radikalleri etkisiz hale getirmekte yetersiz kalır ve oksidatif stres ortaya çıkar (47, 48). Bu radikaller proteinlerle, DNA ve membran ile etkileşerek kimyasal yapılarını bozmakta ve mitokondriyal elektron taşıma zincirini inhibe ederek hücre içi enerji üretimini kısıtlayarak metabolik disfonksiyona ve yeterli perfüzyon basıncında dahi hipoksiye yol açmaktadır (39). TBH sonrasında laktat seviyelerinde artış olduğu da gösterilmiştir (49, 50). TBH hem direkt olarak hem de bahsedilen eksitotoksisite ve radikallerin oluşturduğu kaskadlar ile dolaylı olarak proinflamatuvar mediyatörlerin (TNF, IL-1, IL-6) salınımı ile inflamasyonu tetikler. ICAM ve VCAM gibi çeşitli adhezyon moleküllerinin ekspresyonu artar, makrofaj ve T-lenfositler KBB'ye infiltre olur ve hasar meydana getirir (51). Lenfositlerle birlikte lökosit, mikrogliya ve astrositlerin de aktivasyonu ile miyelin hasarı meydana gelir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Travmatik beyin hasarının patofizyolojisi. A) KBB hasarı sonrası lökosit migrasyonu, hücrel aktivasyonlar ve miyelin hasarı oluşumu B) Eksitotoksisite. ROM: radikal oksijen molekülleri, AIF: apoptoz indükleyen faktör, DNA: deoksiribonükleik asit, NMDAR: NMDA reseptörü. AMPAR: AMPA reseptörü

KBB’de gerçekleşen hasar, kafa içi basıncını da artırır ve beyin ödemi kötüleştirir. Serebral perfüzyon basıncını dengede tutmak için serebrovasküler otoregülasyon (serebrovasküler dilatasyon ya da konstriksiyon) gereklidir. Otoregülasyonun bozulmasıyla birlikte hipoperfüzyon gelişerek iskemi oluşturabilir ya da hiperperfüzyon ile intrakraniyal basınç artışı ve iskemi-reperfüzyon hasarı oluşabilir. TBH sonrasında birçok hastada otoregülasyon bozulmuş ya da ortadan kalkmıştır (52, 53). Serebral kan akımını düzenlemede otoregülasyonla birlikte vasküler CO₂ reaktivitesi de önemlidir. Ağır TBH’si olan ve prognozu kötü seyretmiş hastalarda CO₂ reaktivitesinin erken dönemden itibaren bozulduğu (54), ağır TBH geçirmemiş olan kişilerde ise normal ya da artmış olduğu (55) tespit edilmiştir. TBH geçiren hastaların 1/3’ünde serebral vazospazm saptanmış ve ciddi beyin hasarı ile ilişkilendirilmiştir (39). TBH’de sekonder hasarları durdurmak için çok sayıda muhtemel nöroprotektif ajanın araştırılması devam etmekte ancak klinik anlamda etkili bir tedavi hala mevcut olmadığından ortaya çıkabilecek hipotansiyon, hipoksi, hipo/hiperglisemi ve epilepsi gibi durumları engellemek veya tedavi etmek hasarı azaltmada büyük önem arz etmektedir.

2.1.4. Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Komplikasyonlar

TBH sonrasında hasar düzeyine bakılmaksızın ciddi komplikasyonlar gelişebilmektedir. Özellikle kafa kırıklarına bağlı olarak oluşan fistüller aracılığı ile otore, rinore, pnömosefali ve intrakraniyal enfeksiyonlar oluşabilmekte ve bu kişiler için nörocerrahi konsültasyonu uygun görülmektedir (56). TBH geçiren hastalardaki vasküler ve nöral yaralanmaların şiddetine ve bölgesine göre gelişebilecek nörolojik defisitler farklılık gösterebilir. Eğer frontal bölgede hasar varsa kişilik ve düşünce ile ilgili yüksek beyin fonksiyonları etkilenebilir. Yine frontal bölgeden gelişen bir travmada gözlerde gelişebilecek direkt hasarların yanında II, III, IV ve VI. kraniyal sinirlerin hasarına bağlı da diplopi gibi göz patolojileri ortaya çıkabilir. Motor ve somatosensoriyel korteks, yüzeysel konumları nedeniyle TBH’den etkilenen en hassas beyin bölgeleri arasındadır (1). Bu bölgelerin hasar görmesi, motor ve duysal fonksiyonların bozulmasıyla ilişkilidir. Oksipital bölgeye alınan travmalarda serebellum hasarına bağlı denge ve koordinasyon bozuklukları, postür ve yürüyüş düzensizlikleri görülebilir. TBH sonrası tremor, ataksi, spastisite ve myoklonus gibi hareket bozuklukları gelişebilir (57, 58). Görme alanı hasarına bağlı kortikal körlük oluşabilir. Oksipital travmalar, ayrıca koku ve tat fonksiyonlarında bozulma ile de ilişkilendirilmiştir (59). Temporal bölge travmalarında temporal işitme alanında gelişen hasara bağlı olarak işitme kaybı

oluşabilir, mediyal temporal lob ve hipokampus hasarına bağlı öğrenme, hafıza ve mekansal koordinasyon yeteneklerinde bozulmalar olabilir. Yine temporal bölgede gelişen TBH'ler eğer temporal kemik kırığı oluşturduysa sıklıkla VII ve VIII. kraniyal sinirleri etkiler (56). Kraniyal sinirler genellikle ödem ve diğer basınç oluşturan sebeplere bağlı etkilenmekte ve basıncın azalmasıyla birlikte normal fonksiyonlarını devam ettirebilmektedir.

Hafif TBH geçiren kişilerin diagnostik yetersizlik sebebiyle az olduğu düşünülse de %15 kadarında “Sarsıntı Sonrası Sendromu (Post-concussion syndrome, PCS)” ortaya çıkmaktadır (60). PCS, genellikle hafif TBH sonrası ortaya çıkan birtakım semptomların bütününe içine alır. Semptomlar fiziksel, bilişsel, davranışsal ve/veya emosyonel olabilir. Sık görülen yaygın semptomlar baş ağrısı, yorgunluk, görme, işitme ve denge bozuklukları, depresyon, anksiyete, uykusuzluk ve konfüzyondur (56, 61). Semptomların yaklaşık yüzde 90'ı geçicidir ve tipik olarak 10-14 gün içinde düzelir. Ancak bazı hastalarda bu düzelme görülmez ve semptomlar 3 aydan fazla devam ederse bu sefer kalıcı sarsıntı sonrası sendromu ismini alır (61). Araştırmalar, kalıcı beyin sarsıntısı sonrası sendromla sonuçlanan hafif TBH'nin bilişsel, davranışsal, hafıza ve öğrenme işlevleri üzerinde kalıcı etkileri olduğunu göstermiştir.

TBH geçiren kişilerin bazı komplikasyonları daha uzun dönemde belirir. Klinik öneme sahip heterotopik ossifikasyon, TBH sonrası %10-20 insidansa sahiptir (62). TBH yaşayan kişilerin önemli bir oranı hayatlarının geri kalanında insomnia ve baş ağrılarından sıklıkla muzdariptir. Post-travmatik depresyon ve anksiyete bozuklukları, TBH'de görülen en sık sekonder komplikasyonlardan olup (63) TBH geçiren kişilerin hayat kalitesini düşürmekte, topluma ve iş hayatına geri kazandırılmasına engel teşkil etmektedir (64). Kronik travmatik ensefalopati Amerikan futbolu ya da boks gibi alanlardaki sporcularda ya da askerlerde sık gözlenen, tekrarlayan TBH ile ilişkili olarak ortaya çıkan ilerleyici bir nörodejeneratif komplikasyondur (65, 66). Semptomlar genellikle birkaç yıldan on yıllara kadar değişen uzun bir dönemden sonra ajitasyon, sinirlilik, depresyon, kısa süreli hafıza kaybı gibi durumlarla başlasa da bilişsel fonksiyonlar giderek bozulabilir ve demansa kadar ilerleyebilir. Kronik travmatik ensefalopati, uzun dönem hafif-TBH'ye maruz kalan beyindeki tau proteini birikimi ile ilişkili bir patoloji olarak nitelendirilmektedir (67). TBH geçirdikten sonra uzun dönem yatağa bağımlı kalan hastalarda derin ven trombozu, pulmoner emboli ve bası ülserleri gelişebilir. Bu patolojiler özellikle yoğun bakım hastalarında sıklıkla karşılaşılan ve önlenmesi mümkün patolojiler olsa da yine de önem arz etmektedirler. Özellikle ivmelenmeye bağlı TBH'lerde hipofiz bezi etkilenen hastalarda hem akut dönemde hem de

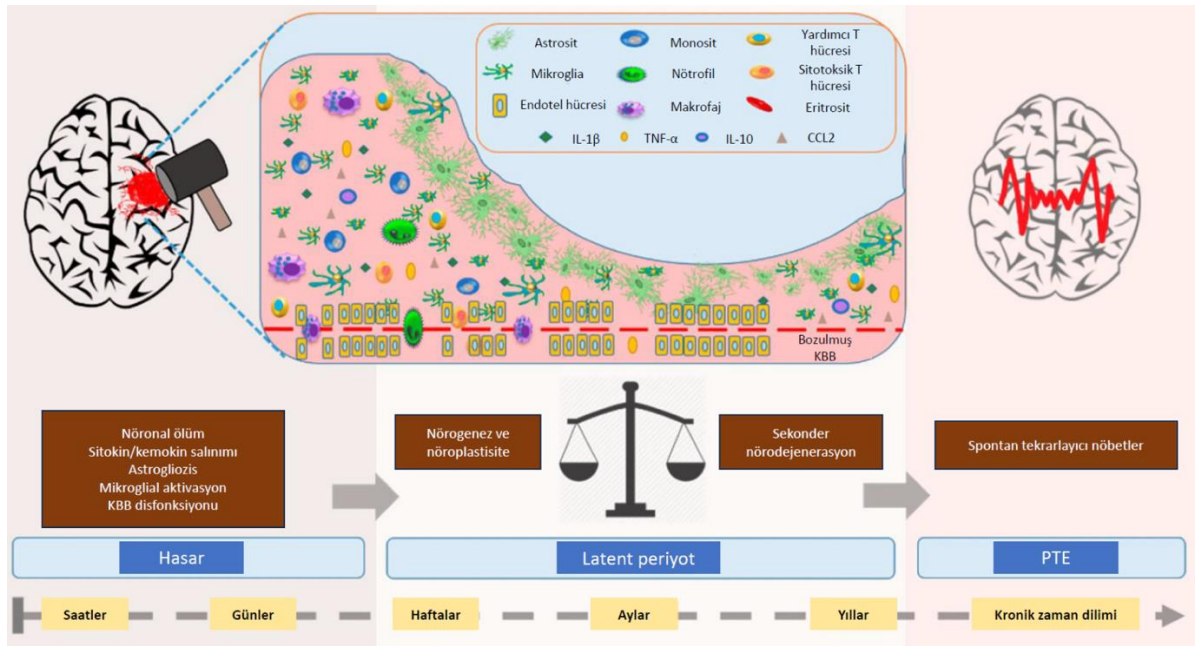
kronik dönemde hormonal düzensizliklere bağlı komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Bu komplikasyonlar ilgili hormonun fonksiyonlarına bağlı olarak büyük çapta değişebilir.

TBH'nin olası komplikasyonlarından biri de nöbet gelişimidir. TBH sonrası nöbetler ani (< 24 saat), erken (24 saat – 7 gün arası) veya geç (> 7 gün) olarak sınıflandırılmakta ve hastaların %80'inden fazlasında 2 yıl içinde görülmektedir (16). PTE, tüm semptomatik epilepsilerin %20'sine karşılık gelen ve TBH sonrası 1 haftalık dönemden daha uzun sürede ortaya çıkan rekürren provoke edilmemiş spontan nöbetler ile tanı konulan önemli TBH komplikasyonlarından biridir (68). TBH'den sonra ilk haftada görülen nöbetler, kafa travması ile provoke olmuş akut bir komplikasyon olarak kabul edilir. PTE travmadan sonra meydana gelen uzun bir patofizyolojik sürecin ardından yıllar sonra bile ortaya çıkabilir (Şekil 2.2). PTE vakalarının yaklaşık yarısında nöbetler ilk yıl içinde, %80'inde ise ilk 2 yıl içinde başlamaktadır (69). TBH şiddeti arttıkça PTE riskinin arttığı kabul edilmekte (70) ve travma sonrası erken dönemde görülen nöbetlerin PTE için en önemli risk faktörü olduğu görülmektedir (71). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, yetişkinlerde PTE'nin tam olarak önlenmesi veya tedavisi edilmesini sağlayan spesifik bir ajan ya da yöntemle dair kanıt yoktur (72). Klinik uygulamada PTE'li hastalar çeşitli antikonvülsanlarla, vagus sinir stimülasyonu ve cerrahi gibi yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılmakta ancak nöbetler tıbbi tedaviye büyük oranda direnç gösterebilmektedir. Bu nedenle PTE'ye ilişkin tedavi stratejileri kapsamında yeni ve nöronal olmayan hedef veya mekanizmaların araştırılması önemli görünmektedir (10). Son yıllarda antiepileptikler dışında nöroinflamatuvar modülasyon, nöronal plastisite, derin beyin stimülasyonu, hücre transplantasyonu, fitoterapi ve genetik manipülasyon gibi çok çeşitli yöntemler ile etkin tedavi arayışları devam etmektedir (1). İdeal etkin tedavi olarak adlandıracağımız metotlar nöbetlerle birlikte PTE ile ilişkili komorbiditeleri de hafifletmeli ve yaşam kalitesinin iyileştirilmesine yardımcı olmalıdır. Deneysel epilepsi modelleri insanda görülen PTE patolojisini daha iyi simüle edecek şekilde geliştirildikçe epileptogenez anlayışımız da sürekli olarak gelişmekte ve potansiyel tedavi yöntemleri çoğalmaktadır.

2.1.5. Travmatik Beyin Hasarının Tedavisi

TBH'li hastaların ilk yönetimi hava yolu, solunum ve dolaşımın yönetimine ilişkin yaşam desteği ilkelerine odaklanır. Solunum disfonksiyonunu önlemek için gerekirse hasta entübe edilir. Serebral perfüzyonun devamı için hipotansiyon önlenmelidir. Hipotansiyonu engellemek için hedef sistolik basınç ≥ 90 olacak şekilde (73) intravenöz sıvı uygulaması

yapılır. Sıklıkla tercih edilen sıvı %0.9 salindir. Ancak yüksek miktarda kristaloid sıvı uygulamasına bağlı hiperkloremik asidemi ve koagülopati gelişme riski olan hastalarda kristaloid yerine dengeli elektrolit solüsyonlarının ya da kan ürünlerinin kullanımı gündeme gelmiştir (73, 75). TBH geçiren kişilerdeki sıvı tercihi konusunda net bir öneride bulunmak güçtür ve hastanın bireysel durumu değerlendirilmelidir. Hayati fonksiyonların devam ettiği emin olunduktan sonra hızlı bir nörolojik muayene yapılır ve sıklıkla kontrastsız bilgisayarlı tomografi ile travmanın akut etkisi değerlendirilir.



Şekil 2.2: TBH sonrası PTE gelişimi (Sharma vd., 2019'dan (74) değiştirilerek). IL-1 β : interlökin-1-beta, TNF- α : tümör nekroz faktör alfa, IL-10: interlökin-10, CCL2: kemokin ligand 2

TBH sonrası küçük bir epidural kanama bile hızlıca büyük bir hematoma oluşturup hayatı tehdit edebilir. Bir çalışmada kanama durumlarında kullanılan bir ajan olan traneksamik asitin travma sonrası ilk 3 saat içinde uygulanmasının mortaliteyi azalttığı ifade edilirken (76), başka bir meta-analizde ise mortalite ve disabilite üzerine etkisi olmadığı (77) tespit edilmiştir. Eğer ciddi boyutta kitle oluşturan bir hematoma mevcutsa, cerrahi müdahale kaçınılmaz hale gelmektedir. Cerrahi müdahaleler kraniyotomi ve dekompresif kraniyektomi (DK) olarak 2 şekilde uygulanmaktadır. Kraniyotomi işleminde hedef kemik yapı geçici olarak çıkarılıp hematoma boşaltılır, kanama varsa durdurulur ve çıkarılan kemik doku tekrar yerleştirilirken

dekompresif kraniyektomi operasyonunda çıkarılan kemik doku cerrahi sonrasında hemen kapatılmaz (78). 2014 yılında yapılan Milan Konsensüsü'nde epidural hematomların sıklıkla izole olmaları ve serebral ödemle birlikte presente olmamaları sebebiyle rutin DK uygulanmaması gerektiği vurgulanmıştır (79). Subdural hematomlar genellikle daha kötü beyin hasarı ve ödem ile seyrettiğinden DK uygulanır; bu hastalarda tek başına kraniyotomi yapılması cerrahi sonrası ödemin etkisi ile hastanın tekrar kötüleşmesine yol açabilir (80). Ancak subdural hematomun beyin ödemi ile birlikte olmadığı ve beyin hasarının düşük düzeyde olduğu düşünülen TBH vakalarında kraniyotomi de uygulanmaktadır (81). 2023 yılında yapılan ve akut subdural hematomda kraniyotomi ile DK'yı karşılaştıran bir çalışmada, hayat kalitesi ve engellilik açısından benzer sonuçlar görülmesine rağmen kraniyotomi yapılan hastalarda ek cerrahinin daha fazla gerektiği, cerrahi alana ilişkin komplikasyonların DK uygulanan hastalarda daha fazla olduğu tespit edilmiştir (78). Akut subdural hematomlar pıhtılaşmış kan içerirken, subakut ve kronik subdural hematomlarda sıvı komponent yer almaya başladığından bu hastalar için hematom bölgesi üzerinde küçük bir boşluk açılıp vakumlu bir tüp ile drenaj sağlanabilir. GKS'den bağımsız olarak 30 cm^3 'den büyük hematomu olan ya da hematom büyüklüğünden bağımsız olarak GKS <9 , pıhtı kalınlığı $>15 \text{ mm}$, orta hat kayması $>5 \text{ mm}$ veya fokal nörolojik defisiti olan hastalarda cerrahi önerilmektedir (73). Hematom 30 cm^3 'den küçük, $<15 \text{ mm}$ kalınlıkta, orta hat kayması $<5 \text{ mm}$, GKS >8 ve fokal nörolojik defisit yoksa hasta yakın gözlem ve 6-8 saat aralıklarla seri görüntüleme ile takip edilebilir (81).

TBH hastalarında intrakraniyal basınç (İKB) gerek travma sebebiyle gerekse travma sonrası yapılan cerrahi müdahaleler sebebiyle artabilir ve serebral perfüzyonu azaltabilir. Primer hasar cerrahi müdahale gerektirmemiş olsa bile, geç dönemde gelişen ve erken farkedilmeyen vazojenik-sitotoksik ödem gibi sekonder hasarlar İKB'yi artırarak nörolojik kötüleşmeye sebep olmaktadır. Bu sebeple TBH hastalarında İKB monitörizasyonu klinik anlamda büyük önem kazanmaktadır (18). Brain Trauma Foundation ciddi TBH yönetiminde İKB 22 mmHg üstüne çıktığında tedavi uygulanmasını ve serebral perfüzyon basınç hedefinin $60-70 \text{ mmHg}$ aralığında olmasını önermektedir (82). Baş elevasyonu venöz dönüşü ve BOS akımını artırıp, hiperventilasyon ise intraarteriyel parsiyel CO_2 basıncını azaltıp vazokonstriksiyon yaparak intrakraniyal basıncı azaltmakta ancak profilaktik hiperventilasyon serebral kan akımını azaltıp fokal iskemi alanlarını artırabileceğinden önerilmemektedir (80). Hidrosefali gelişen hastalarda ventriküloperitoneal şant açılabilir. Hiperosmolar ajan mannitol ve hipertonic salin de kafa içi basıncını azaltmak için kullanılmaktadır ancak uzun dönem faydaları tartışmalıdır (83, 84).

Terapotik hipotermi, çeşitli patolojik durumlarda metabolik ihtiyacı ve inflamasyonu azaltarak fayda sağlayabileceği öne sürülmüş bir tedavi yöntemidir. TBH geçiren çocuk ve infantlarda yapılan bir çalışmada terapotik hipoterminin oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (85). Ancak literatür incelendiğinde birçok çalışmada terapotik hipoterminin prognozu iyileştirmede, hatta bazı vakalarda daha kötü nörolojik sonuçlarla ilişkili olduğu ifade edilmektedir (86). Terapotik hipotermi trombositler ve koagülasyon faktörleri üzerinde alterasyonlara sebep olma riski taşımakta ve sadece diğer modalitelerden fayda görmeyen vakalar üzerinde ikinci sıra tedavi yöntemi olarak rehberlerde yer almaktadır (80). TBH geçirmiş ve yatağa bağımlı bir hastanın beyin hasarı stabilse yarar-zarar dengesi gözetilerek derin ven trombozu profilaksisi ya da tromboemboli için antikoagülan tedavi uygulanabilir ancak intrakraniyal hemoraji oluşturup TBH'yi kötüleştirebilecekleri unutulmamalıdır (87). Barbitürat ve benzodiazepin gibi anestezik ve sedatif maddeler elektroensefalogramda (EEG) burst supresyon oluşturur ve beyin aktivitesini baskılayarak metabolik ihtiyacı azaltır. Önemli yan etkileri sebebiyle profilaktik uygulama önerilmemekle beraber, standart medikal ve cerrahi tedavilere refrakter İKB artışı olan hastaya yüksek doz barbitürat verilerek koma durumunda tutmak son tedavi seçeneklerinden biridir (82). Bu amaçla pentobarbital 30 dakikada 10 mg/kg bolus, 3 saat boyunca 5 mg/kg/saat infüzyon şeklinde başlandıktan sonra 1 mg/kg/saatle titre edilir ve hipotansiyon gibi önemli yan etkilerin gelişip-gelişmeyeceği gözlemlenir (73). EEG'de dakikada 2-5 burst hedeflenir (88). TBH sonrası erken dönemde nöbetleri önlemek ya da ciddiyetini azaltmak amacıyla 1 hafta boyunca profilaktik olarak antiepileptik de uygulanmaktadır (75). Bununla birlikte profilaksinin geç nöbetleri önleyeceğine dair bir kanıt yoktur. Profilaksi için birinci seçenek ajan fenitoin (PHT) (3x100 mg/gün) iken, yan etkilerinin az olması ve benzer etki potansiyeli sebebiyle levetirasetam (1000 mg bolus, 500 mg/gün idame) iyi bir alternatif olarak ön plana çıkmakta ve giderek daha fazla tercih edilmektedir (75, 89, 90). Profilaktik antiepileptik uygulaması nörolojik durumu iyi, yaşı 65'ten yüksek, GKS'si 8'den yüksek hafif-orta TBH vakalarında önerilmemektedir (73, 90).

2.1.6. Travmatik Beyin Hasarının Deneysel Modelleri

TBH, farklı etiyolojilere bağlı olarak farklı tip travmalarla oluşabileceğinden hayvan modelleri de bu travma türlerini araştırmak amacıyla çeşitlidir. Maliyet efektif olması, manipülasyon kolaylığı ve çok sayıda standardize edilmiş testlerin varlığı sebebiyle TBH için yapılan deneysel çalışmalarda en sık kullanılan denekler kemirgenler olmaktadır (91). Ancak

hem fizyolojilerinin hem de beyinlerinin insana daha benzer olması sebebiyle büyük hayvanların kullanımı da önem arz etmektedir. Buna bağlı olarak kedi, tavşan, köpek, koyun, gelincik, domuz ve insan dışı primatlarda TBH modelleri uygulanabilmektedir (92). Ek olarak, kemirgenlerde serebrospinal sıvı hacminin oldukça az olduğu göz önüne alındığında moleküler ve metabolizma ile ilgili değişikliklerin serebrospinal sıvıdaki analizi büyük ölçüde büyük hayvanlara bağlıdır. TBH oluşturmak için en sık kullanılan modeller sıvı perküsyon hasarı, kontrollü kortikal darbe, şok tüpü/patlama dalgası ve ağırlık düşürme modelleridir (Şekil 2.3) (93). Bunlar dışında penetran ballistik benzeri modeller ya da vakum deformasyonu gibi daha az konvansiyel metotlar da mevcuttur (94, 95). TBH hastalarında uygulanan GKS gibi hafif, orta ve ciddi travma sınıflandırılması için hayvan deneylerinde kullanılan ortak bir standart yoktur. Her modelin oluşturduğu hasar, metodun özelliklerine göre değerlendirilmektedir.

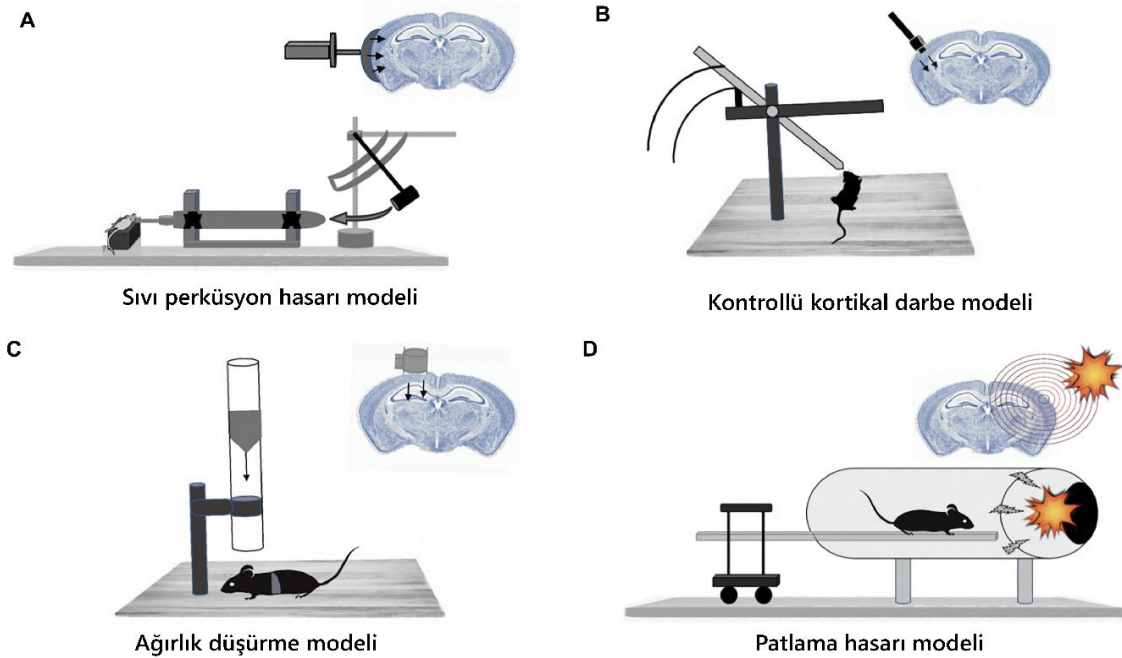
Sıvı perküsyon hasarı (SPH) modelinde, sıklıkla salin gibi bir sıvı ile dolu bir tüpün ucundaki pistonu ayarlanabilir bir sarkaç yardımıyla istenilen oranda kuvvet uygulanır. Bu kuvvetin sonucunda iletilen sıvı basıncı, daha önce kraniyotomi ile açığa çıkarılmış duraya (sıçanlar için 3 mm çapında) Luer-lock ya da Luer taper ismi verilen bir ara sabitleyici üzerinden iletilir (96). Luer-lock aynı zamanda bir basınç detektörüne de bağlıdır ve iletilen basıncın hassas şekilde ölçülmesine de olanak verir. Sıvı perküsyon modeli mikş hasar oluşturan bir modeldir. Hem fokal hem de diffüz hasar oluşturabilir ancak kemik kırığı oluşturmaz. Kraniyotomi sagittal sütür merkezinde yapıldığında orta hat SPH (97), orta hattın 3,5 mm lateralinde yapılırsa lateral SPH olarak adlandırılır (98). Orta hat SPH’de diffüz hasar oluşurken, lateral SPH’de hem fokal (ipsilateral hemisferde) hem de diffüz hasar (kontralateral hemisferde) oluşur (99). Lateral SPH iki hemisfer arasındaki hasarı karşılaştıracılabilmeye olanak sağlar. Orta hat SPH’nin mortalitesi beyin sapı hasarına bağlı oluşan apne sebebiyle daha fazladır (93). Birçok çalışmadan elde edilen verilerin ortalamalarına göre SPH modellerinde hafif TBH oluşturan basınç değerleri 0.9-1.5 atm, orta düzey 1.6-2.5 atm ve ağır TBH için ise 2.5 atm basıncın üstü olarak ifade edilmiştir. Mortalite oranı uygulanan basınçla doğru orantılı olarak artmaktadır (93). Doğrulma refleksi, SPH modellerinde hasar düzeyini ölçmek için kullanılan bir reflekstir (100). Bu refleksi değerlendirmek için denek sırtüstü bırakılır ve ayakları üzerine doğrulması için geçen süre 3 kez hesaplanıp ortalaması alınır. Hafif TBH için doğrulma zamanı ortalama 2-4 dakika (dk), orta TBH için 6-10 dk, ağır TBH içinse 10 dk üstü olarak ifade edilmektedir (93).

Kontrollü kortikal darbe (KKD) modeli, bir yazılım tarafından hız ve derinlik kontrolü yapılarak travma oluşturulmak istenen durası açığa çıkarılmış bölgeye bir çubuk ya da farklı

bir travma aparatı ile invazif hasar verilmesine dayanır. Fokal beyin hasarlarını en iyi yansıtan modellerden biridir. Travma aparatının boyutu ve geometrisi farklı denekler için farklılık gösterir. İlk olarak gelinciklerde (101), daha sonra sıçan (102), fare (103), domuz (104) ve maymunlarda (105) uygulanmıştır. Travma aparatı direk beyin dokusu hasarına sebep olur. Sıklıkla akut hematoma, kortikal kontüzyon ve nörodejenerasyon gelişir. Hız ve derinlik kontrolü yapılabilmesi, ağırlık düşürme modelinde görülebilen rebound hasarına yol açmaması gibi özellikleri, kontrollü doku hasarı oluşturmak için avantajları olarak gösterilmektedir (91, 93).

Akselerasyon darbesi ya da klasik ismiyle ağırlık düşürme metodu isminden de anlaşılacağı gibi belirli grama sahip bir ağırlığın denegin kafasının üzerinde hedeflenen bölgeye serbest düşmesiyle TBH oluşturulmasına dayanır. Ucuz ve kolay uygulanabilir olması önemli avantajlarından. Farklı modifikasyonlar sayesinde hem fokal (106), hem de diffüz (107) TBH oluşturmak mümkündür. Feeney'in oluşturduğu modelde kraniyotomi ile açığa çıkarılmış dura üzerine ağırlık düşürülür ve sonucunda kortikal kontüzyon ve hemorajik lezyonlar meydana gelir (108). Sıklıkla 24 saat içinde nekrotik kavite oluşur ve 2 hafta kadar büyüyebileceği ifade edilmektedir (91). Shapira ve arkadaşlarının oluşturduğu kapalı travma modelinde ise akselerasyona bağlı diffüz hasarı engellemek için sabitlenmiş başın üstünde hedeflenen bölgenin deri yüzeyine ağırlık düşürülür ve fokal hasar oluşturulur. Marmarou'nun oluşturduğu modelde ise anestezi altına alınan ratlarda baş üzerinde Lambda ve Bregma noktalarının orta hattına yapılan insizyon ile kafatası açığa çıkarılır, Shapira'nın tersine paslanmaz çelikten oluşan bir koruma başlığı yerleştirilir ve kemik kırıkları engellenmeye çalışılır. Marmarou'nun oluşturduğu düzeneğin hedefi sıklıkla düşmelerde, trafik kazalarında ya da bazı sporcularda görülen akselerasyona bağlı oluşan diffüz hasarı modellemektir (109). Hasarın boyutu, ağırlık düşürmenin etkisinin KKD modelinde olduğu gibi keskin sınırlarla ayarlanabilir hız ve derinliğe sahip olmaması ve "rebound impact" adı verilen geri tepme etkisinden dolayı değişkendir (93). Khalin ve arkadaşlarının yaptığı bir fare çalışmasında 2 cm yükseklikten düşürülen 250 gram ağırlık ağır TBH oluştururken, 200 gram ile hafif hasar olduğu gözlemlenmiştir. Sıçanlar üzerinde Marmarou modeli kullanılarak nörolojik disfonksiyon şiddetini ölçmek amacıyla yapılan bir TBH çalışmasında ise 1, 1.5 ve 2 metre yükseklikten bırakılan 450 gram ağırlık sırasıyla %0, %12.5 ve %50 mortalite oranı oluşturmuştur (110). Maryland modeli ise frontal bölgede oluşabilecek kapalı kafa travmalarını modellemek amacıyla Marmarou modeli modifiye edilerek oluşturulan bir modeldir. Ağırlık anterior bölge üzerine düşürülür ve beynin kraniyumun içinde antero-posterior hatta

akselerasyona maruz kalması sağlanır (111). Ağırlık düşürme metotları uygulanan deneklerde görülen motor, sensöriyel ve bilişsel defektler hasar şiddeti ile doğru orantılı olsa da değişkenlik gösterebilmektedir. Marmarou modeli ya da lateral SPH modeli gibi bazı modeller, futbol oyuncularında, çocuk istismarı kurbanlarında veya boksörlerde olduğu gibi kronik travmalara maruz kalıp TBH gelişen vakaları modellemek için hafif şiddette tekrarlayan şekilde uygulanabilmektedir (112, 113). Bu deneylerde kemik kırıkları, intrakraniyal hemorajiler ve motor defisitler nadiren gözlenirken paralizi ya da nöbet görülmez (91). Ancak kümülatif olarak uygulanan travma davranışsal bozukluklara, nöroinflamasyona ve kortikal nöron kaybına yol açar (114).



Şekil 2.3: TBH deneysel modelleri (*Shah vd., 2019'dan (115) değiştirilerek*)

Şok tüpü/şok dalgası ya da patlama dalgası modelinde anestezi altına alınmış denek, toraks ve abdomenini koruyacak bir Kevlar zırh giydirilerek deney düzeneği tüpünün içine yerleştirilir. Metalden yapılmış olan bu tüp, içinde patlama dalgası oluşturacak olan gaz kompresörü ve sıkıştırılmış hava salındıktan sonra dalganın lineer olarak yayılabileceği silindir bulundurulur. Bu sayede enerji dalgasının kontrollü olarak iletilmesi sağlanır (116). Uygulanan enerji dalgasının sebep olduğu ani hızlanma ve rotasyon, beynin kafatası içinde travmatik hareketine yol açar. Bu da diffüz aksonal hasar, beyin ödemi ve iskemi oluşturur (117). Denek,

serbest alanlarda meydana gelen patlamaları modellemek için tüpte oluşan dalganın çıkış bölgesinin yakınına ya da istenen belirli bir mesafe uzağına da yerleştirilebilir. Bu durumda patlama dalgası çıkış bölgesinden yayılarak ve etkisi azalarak ilerleyeceği için oluşacak TBH düzeyi daha öngörülemez olacaktır (118).

Penetran ballistik benzeri modeller dart ya da pellet gibi bir cisimin yüksek hızda fırlatılmasına dayanır (119). Fırlatılan öge, girdiği açıya göre bir anatomik yol izleyerek destrüksiyona ve kaviteye yol açar. Hasarın şiddeti ve oluşan defisitler fırlatılan cismin enerjisine ve izlediği yola göre değişiklik göstermekle beraber sıklıkla büyük bir intraserebral hemorajiye, ödeme, nöbetlere, nöroinflamasyona ve sensörimotor patolojilere sebep olur (119).

2.2. EPİLEPSİ

2.2.1. Epilepsinin Tarihçesi

Orijini Yunanca ele geçirmek veya geçirilmek anlamına gelen “epilambanein” olduğu düşünülen (120, 121) epilepsi, kişinin anormal beyin aktivitesi nedeniyle tekrarlayan nöbetler geçirmesine neden olan nörolojik bir hastalıktır. Epilepsinin tarihçesi ile ilgili en eski bulgu, M.Ö. 2000’li yıllarda epileptik nöbet geçirdiği düşünülen bir kişiye yönelik Mezopotamya bölgesinde kullanılan Akad dilinde yazılmış bir metindir (120). Bu metinde epilepsiden “antasubbu” olarak bahsedilmektedir. Dünyanın en eski cerrahi dökümanı olarak ifade edilen M.Ö. 1700 yılına ait Edwin Smith antik mısır papirüsünde bazıları kafa travması sonrası meydana geldiği düşünülen konvülsiyon benzeri semptomlara sahip vakalardan bahsedilmektedir (120). Bu vakalar belki de post-travmatik epilepsinin kayıtlara geçmiş ilk örnekleridir. Tüm hastalıklar anlamındaki “Sakikku” isminde diyagnostik bilgilerin yer aldığı çok eski bir babil yazıtında epilepsi hastalarında görülen birçok semptom tanımlanmış ve günümüzde bu yazıtlarda belirtilen vakaların fokal nöbet, absans gibi farklı nöbet tiplerine ait olabileceği belirtilmiştir (122). Babil döneminde bu hastalığın kötü ruhların insanı ele geçirmesi sonucu oluştuğuna inanılmaktaydı (123). Yazıtlarda bu hastalıktan “miqtu” ve “sibtu” olarak bahsedilmektedir (124). Eski Hint tıbbi yazıtlarında “abasmara” (125) olarak ifade edilen hastalığın da yine epilepsi olduğu düşünülmektedir. Hipokrat’ın bir eseri olan M.Ö. 400 tarihli “Kutsal Hastalık Üzerine” adlı kitap, epilepsinin sebebinin ruhsal ya da Tanrısal olduğu inancına karşı çıkıp patofizyolojik süreçlerle bağlantılı olduğunu ifade eden ilk yayın olarak gösterilmektedir (120). Hipokrat aynı zamanda kafa travmalarının sürekli kontralateralinde gelişen kasılmaları gözlemleyip travma ve nöbetler arasındaki ilişkiden bahsetmiş ve böylece

post-travmatik epilepsi konseptinin oluşmasında ilk adımları atmıştır (124). Orta çağ döneminde epilepsinin bir hastalık olup-olmadığı ikilemi devam etse de 18. yüzyıldan sonra bilimsel aydınlanma ile bu ikilem büyük oranda ortadan kalkmış ve hastalığın klinik olarak farklı tipleri olduğu ifade edilmiştir. Nihayet 19. yüzyılın sonlarına doğru EEG'nin keşfi, epilepsinin anlaşılmasında, tanı konulmasında ve sınıflandırılmasında çığır açmıştır.

2.2.2. Nöbet Tipleri ve Epilepsilerin Sınıflandırılması

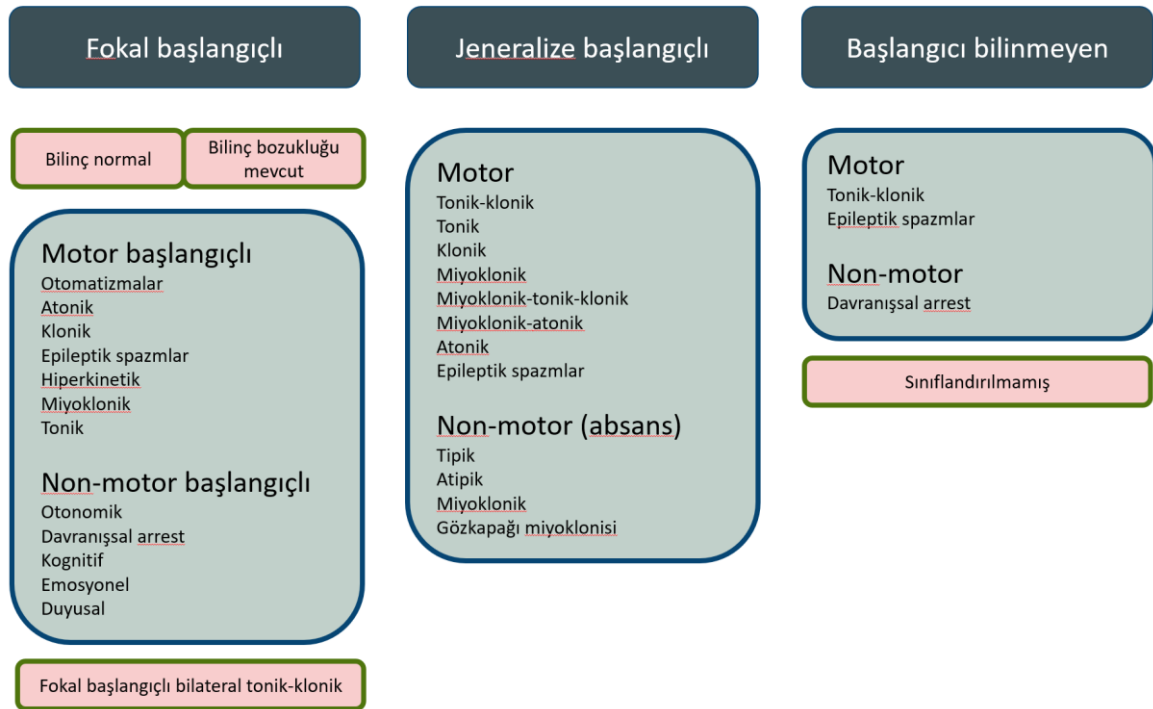
Epileptik nöbet, International League Against Epilepsy (ILAE) tarafından “beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal aktivite sonucu geçici semptom veya belirtilerin görülmesi” olarak tanımlanmaktadır (6). Epilepsi hastalığı ise beynin tekrarlayan nöbetlere eğilimi olduğunda ortaya çıkar. Epilepsi tanısı koymak için aşağıdaki durumlardan en az birine sahip olmak gerekmektedir: 1) En az 24 saat arayla 2 provoke edilmemiş ya da refleks nöbet geçirilmesi, 2) bir provoke edilmemiş ya da refleks nöbet geçirilmesi ve 10 yıl içinde tekrar nöbet geçirme olasılığının %60'tan fazla olması, 3) epileptik sendrom tanısı bulunması (6). Nöbet geçirme riskini belirleyen en önemli iki parametre EEG'deki epileptiform aktiviteler ve beyin görüntülemelerinde epileptojenik patolojilerin varlığına göre belirlenir (126).

Epilepsi ve nöbet tiplerinde ILAE'nin çok seviyeli sınıflandırılması bilim insanları tarafından kabul görmektedir. 1989'da yapılan sınıflama 2017 yılına kadar geçerliliğini koruduktan sonra güncellenerek şimdiki halini almıştır (127). Bu sınıflandırmaya göre bir hastanın önce nöbet tipi sınıflandırılır, daha sonra tanı alırsa epilepsi tipi sınıflandırılır ve son olarak da spesifik bir epilepsi sendromu varsa bu ortaya konmaya çalışılır. Bu aşamaların hepsinde farklı etiyolojiler göz önünde bulundurulur.

2.2.2.1. Nöbet tiplerinin sınıflandırılması

ILAE'ye göre nöbet tipleri basit ve genişletilmiş olarak 2 farklı şekilde sınıflandırılır. Basit sınıflama nöbetin başlangıç lokasyonuna ve bilinç kaybı olup-olmamasına göre incelenir. Başlangıcına göre nöbetler fokal, jeneralize ve bilinmeyen olarak 3'e ayrılır. Eski sınıflamada parsiyel olarak adlandırılan fokal nöbetler beynin belirli bir alanında sınırlı kalan nöbeti ifade ederken jeneralize nöbette beynin iki hemisferi de etkilenir. Fokal nöbetler eski sınıflamada bilinç kaybı yok ya da var şeklinde sırasıyla basit ve kompleks olarak nitelendirilirken yeni sınıflamada bilinçli ya da bozulmuş bilinç şeklinde tanımlanmaktadır. Fokal nöbetler kas

gruplarını etkileme durumuna göre motor ve non-motor olarak da 2'ye ayrılır. Yeni sınıflamada sonradan jeneralize olan fokal nöbetler için kullanılan sekonder jeneralize kavramının yerini “fokal başlangıçlı bilateral tonik-klonik” ifadesi almıştır. Jeneralize ve bilinmeyen başlangıçlı nöbetler motor ve non-motor olarak ikiye ayrılırken motor nöbetler de “tonik-klonik” ve “diğer” şeklinde 2 kategoride incelenir. Şekil 2.4'te görülen genişletilmiş sınıflamada ise motor nöbetler tonik, klonik, atonik, hiperkinetik, myoklonik ve otomatizma; non-motor nöbetler de otonomik, kognitif, emosyonel ve sensöriyel gibi farklı alt tiplere ayrılarak incelenir (127).



Şekil 2.4: Nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırılması (Fisher vd., 2017'den (127) değiştirilerek)

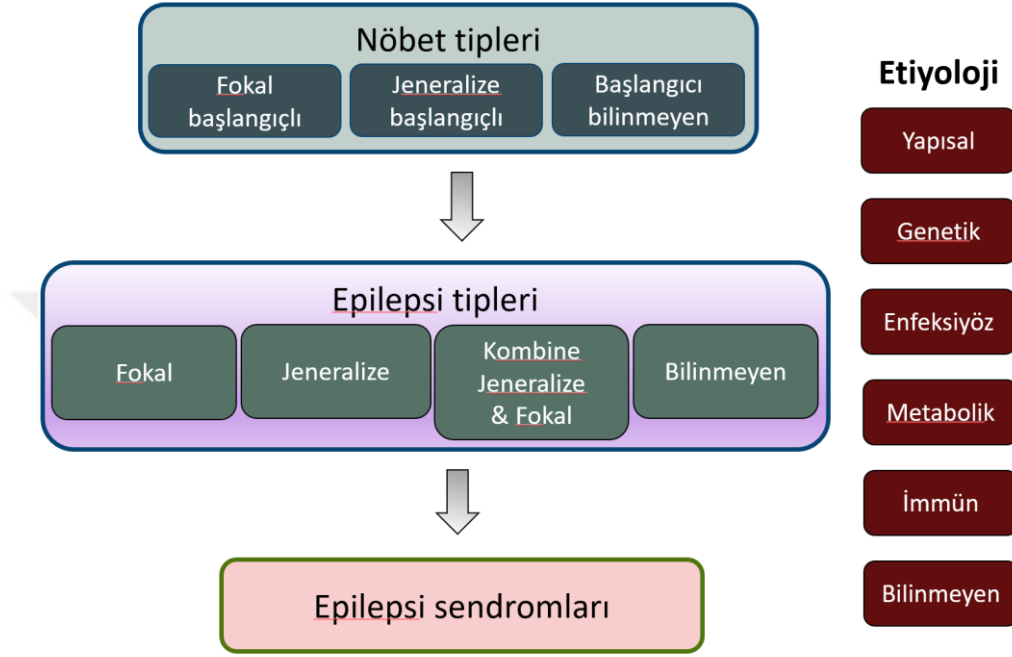
2.2.2.2. Epilepsilerin sınıflandırılması

ILAE 2017'ye göre epilepsiler etiyolojiden bağımsız olarak fokal, jeneralize, kombine jeneralize ve fokal, bilinmeyen şeklinde 4 kategoriye ayrılır (Şekil 2.5). Bir kişinin epilepsi tipini belirleyebilmek için önce nöbet sınıflamasını yapmak ve epilepsi tanısını kesinleştirmek gerekmektedir. Bazı hastalarda nöbet tipi belirlenmesine ve epilepsi tanısı konulmasına rağmen epilepsi tipi belirlenemeyebilir. Kombine jeneralize ve fokal epilepsi grubu, Lennox-gestaut sendromu (LGS) ve Dravet sendromu gibi hem jeneralize hem de fokal nöbetlerin görüldüğü

bazı epileptik sendromları kapsamaktadır. Epileptik sendromlar; tipik klinik, EEG ve görüntüleme bulguları ile tanımlanmış durumlar olup ILAE sınıflamasında ayrı bir kategori içine alınmamıştır.

Epilepsiler etiyolojilerine göre 6 kategoride incelenir: yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immün ve bilinmeyen (Şekil 2.5). Bir hastanın epilepsisi birden fazla etiyolojiye sahip olabilir. Yapısal etiyolojide epilepsi hastalarının görüntülemelerinde sıklıkla yapısal bozukluğa işaret eden bulgu mevcuttur. Ancak her yapısal bozukluğun epilepsiye sebep olduğu varsayılmayıp epilepsi ile ilişkili olma ihtimali EEG ve klinik semptomlar ile değerlendirilmelidir (128). Tübero skleroz hastalığı, epilepsi için hem yapısal hem genetik etiyoloji içerisinde yer alan önemli bir örnektir. Bu hastalıkta TSC1 ve TSC2 genlerindeki mutasyonların sebep olduğu kortikal tüber ismi verilen benign tümörler yapısal anomali oluşturup nöbetlere sebep olmaktadır. Genetik etiyolojide epilepsiye hastalık oluşturan bir gen varyantı (monogenik), çoklu gen etkileşimleri (poligenik) ya da anormal kopya sayısı sebep olur. Genetik etiyoloji için mutlaka genetik testlere ihtiyaç yoktur, aile öyküsü ve hastalığın hem klinik hem de tipik EEG bulguları yeterlidir. Ancak de novo mutasyonlar da sık gözlenmekte ve aile öyküsü önemli bir oranda bulunmamaktadır (129). Etiyoloji araştırmalarında diğer sebepler dışlanıp genetik testler yapıldığında bir çok kişide önemi bilinmeyen varyantlar tespit edilmektedir. Bu sebeple genetik etiyoloji kesin olarak ortaya konulamayabilir. Genetik patolojiler anatomik malformasyonlar oluşturabilir. Bu da hem genetik hem yapısal etiyoloji sınıfına girer. Genetik etiyolojiye örnek olarak sıklıkla potasyum kanallarını kodlayan KCNQ2 ve KCNQ3 genlerindeki mutasyonlar sebebiyle oluşan benign familial neonatal epilepsi, sıklıkla sodyum kanalı kodlayan SCN1A genindeki mutasyon sebebiyle oluşan Dravet sendromu, West sendromu ve Ohtahara sendromu verilebilir (130). Enfeksiyöz etiyolojide altta yatan bir enfeksiyonun nöbetlere sebep olduğunun gösterilmesi gerekir. Ancak akut enfeksiyonda nöbet geçiren kişide nöbet provoke edilerek gerçekleştiği için epilepsi tanısı konmaz ve epilepsi sınıflaması yapılmaz. Tüberküloz, HIV, malarya, toksoplazma, tenya solium, sitomegalovirüs ve prionlar gibi çok geniş perspektifteki enfeksiyöz ajanlar sıklıkla yapısal bozukluklarla beraber epilepsiye yol açabilir (128, 131). Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyöz etiyoloji daha sıktır ve en fazla önlenebilir risk faktörüdür (131). Enfeksiyöz etiyolojide olduğu gibi metabolik etiyolojide de geçici akut metabolik bozukluk sonucu gelişen nöbet, provoke edilmiş bir nöbettir ve epilepsi tanı kriterini karşılamaz. Metabolik hastalıkların çoğu genetik etiyoloji ile birliktedir. Non-ketotik hiperglisinemi, biyotinidaz ve glukoz taşıyıcısı tip 1 (GLUT-1) eksikliği metabolik etiyolojiye örnek verilebilir

(132). İmmün etiolojide otoimmün patolojiler sonucu epilepsi gelişmesi söz konusudur. Hem GAD65 enzimi gibi intrasellüler komponentlere; hem de NMDA, AMPA, GABA reseptörleri gibi yüzeyel yapılara karşı antikorlar gelişip otoimmün ensefalite ve epilepsiye sebep olabilir (133).



Şekil 2.5: Nöbet ve epilepsi tiplerinin sınıflandırılması (Scheffer vd., 2017'den (127) değiştirilerek)

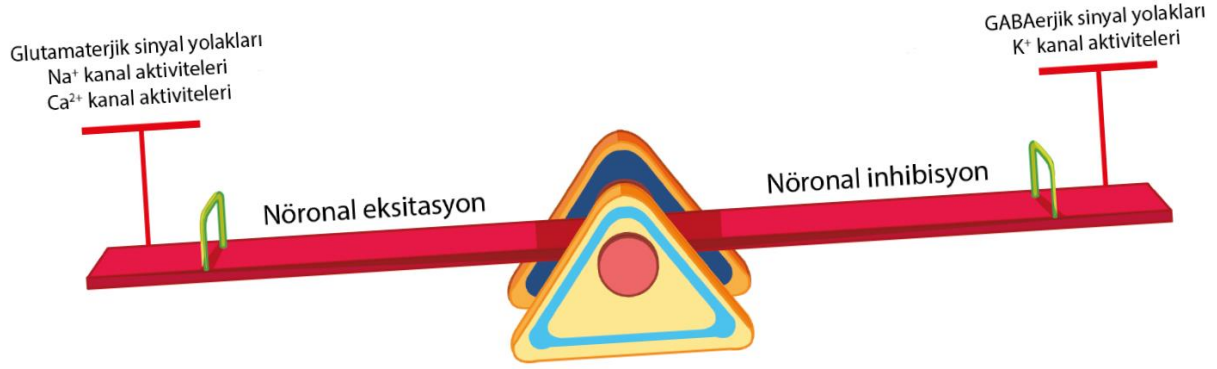
2.2.3. Epilepsinin Epidemiyolojisi

Epilepsi en sık görülen nörolojik hastalıklardan biri olarak her yaştan, sosyal sınıftan ve coğrafi konumdan insanı etkileyebilmektedir. Uluslararası çok sayıda çalışmayı inceleyen bir meta-analizde epilepsi için havuzlanmış insidans oranı 100 bin kişi-yılda 61,4 olarak tespit edilmiştir (134). İnsidans oranı düşük-orta gelirli ülkelerde 139 iken yüksek gelirli ülkelerde 48,9 olarak bulunmuştur. Düşük-orta gelirli ülkelerdeki yüksek insidans oranına sebep olarak perinatal risk faktörlerine daha fazla maruziyet, yüksek sıklıkta merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonları ve travmatik beyin hasarları gösterilmektedir (135). Yine aynı meta-analizde yaşam boyu total epilepsi prevalansı 7,6/1000 olarak bulunurken düşük-orta gelirli ülkelerde bu değer 8,75, yüksek gelirli ülkelerde 5,18 olarak tespit edilmiştir. Aktif epilepsi nokta prevalansının ise 6,38/1000 olduğu görülmüştür. Meta-analizde yer alan Türkiye'ye yönelik bir

incelemede aktif epilepsi periyodik prevalansı 5,9/1000 olarak bildirilmiştir. Hem insidans hem de prevalans erkeklerde kadınlara göre bir miktar yüksek bulunmuştur (sırasıyla prevalans 7,31-6,85, insidans 58,13-55,78). Epilepsi prevalansının 10-30 yaşları arasında en yüksek olduğu, insidansın 18 yaş ve altı popülasyonda 18 yaş üstüne göre daha fazla olduğu görülmektedir (134).

2.2.4. Epilepsinin Patofizyolojisi

Sağlıklı bir beynin provoke edilmeden tekrarlayan nöbetler geçirmesine sebep olan sürece epileptogenez ismi verilmektedir. Epileptogenez sürecinde beyindeki nöral elektriksel aktivitede eksitator ve inhibitör dengenin bozulduğu görülmektedir. Bu denge hem eksitator hem de inhibitör aktivitenin baskın hale gelmesi şeklinde değişebilir. Sonuçta aşırı, hipersenkron aktivite nörofizyolojik fonksiyonları bozar (136). Eksitator aktivitedeki artış veya inhibitör aktivitedeki azalmaya bağlı artmış hipereksitabilite (Şekil 2.6) epilepsiye daha sıklıkla yol açsa da (137), inhibitör aktivitedeki artış da absans nöbetler vb. içeren epilepsilere yol açabilir (138). Fokal epilepsilerde tek hemisferdeki limbik ya da neokortikal devreler; generalize epilepsilerde ise iki hemisferde de talamokortikal yapıları içine alan geniş bir nöral ağın etkilendiği görülmüştür (127). Pek çok patofizyolojik sürecin epileptogenezde rol oynadığı düşünülmekte ve bu yollar potansiyel tedaviler için araştırma konusu olmaktadır. Bu süreçlerden en çok gündemde olanlara örnek olarak voltaj ve ligand kapılı iyon kanallarındaki yapısal ve fonksiyonel değişimler, nörodejeneratif proteinlerin (tau, β -amiloid) birikimi, nörotransmitter salınımı (glutamat, GABA) ve hücre içi sinyal iletimi (mTOR) ile ilgili patolojiler verilebilir (139). Hem lokal hem de sistemik inflamasyon da epileptojenik sürece katkı sağlayabilir. Yaşamın herhangi bir döneminde meydana gelen travma, felç veya enfeksiyon gibi herhangi bir beyin hasarı, ileriye yönelik epilepsi gelişimi için bir risk faktörü olarak karşımıza çıkarak beyni etkileyen proinflamatuvar bir durumun epileptogenezde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (140). Proinflamatuvar moleküllerin artan hipereksitabilite üzerindeki etkisi muhtemelen glutamat ve GABA reseptörleri üzerinden non-transkripsiyonel olarak veya nöron/sinapslarla ilgili yapısal genlerin direkt transkripsiyonel aktivasyonunu içermektedir (140). Nöronlar dışında astrosit ve mikrogliaların da epileptogeneze katkıda bulunan inflamatuvar süreçlere yakından dahil olduğunu düşündüren önemli kanıtlar bulunmaktadır (141).



Şekil 2.6: Epilepsi patofizyolojisinde nöronal uyarılabilirlik dengesinin eksitasyon lehine bozulması

2.2.5. Epilepsinin Tanı ve Tedavisi

Epilepsi için altın standart bir tanı koyma yöntemi bulunmamaktadır. Her şeyden önce epilepsi şüphesi olan kişiden çok iyi bir anamnez alınmalı, detaylı fizik muayenesi yapılmalı ve nöbet geçirdiği düşünülen zaman dilimine tanık olmuş bir kişi varsa o kişiden dikkatlice bilgi alınmalıdır. Epilepsi nöbetleri hastadan hastaya çok değişiklik gösterebilir ve semptomları birçok hastalığı taklit edebilir. Tekrarlayan senkop geçiren birçok kişi sıklıkla yanlış epilepsi teşhisi ve gereksiz tedavi alabilmektedir. Bu senkoplar psikojenik ya da kardiyojenik olabilir. Nöbet şüphesi olan kişilere kardiyak patolojileri ayırt etmek için elektrokardiyogram uygulanmalıdır (142). Klinikte epilepsi tanısı için en sık başvuru yöntemlerinden biri EEG'dir. EEG hem epilepsi tanısında hem de epilepsi ve nöbet tiplerinin belirlenmesinde büyük önem taşımakla beraber spesifik epilepsi sendromlarına ait tanı koydurucu deşarj paternlerini de saptayabilmektedir (143). EEG'nin yanında hastada yapısal bir patoloji olup olmadığını görmek için beyne yönelik radyolojik görüntülemeler gerçekleştirilebilir. En sık kullanılan görüntüleme yöntemi manyetik rezonans (MR) görüntülemesidir. Beynin spesifik bölgelerindeki lezyonları vb. saptayıp gri-beyaz cevher ayrımını net bir şekilde yapabilir. Ancak bilgisayarlı tomografiye göre uygulaması daha zor ve maliyetlidir. Son zamanlarda epilepsinin tanısında kullanılmak üzere miRNA-146a ve miRNA-155 gibi epilepside artan ya da azalan bazı mikroRNA'lar (miRNA) gündeme gelmektedir (144). Henüz klinik uygulamada yer edinmemiş bu strateji, gelecekte hem tanısal olarak hem de yeni tedavi geliştirmeye yönelik potansiyel taşımaktadır.

Epilepsi tedavisinin temelini antiepileptik ilaçlar (AEİ) oluşturmaktadır (Tablo 2.1). Geleneksel terminolojinin devamı olarak antiepileptik teriminin kullanımı hala devam etse de

antinöbet terimi daha doğrudur; çünkü bu ilaçlar altta yatan hastalığı ya da epileptojenik süreci değil nöbetleri baskılar. AEİ tedavisinin amacı, mümkün olan en yüksek düzeyde nöbet kontrolü ve minimal ilaç toksisitesi ile en iyi yaşam kalitesini sağlamaktır. Epilepsi hastalarının yaklaşık üçte ikisi AEİ'ler ile kontrol altında tutulurken üçte biri ilaca dirençli epilepsi ile karşı karşıya kalır (145). Status epileptikus gibi acil tedavi gereken durumlar haricinde epilepsi tedavisine düşük dozda tek AEİ ile başlanır (146). Olumsuz etkileri en aza indirmek için doz kademeli olarak ihtiyaç olan etkili en düşük doza artırılır. Hastaların yaklaşık %50'sinde, çoğu düşük-orta doz AEİ ile nöbet kontrolü sağlanır (147). Başlangıç AEİ seçimi hastanın özelliklerine ve ilaca bağlı faktörlere göre değişebilir. Valproik asit gibi ilk nesil AEİ'ler birinci basamak tedavi olarak değerini korurken, yeni AEİ'ler ise tedavi yelpazesini genişletmiştir. İkinci nesil AEİ'ler terapötik olarak üstünlük sağlayamayabilir ancak daha az ilaç etkileşimi, daha az yan etki ve tolere edilebilirlik açısından avantajlar sunar.

Tablo 2.1: Antiepileptik ilaçlar (146)

Sınıflandırma		Etki spektrumu
Birinci kuşak antiepileptik ilaçlar	Valproik asit	Tüm nöbet tipleri
	Benzodiazepinler	Tüm nöbet tipleri
	Fenobarbital	Tüm nöbet tiplerinin büyük bir kısmı
	Primidon	Tüm nöbet tiplerinin büyük bir kısmı
	Karbamazepin	Fokal ve jeneralize tonik-klonik nöbetler
	Fenitoin	Fokal ve jeneralize tonik-klonik nöbetler
	Etosüksimid	Absans nöbetler
İkinci kuşak antiepileptik ilaçlar	Lamotrijin	Tüm nöbet tiplerinin büyük bir kısmı
	Levetirasetam	Tüm nöbet tiplerinin büyük bir kısmı
	Topiramat	Tüm nöbet tiplerinin büyük bir kısmı
	Zonisamid	Tüm nöbet tiplerinin büyük bir kısmı
	Okskarbazepin	Fokal ve jeneralize tonik-klonik nöbetler
	Perampanel	Fokal ve jeneralize tonik-klonik nöbetler
	Vigabatrin	Fokal nöbetler ve infantil spazm
	Rufinamid	Fokal nöbetler ve LGS ilişkili düşme atakları
	Felbamat	Fokal nöbetler ve LGS ilişkili düşme atakları
	Elisakarbazepin asetat	Fokal nöbetler
	Lakosamid	Fokal nöbetler
	Pregabalin	Fokal nöbetler
	Gabapentin	Fokal nöbetler
	Tiagabin	Fokal nöbetler
	Brivarasetam	Fokal nöbetler
	Everolimus	Tübero skleroz kompleks ile ilişkili nöbetler
	Stiripentol	Dravet sendromu ile ilişkili nöbetler

Maksimum optimal doza yükseltilmesine rağmen ilk AEİ ile nöbetler devam ediyorsa hastanın tedaviyi uygun şekilde kullandığından emin olunduktan sonra başka bir monoterapiye geçilebilir ancak nöbet kontrol oranı farklı bir ilaçla yaklaşık %15'tir (145). Politerapi genellikle ardışık iki veya üç monoterapinin başarısız olmasından sonra uygulanır (146). Prognozunun zor olacağı ön görülen bir epilepside veya spesifik bir epilepsi sendromunu tedavi etmek amacıyla erken politerapi düşünülebilir. İki AEİ ilaç başarısızlığından sonra epilepsi cerrahisinin uygunluğunun değerlendirilmesi önerilmektedir (148). Cerrahiye aday olmayan hastalar için alternatif AEİ'ler denenebilir. Epilepsi cerrahisi epileptik dokunun rezeksiyon, tahribat ya da daha az sıklıkla nöral bağlantılarının kesilmesini içerir ve ilaca dirençli epilepsisi olan seçilmiş hastalar için en etkili tedavidir (148). Hastanın cerrahiye uygunluğu EEG, fonksiyonel MR ve nörofizyolojik testler vb. içeren bir dizi araştırma ile belirlenir. Bu çalışmalar epileptojenik bölgeyi belirlemeyi ve minimal rezeksiyon ile post-operatif morbidite riskini azaltmayı amaçlar. Bazı hastalarda epileptojenik bölgenin lokalizasyonunu keskinleştirmek için operasyon sırasında elektrokortikografi uygulanır.

İlaca dirençli epilepsisi olan ve cerrahiye uygun olmayan hastalar için alternatif tedavi yöntemleri arasında vagal sinir stimülasyonu ve derin beyin stimülasyonu gibi bazı nöromodülatuar metotlar mevcuttur (149, 150). Bu tedaviler nöbet sıklığı ya da şiddetini azaltabilse de çoğu zaman tam nöbet kontrolü sağlamaz. Ketojenik diyet (KD), hem GLUT-1 eksikliği sendromu gibi bazı çocukluk çağı epilepsilerinin ilk basamak tedavisi hem de ilaca dirençli epilepsilerde uygulanabilen yüksek yağlı, yeterli düzeyde proteinli ve düşük karbonhidratlı önemli bir diyetdir (151). Epilepsi ile ilişkili çok sayıda gen keşfi ve hedefe yönelik ilaç geliştirme çalışmalarına bağlı olarak kişiselleştirilmiş tıp da umut vericidir. Piridoksin ile tedavi edilebilen ALDH7A1 resesif mutasyonlarının neden olduğu piridoksine bağımlı epilepsi, bunun bir örneği olarak verilebilir. Epilepsinin moleküler nedenlerinin belirlenmesi aynı zamanda AEİ'nin istenmeyen etkilerinin önlenmesine veya en aza indirilmesine de olanak tanır. Örneğin SCN1A ile ilişkili epilepsilerde karbamazepin gibi sodyum kanalı blokörleri nöbetleri şiddetlendirebilir (152).

2.2.6. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epileptogenez ve nöbet oluşumunun altında yatan karmaşık mekanizmalar insanlarla yapılan klinik çalışmalarda tam olarak anlaşılamamaktadır. Bu nedenle epilepsi araştırmalarında uygun deneysel modellerin kullanılması önem arz etmektedir. Epilepsiye

ilişkin hayvan modelleri, AEİ ve diğer yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır. MSS'ye sahip neredeyse tüm hayvanlar epilepsi nöbeti geçirebilir ki bu da kedi ve köpeklerden rodentlere, zebra balığından meyve sineğine kadar çok çeşitli hayvan türünde epilepsi çalışmaları yapılabilmesine olanak sağlamıştır (153).

2.2.6.1. Genetik modeller

Genetik olarak modellenen epilepsilerin büyük bir çoğunluğunu insanlarda belirli genlerde oluşan delesyon, over-ekspresyon ya da duplikasyon vb. gibi patolojilerin epilepsiye yol açtığı bilinen sendromlar oluşturmaktadır. Genellikle aynı patoloji, eğer aynı gen veya homolog gene deney hayvanı da sahipse moleküler yöntemler kullanılarak oluşturulmaya çalışılır ve deney hayvanının benzer fenotipe ve semptomlara sahip olması beklenir. Rett sendromu ve LGS, Metil-CpG-bağlayıcı protein 2 (MECP2) fonksiyon kaybı-kazanımı ya da duplikasyonu olan hastalarda görülen epileptik sendromlardır (154). Fare ve sıçanlarda MECP2 aşırı ekspresyonu ya da duplikasyonu ile oluşturulan deneysel modellerde bahsedilen sendromlara benzer şekilde tonik-klonik nöbetler gelişir (155). MECP2 fonksiyon kaybı oluşturulan modellerde absans epilepsiye benzer şekilde kortikal deşarjlar meydana gelir (156). Dravet sendromu nadir görülen bir epilepsi sendrom olup voltaj kapılı sodyum kanalı alfa alt birimini kodlayan SCN1A genindeki çoğunlukla fonksiyon kaybı ile oluşan patolojiden kaynaklanmaktadır. İlaça dirençli febril jeneralize tonik-klonik, fokal, absans ve status epileptikus gibi birçok nöbet fenotipi ile presente olabilir (157). Fare, zebra balığı ve meyve sineğinde SCN1A'nın karşılığı olan genlerde oluşturulan mutasyonlar ile Dravet sendromu modellenmiştir (158). Yüksek şiddette akustik stimülasyon ile tetiklenen odyojenik nöbetlerin çoğu da genetik olarak odyojenik epilepsiye yatkın deneklerde görülmektedir. İlk odyojenik nöbetler 1920'lerin başında Pavlov'un laboratuvarında gözlemlenmiş (159) ve zamanla çeşitli odyojenik suşlar ortaya çıkmıştır. GEPR (genetik epilepsiye eğilimli sıçan), P77PMC sıçanları, WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo/Rijwijk) sıçanları ve WAR (Wistar Odyojenik Sıçan) bu suşlara örnek olarak verilebilir (160, 161, 162). Odyojenik nöbetlerin davranışsal özellikleri suşa özgün görünmektedir. WAG/Rij suşu odyojenik nöbet modeli olarak kullanılabilse de daha sıklıkla absans epilepsinin genetik modeli olarak bilinmektedir (163). Bu nedenle WAG/Rij sıçanlar, aynı denek üzerinde hem konvülsif hem de konvülsif olmayan nöbetleri incelemek için önemli deneklerdir. Aynı zamanda WAG/Rij sıçanlarda görülen depresif semptomlar, epilepsi ile depresyon arasındaki komorbiditeyi incelemek için bilim insanlarına fırsat sunmaktadır (164). Absans epilepsi için diğer bir genetik model GAERS (Strasbourg genetik

absans epilepsi sıçanları) modelidir. Poligenik olmalarından dolayı GAERS ve WAG/Rij'in insan absans epilepsilerini daha iyi modellediği düşünülmektedir (165). Genellikle farelerde çalışılan ve voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarındaki monogenik mutasyonlar ile oluşturulan absans modellerine benzer şekilde hem GAERS hem de WAG/Rij sıçanların özellikle T tipi Ca^{2+} kanallarında yüksek ekspresyon ve aktivite tespit edilmiştir (166). Ancak GAERS ve WAG/Rij sıçanlarındaki mutasyonlar çok daha çeşitli, yaş ile değişken ve anatomik bölgeye özgüdür. Bunlar arasında nükleus akkumbens ve striatumdaki D_1 ve D_2 reseptör düzeylerinde, neokortikal glia ve nöronlar üzerindeki glutamat taşıyıcılarının sayısında azalma ve talamokortikal hücrelerdeki tonik GABAerjik uyarıda artma yer alır (138, 166).

2.2.6.2. Kimyasal modeller

Uygulandığında nöbetlere yol açan kimyasallara kemokonvülsanlar ismi verilir. Kemirgenlerde birçok farklı kemokonvülsan kullanılarak spontan rekürren nöbetler oluşturulabilmektedir. Bazı kemokonvülsanlar ise rekürren nöbetlere sebep olmayıp sadece akut nöbet modellemelerinde kullanılır. Kainik asit, bir L-glutamat analogu olarak temporal lob epilepsisini (TLE) modellemek için kullanılan kemokonvülsanlardan biridir (167). Sistemik veya intraserebral uygulanması nöronal depolarizasyona ve nöbetlere neden olur. Uygulanan deneklerde genellikle sekonder jeneralize karakterde tekrarlayan nöbetler görülür ve büyük oranda hipokampus ile sınırlı skleroza yol açar (168). Pilokarpin bir muskarinik asetilkolin reseptör agonistidir. Sistemik veya intraserebral enjeksiyonu, şiddeti giderek artan ve limbik status epileptikusa (SE) yol açan nöbetler oluşturur (169, 170). Hem kainik asit hem de pilokarpin SE modellerinde kullanılan önemli kemokonvülsanlardır. Kainik aside göre pilokarpin daha hızlı SE oluşturmaktadır (170). Pilokarpin ile oluşturulan SE'yi izleyen bir latent periyot sonrası kronik dönemde spontan rekürren nöbetler ortaya çıkar (171). Bu rekürren nöbetler, insandaki kompleks parsiyel nöbetlere benzemekte ve insanlarda bu tip nöbetlere karşı etkili olan antiepileptik ilaçlar pilokarpin modelinde de etkili olmaktadır (172). Pilokarpin, kainik asitten farklı olarak hipokampus dışında neokortekste de yapısal hasar oluşturabilir (167). M_1 tipteki muskarinik reseptörü bulunmayan ve pilokarpin öncesi atropin uygulanan deneklerde nöbet oluşmazken, nöbetler başladıktan sonra atropin uygulaması etkisiz görünmektedir (171). PTZ bir GABA_A reseptör antagonistidir (174). Bu etkisi ile PTZ, inhibitör sinapsların fonksiyonunu baskılayarak eksitator nöronal aktivitenin artmasına neden olur. İntraperitoneal PTZ enjeksiyonu yüksek dozda akut ve şiddetli nöbetlere neden olurken (175),

tekrarlayan PTZ enjeksiyonları konvülsif nöbet geçirme eşiğini giderek azaltır ve sonuçta hayvanlarda spontan nöbetler ortaya çıkmaya başlar (176). PTZ ile oluşturulan nöbetler genellikle hızlı miyoklonik jerkler ile başlayıp devam ederse jeneralize tonik-klonik hale geçer (177). PTZ ile kimyasal kindling ismi verilen subkonvülsif dozun ardışık enjeksiyonları ile ciddi tonik-klonik nöbetlerle karakterize kronik epilepsi modeli oluşturulabilir (175). Düşük doz PTZ uygulaması sonrası nöbet latensi ve süresi de enjeksiyonlar devam ettikçe değişir. Nöbet latensi genellikle giderek kısalırken nöbet süresi uzar (177). PTZ enjeksiyonundan sonra normale dönme genellikle 30 dakika gibi kısa bir süre içinde gerçekleşir (166). Bikukulin de PTZ gibi GABA_A reseptör antagonizması ile konvülsan etkiler oluşturur (179). GABA_A reseptörüne etki ederek epileptik deşarjlara neden olan diğer iki önemli konvülsan pikrotoksin ve penisilindir (177, 180). Topikal ya da intraserebral penisilin uygulaması ile oluşturulan epileptiform aktivite, ilaç etkisi çalışmalarında kullanılmaktadır (181). *Anamirta cocculus* isimli bir sarmaşığın ürettiği, diğer ismi “cocculin” olan pikrotoksin önemli bir bitki toksinidir ve konvülsif nöbetlere, emezise ve hipertansiyona yol açar (182). Striknin genellikle rodentisit olarak kullanılan bir glisin antagonisti olup bir yandan konvülsiyonlara yol açarken diğer yandan respiratuvar fonksiyonları bozmaktadır (182). Bu kimyasallar dışında N-metil-D,L-aspartat ve tetanoz toksini gibi birçok farklı bileşik ile nöbet modelleri oluşturulabilmektedir (168).

2.2.6.3. Elektriksel stimülasyon ile oluşturulan modeller

Elektriksel stimülasyon ile oluşturulan hayvan nöbet modelleri, düşük mortalite ve yüksek tekrarlanabilirlik açısından avantajlıdır. Elektriksel stimülasyon metotları başlıca 3 başlıkta incelenebilir: 1) Elektroşok aracılı nöbetler, 2) artdeşarjlar ve 3) kindling. Elektroşok aracılı nöbetler (EAN), stereotaksik elektrot implantı gerektirmeden tek seferde tüm beyin stimülasyonu şeklinde uygulanmaktadır. Maksimal EAN ya da İngilizce kısaltması ile “MES” adı verilen model, antiepileptik ilaç taraması ve diğer çeşitli epilepsi çalışmalarında daha fazla kullanılan elektroşok modelidir. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerle karakterize maksimal EAN oluşturmak için genellikle auriküler stimülasyonla arka beyinde epileptiform aktivite meydana getirilir. (183). Artdeşarjlar (AD, afterdischarge), serebral korteksin fokal elektriksel stimülasyonu sonrası gözlenen lokal epileptiform aktivitelerdir ve stimülasyon sonrası en az 2 saniye süren 1 Hz veya üzerinde ritmik stereotipik yavaş dalga, tekrarlayan diken veya karışık yavaş/keskin dalga formları olarak tanımlanırlar (184). AD oluşturmak için limbik yapılar

stimüle edildiğinde kompleks parsiyel, sensörimotor korteks stimüle edildiğinde ise miyoklonik nöbetlere benzeyen davranışsal paternler ortaya çıkar (168). Bu sebeple AD modelleri, fokal nöbetlerin elektrofizyolojik ve davranışsal durumlarını araştırmak için faydalıdır. Elektrikle indüklenen AD için en yaygın hedeflerden biri de hipokampustur. Hipokampal AD, stimülasyon sonrası birinci deşarj, latent periyot ve rekürren deşarj şeklinde tanımlanan 3 faz ve deşarjlarla korele olarak ortaya çıkan “wet dog shake” ismi verilen ıslak köpek benzeri sallanma hareketi ile karakterizedir (185). Wet dog shake davranışı hipokampal AD’ye spesifik bir davranış olmayıp diğer nöbet modellerinde de sıklıkla gözlenebilir. Kindling, şu ana kadarki mevcut elektriksel stimülasyonun en çok çalışılan modelidir (168). PTZ ile oluşturulan kimyasal kindlinge benzer şekilde tekrarlayan elektriksel uyarı ile oluşturulur. Fokal elektriksel stimülasyonun, yani belirli bir beyin bölgesinde tekrarlanan AD indüksiyonunun nöbet yatkınlığında ilerleyici bir artışa yol açması şeklinde tanımlanır ve bazen tutuşma olarak da ifade edilir. İlk uyarı, süresi oldukça kısa ve çok az epileptik davranışın eşlik ettiği bir nöbete neden olurken tekrarlanan uyarı ile nöbet süreleri uzar ve davranışlar yoğunlaşır (186). Epileptik deşarjlar, zamanla uyarılan fokal bölgeden yayılarak jeneralize konvülsiyonları tetikler (187). Nöbet yatkınlığının giderek artması sonucunda kronik dönemde spontan nöbetler ortaya çıkmaya başlar ve kalıcı bir epileptik durum oluşur (186). Bu da kindling modelini kronik epilepsi ve epileptogenez araştırmaları için avantajlı kılar. Ancak kindling çalışmaları zaman alıcı, iş yükü fazla ve çalışmalarda elektrot implantlarının zarar görmesi vb. açısından teknik problemler sıklıkla yaşanır. Elektriksel kindling araştırmaları, uyarı bölgeleri arasındaki bazı farklılıklarla birlikte limbik sistem alanlarının nöbet indüksiyonu açısından oldukça duyarlı olduğunu ve bu alanlarda indüklenen nöbetlerin hızla diğer bölgelere yayıldığını göstermiştir (188).

2.2.6.4. Post-travmatik epilepsi modelleri

Travma sonrasında spontan nöbetler aylar veya yıllar sonra ortaya çıkabilmektedir. Bu sebeple travma sonrasında her hastada meydana gelmeyen bu epileptojenik süreci klinikte incelemek oldukça zordur. Benzer durum deneklere uygulanan travmatik beyin hasarı sonrası için de geçerlidir ancak yine de insanlara göre daha kısa sürede nöbet tespiti yapılabilir (1). DeneySEL PTE modelleri, daha önce bahsedilen TBH’ye yönelik deneySEL model metodlarını büyük oranda kullanır ancak bazı önemli farklılıkları da içinde bulundurur (Tablo 2.2). PTE’nin tanımına göre travma sonrası epilepsi diyebilmek için beyin hasarından sonra en az iki nöbetin

meydana gelmesi gerekmektedir. Ancak her TBH'den sonra nöbet oluşmayabilir. Nöbet ve epilepsi gelişimi travmanın şiddetine göre değişebilmektedir. Örneğin, 3,75-4 atm basınçta SPH ile TBH oluşturulan ve travma sonrası 2. haftadan 16. haftaya kadar sürekli video-elektrokortikogram ile deneklerin takip edildiği bir çalışmada %92 oranında epilepsi geliştiği (189); 2-3.4 atm basınç ile SPH oluşturulan ve 2. haftadan 12. aya kadar takip edilen deneklerde epilepsi gelişmediği bildirilmiştir (190).

Hem rodentlerde hem de domuz, kedi ve köpek gibi büyük hayvanlarda PTE modellenenebilir. Büyük hayvanlar ile yapılan çalışmalar hem daha maliyetli hem de manipülasyon ve diğer teknik uygulamalar açısından rodentlere göre oldukça zordur. Rodent PTE modelleri ise maliyeti az, tekrarlanabilirliği yüksek ve kontrolü göreceli olarak kolay modellerdir. TBH oluşturmak için kullanılan SPH, KKD ve ağırlık düşürme modelleri aynı zamanda PTE indüklemek için de en sık kullanılan yöntemlerdir (191). Bu modeller dışında patlama hasarı, kortikal kesi ve penetran hasar gibi yaygın olarak kullanılmayan modeller de mevcuttur. Çok sayıda alıntı yapılmış bir SPH ile oluşturulan PTE çalışmasında (192), devamlı video-EEG ile izlenen sıçanların 12 ayda yaklaşık %50'sinde PTE geliştiği ancak nöbet sıklığının oldukça düşük olduğu ($0,3 \pm 0,2$ nöbet/gün/hayvan) tespit edilmiştir. SPH çalışmalarına benzer şekilde hasar derecesine bağlı olarak KKD sonrası nöbet insidansı %10-%85 gibi çok değişken düzeylerde olabilmektedir (193).

Ağırlık düşürme yöntemi, görece olarak oldukça kolay uygulanabilir bir metot olsa da travma sonrası spontan nöbetlerin ortaya çıkması için yüksek gramajlı bir kütle ile ağır TBH uygulaması gerekebilmekte ve mortalite oranı yüksek olmaktadır. Araştırmacılar, hem nöbet gelişimi ve tespitindeki zorluklar hem de mortalite gibi problemleri gidermek için travma sonrası nöbet gelişimini kolaylaştırmak amacıyla elektriksel ya da kimyasal stimülasyon gibi yöntemlere başvurabilmektedir. Farelerle yapılan bir çalışmada travma sonrası elektroşok uygulanarak nöbet oluşturulmuş ve travmaya maruz kalan deneklerde artan nöbet eğilimi gösterilmiştir (194). Sıçanlarla yapılan başka bir PTE çalışmasında ağırlık düşürme metodu ile hafif TBH oluşturulan deneklere subkonvülsan dozda PTZ uygulaması, nöbet geçirme eşiğini düşürmüş ve nöbet insidansı artmıştır (195). Bu yöntemlerle yapılan PTE modellemelerinde spontan nöbet oluşumu beklenmese de nöbet eşiğinin travmaya bağlı olarak düştüğü gösterilmekte ve aynı zamanda ağır TBH oluşturma ihtiyacı ortadan kalkıp düşük mortalite oranıyla hızlı sonuçlar alınabilmektedir.

Tablo 2.2: Rodent post-travmatik epilepsi modelleri (196, 197)

Model	Nöbet aktivitesinin gelişimi	TBH komorbiditesi	Avantajlar	Dezavantajlar
SPH	Akut/Kronik	Motor defisit, öğrenme ve hafıza bozuklukları	Diffüz beyaz cevher hasarı, fokal kontüzyon, serebral ödem ve progresif gri cevher hasarını histopatolojik olarak insana benzeyecek şekilde simüle eder	Nöbet yatkınlığının artması için uzun süreç gerekli
KKD	Akut	Depresyon benzeri davranışlar, post-travmatik stres bozuklukları	Kortikal doku hasarı, hematom, aksonal yaralanma ve KBB hasarını insan TBH patolojisine benzer şekilde modeller	Travma için cihaz ihtiyacı
Kortikal kesi	Akut	Motor defisit	İn-vitro neokortikal çalışmalar için elverişli	Uzun dönem nöbet aktivitesine yönelik yeterli kanıt yok
İntrakortikal demir enjeksiyonu	Akut/Kronik	Tanımlanmamış	Basit ve tekrarlanabilir model	Sonuçlar ve yan etkiler bilinmemekte
Ağırlık düşürme	Akut/Kronik	Anksiyete, depresyon benzeri davranışlar, kognitif bozukluklar	Basit ve maliyeti düşük bir model olup geniş yelpazede travma hasarı oluşturulabilir	Tekrarlanabilirlik düşük, ağırlığa bağlı olarak mortalite yüksek olabilir, spontan nöbet gelişim oranı değişken ve fokal hasar paterni daha az
Penetran hasar	Akut/Kronik	Anksiyete, hafıza bozuklukları	Bakır kullanılarak oluşturulan modelde nöbet yatkınlığı önemli oranda artar ancak mortalite yükselir	Spontan nöbet gelişim oranı düşük

2.3. MİKROBİYOTA

Bakteriler, mayalar ve virüsler de dahil olmak üzere çok sayıda mikroorganizmanın insan vücudunun bağırsak, deri ve ağız içi gibi çeşitli bölgelerinde bir arada bulunduğu ve konak ile birlikte yaşadığı 100 yılı aşkın bir zamandan beri bilinmektedir (198). Kommensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların oluşturduğu ekolojik komüniteler şeklinde tanımlanan mikrobiyota, vücudumuzdaki toplam hücre sayısı düşünüldüğünde %90 gibi bir oranla büyük yer kaplamakta ve tüm insan genomundan 150 kat fazla genetik bilgi taşımaktadır (199; 200). Mikrobiyota, belirli bir ortamda bulunan canlı mikroorganizmaları ifade ederken, mikrobiyom ise daha geniş bir kavram olarak mikrobiyal yapısal birimler, metabolitler vb. dahil

olmak üzere ortamdaki mikroorganizmaların tüm genomlarını kapsar (201). İnsanlarda mikrobiyotayı oluşturan başlıca mikroorganizmalar bakterilerdir. Sağlıklı yetişkin insanların her biri, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* baskın filumlar olmak üzere 1000'den fazla bakteri türünü vücutlarında barındırmaktadır (202). Kalıtsal genom, canlının ömrü boyunca büyük oranda sabit kalırken mikrobiyom son derece çeşitli, dinamik, çevresel faktörlere duyarlı ve terapötik hedef olma potansiyeli yüksektir (203). Genetik sekanslama teknolojileri ve mikrobiyoma yönelik biyoinformatik teknikleri giderek gelişip daha ucuz ve daha kolay yapılabilir hale geldikçe mikrobiyotayı daha iyi anlamak ve geniş çaplı araştırmalarla farklı kitlelerin farklı mikrobiyom özelliklerini ortaya koymak mümkün hale gelecektir.

2.3.1. Bağırsak Mikrobiyotası

Mikrobiyotanın bileşimi vücudumuzda bölgeden bölgeye değişmektedir. Bağırsak mikrobiyotası genellikle en büyük ve sağlığımızı korumada en önemli mikrobiyota olarak kabul edilir (204). Bağırsak mikrobiyotası gıdaların fermentasyonu, immün modülasyon ve vitamin üretimi gibi işlevleriyle birçok fizyolojik sürece katkı sunar (205). Fekal örnekler, elde edilmesi kolay olup, büyük miktarda biyokütle içerdiğinden bağırsak mikrobiyota analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak fekal örnekler teorik olarak gastrointestinal (Gİ) kanal boyunca toplanan bakterilerin bileşimini içerdiğinden spesifik mikrobiyal lokalizasyonun analizi pek mümkün olmamaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve işlevindeki değişiklikler bağırsak geçirgenliği, sindirim ve metabolizmanın yanı sıra immün yanıtları da değiştirebilir. Bağırsak mikrobiyota dengesinin değişmesi sonucu ortaya çıkabilecek proinflatuar yanıtın gastrointestinal hastalıklardan otoimmün ve nöropsikiyatrik hastalıklara kadar pek çok patolojide rol oynadığı düşünülmektedir (198, 206). Bu nedenle bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve fonksiyonlarını modüle etmeye yönelik probiyotik, prebiyotik ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) gibi tekniklerin bu hastalıklarda tedavi edici etkisi gündeme gelmektedir.

2.3.1.1. Bağırsak mikrobiyota kompozisyonu

İnsan Gİ sistemi, yaklaşık 100 trilyon mikroorganizma içermektedir (198, 207). Bağırsak mikrobiyota kompozisyonu kişiden kişiye büyük oranda değişebilir. Yaş, diyet, antibiyotik ve diğer mikrobiyotayı etkileyebilecek ilaçların kullanımı, egzersiz, evcil hayvan bakımı gibi yaşam şekli farklılıkları dahil olmak üzere birçok faktör bağırsak mikrobiyotasını

etkiler (208). Bağırsak mikrobiyotasının çok büyük bir kısmını başta *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* olmak üzere *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia* dahil 6 bakteri filumu oluşturur (198). Bağırsaktaki bakterilerin çoğu anaeroptur (206). Filumların içinde en çok saptanan bakteri cinsleri en başta *Bacteroides* olmak üzere *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* ve *Peptostreptococcus*'tur (209). Bağırsak bakterileri, gastrointestinal kanalın farklı kısımlarında farklılık gösterebilir. Örneğin *Proteobacteria* filumundan *Enterobacteriaceae* ince bağırsakta yoğun olarak bulunurken *Bacteroidetes* filumundan *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* ve *Rikenellaceae* sıklıkla kolonda bulunur (210). Bağırsak mikrobiyotasında en çok tespit edilmiş olan mantarlar *Candida*, *Saccharomyces*, *Malassezia* ve *Cladosporium*'dur (211). Bakteri ve mantarların yanı sıra virüs, faj ve arkeler de mikrobiyotada bulunur (202). Sağlıklı bir bebeğin doğmadan önce steril olduğu ve intestinal mikrobiyotasının bulunmadığı kabul edilse de (212), bazı çalışmalarda doğum öncesi kolonizasyon tespit edilmiştir (213) ve mikrobiyotanın tam olarak ne zaman oluşmaya başladığı net değildir. Yaşamın erken dönemlerindeki bağırsak mikrobiyotası incelendiğinde doğum şeklinin bakteriyel çeşitliliği önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Vajinal yolla doğan bebekler annelerinin vajinasındakilere benzer mikrobiyota (ör: *Lactobacillus* ve *Prevotella*) kazanırken sezaryenle doğan bebekler ciltle ilişkili olanlara benzer mikrobiyota (ör: *Propionibacterium*, *Staphylococcus* ve *Corynebacterium*) oluşturmuştur. (214). Üç yaşına kadar çocukların bağırsak mikrobiyotası yetişkinlerle oldukça benzer hale gelir (215). İleri yaşlarda diyet gibi çevresel faktörler ve immün sistemdeki değişiklikler sebebiyle *Bifidobacterium* miktarında azalma, *Clostridium* ve proteobakterilerde ise artış gözlenmekte ve bu durum yaşlılardaki artmış inflamasyon ile ilişkilendirilmektedir (216).

2.3.1.2. Bağırsak mikrobiyotasının fonksiyonel özellikleri

Mikrobiyota çeşitli fonksiyonları ile fizyolojik süreçleri etkileyebilir. Bağırsağımızda bulunan mikroorganizmalar, gıdalardan enerji ve besin ekstraksiyonu sağlayan benzersiz enzimler bulundurur ve bizim hücrelerimizde olmayan biyokimyasal yolları özel metabolik genleri ile işlevsel hale getirir. Örneğin, ksiloglukanları sindirme yeteneğinin *Bacteroidetes* filumunun az sayıda üyesinde bulunduğu ve insanların büyük çoğunluğunda ksiloglukanları sindirme yeteneğine sahip bu türlerden en az birinin mikrobiyomlarında mevcut olduğu gösterilmiştir (217). Çeşitli vitamin, amino asit ve lipid gibi biyoaktif moleküllerin biyosentezi

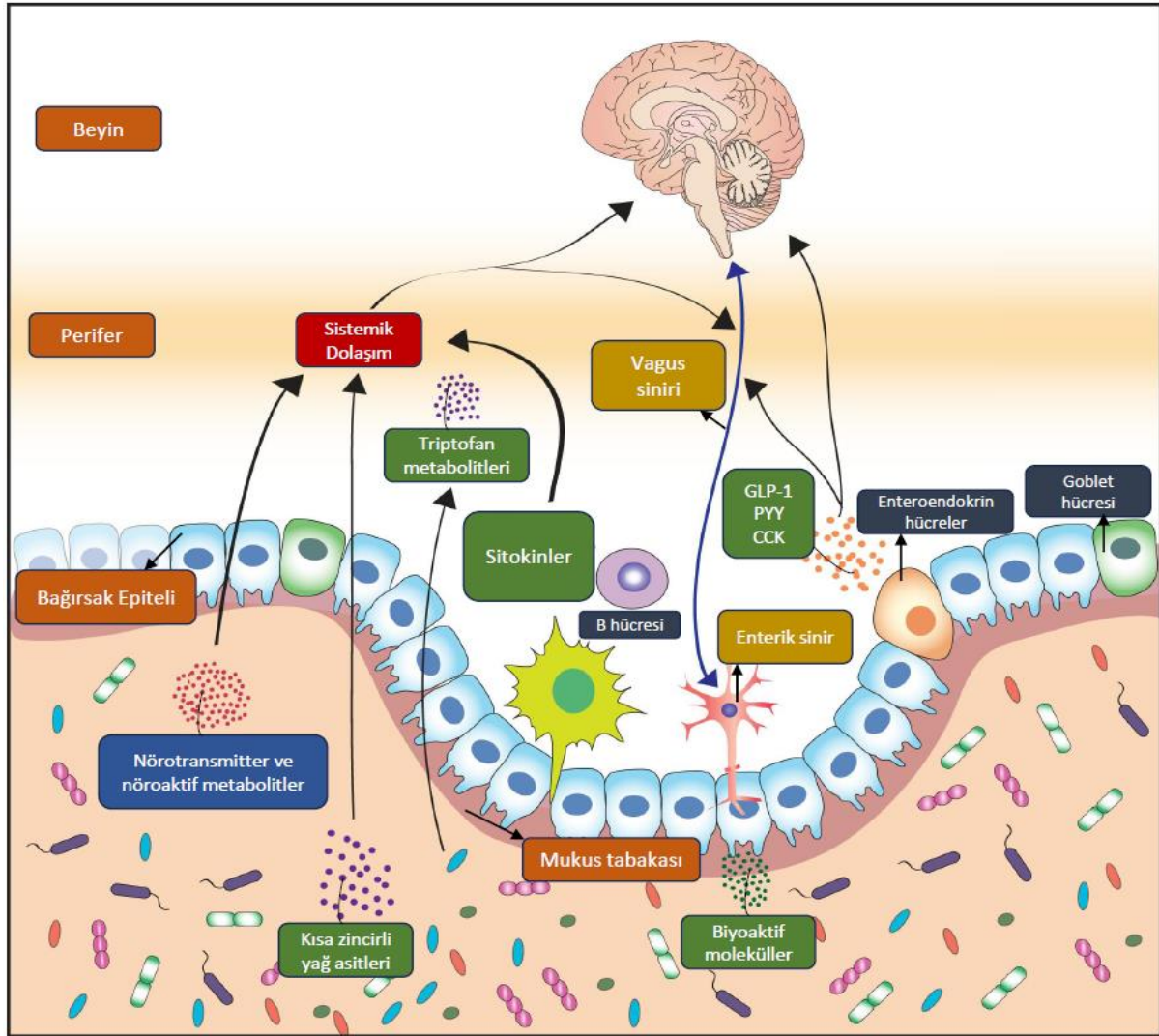
de bağırsak mikrobiyotasına bağımlıdır (218). Biotin, tiamin, kobalamin, riboflavin, pantotenik asit ve K vitamini gibi çok sayıda vitaminin sentezine mikrobiyota katkıda bulunmaktadır (219). Bu bakteriler aynı zamanda selüloz, pektin, oligosakkarit ve lignin gibi diğer sindirilmeyen karbonhidratları vücudumuzda kullanılan asetat, propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerine metabolize eder (220). Bu kısa zincirli yağ asitlerinin mikrobiyota ile birlikte immün sistem hücrelerinin regülasyonunda görev alıp aynı zamanda inflamasyonu ve kanser gelişimini baskılayıp anti-kanser ilaçların etkinliğini artırabileceğine dair kanıtlar mevcuttur (207, 221). İnsan mikrobiyotası, immün yanıtı olumlu yönde düzenleyerek konakçıyı dış patojenlerden korur (222). Özellikle intestinal mukozadaki T hücre yanıtının mikrobiyota aracılığı ile regüle edildiğini gösteren çok sayıda çalışma vardır (223, 224). Mikrobiyota, beyin gelişimi ve davranışları da etkilemektedir (225). Bağırsak mikrobiyotasının merkezi ve periferik sinir sistemlerini etkileyebilecek GABA ve serotonin gibi bazı nörokimyasalları sentezlediği ya da hali hazırda mevcut olanları kullandığı da bilinmektedir (226).

2.3.2. Beyin-Bağırsak Aksı

1800'lü yıllarda yaşadığı bir kazadan sonra ameliyat edilen ve gastroenteroloji literatüründe önemli bir yer edinecek olan Alexis St. Martin, cerrahi sonrasında bağırsaklarından dışarıya açılan bir fistül ile yaşıyordu. Cerrah, iyileşme döneminde sıklıkla St. Martin'den örnekler toplayıp sindirim fonksiyonlarını inceliyordu. Bu incelemeleri sırasında kazazedenin yara yerinden uzak bölgelerde hissettiği ağrı ve huzursuzluğun yanında ajite olduğu dönemlerde sindirim işlevinin önemli ölçüde değiştiği doktorun notları arasında yer almaktaydı ki bu durum beyin ve bağırsak arasında bir bağlantı olduğunu gösteren ilk bulgu niteliğindedir (227). Beyin-bağırsak aksı, bağırsak ve mikrobiyotanın beyinle iletişimini ifade eden çift yönlü bir eksen olarak tanımlanmaktadır (228). Bu eksenin, Gİ sistem ve MSS arasında fonksiyonel bir bağlantı oluşturduğu düşünülmektedir. Bu fonksiyonel iletişimi sağlayan mekanizmaların araştırılması oldukça güncel bir konu olup farklı yollar tespit edilmiş ve hala edilmeye de devam etmektedir (Şekil 2.7). Beyin-bağırsak aksının oluşmasında ve devam eden biyolojik süreçlerde, Gİ sistem ve MSS arasındaki bağlantıyı doğrudan sağlayan vagus siniri ve otonom sinir sistemi (OSS) haricinde enterik sinir sistemi (ESS), bağışıklık sistemi ve nöroendokrin sistem gibi çok sayıda sistem görev almaktadır (229). Gİ fonksiyonlarını kontrol eden OSS ve ESS, bağırsak ve beyin arasındaki iletişimi bütünleştiren karmaşık bir ağ olarak bağırsaktaki nörolojik olayları doğrudan etkiler ve fizyolojik

değişikliklere neden olur. Yakın zamanda Kaelberer ve arkadaşları, nöropod hücreleri olarak adlandırılan enteroendokrin hücrelerin nörotransmitter olarak glutamati kullanarak bağırsak lümeninden sinyalleri iletmek üzere vagal nöronlarla sinaps yapabildiğini keşfetmiştir (230). Bakteriler, vagus ve ESS afferent nöronlarının uyarılması yoluyla beyinle doğrudan sinirsel bağlantı kurar (229). Vagotomi kullanılan çalışmalar, sağlıklı beyin fonksiyonu için çift yönlü vagus sinyalizasyonunun önemini göstermiştir. Peptik ülser tedavisi için uygulanmış vagotomili bireylerde psikiyatrik hastalık insidansı artmış (231), vagotomi yapılan rodentlerde ise lokomotor aktivite azalmış (232) ve immatür nöron proliferasyonu kötü yönde etkilenmiştir (233). Vagus sinir stimülasyonu üzerine yapılan çalışmalar da vagus sinirinin farklı patofizyolojik süreçlerdeki rolünü desteklemektedir. İnsanlarda vagus stimülasyonu depresyon (234) ve epilepsi (235) gibi MSS hastalıklarının tedavisinde kullanılabilmektedir. Mikrobiyotanın vagus siniri üzerindeki nöral iletimi olumlu ya da olumsuz yönde değiştirmesi, bu hastalıkları da olumlu ya da olumsuz yönde etkileyebilir. Mikrobiyota triptofan, serotonin, GABA, epinefrin, norepinefrin ve dopamin gibi nöromodülatör ve nörotransmitterler aracılığıyla da sinir sistemi ile iletişim halindedir (203, 236). İnsan Mikrobiyomu Projesi'nden elde edilen verilerde mikrobiyomun glutamik asidi GABA'ya dönüştüren enzim olan glutamat dekarboksilazı kodladığı tespit edilmiştir (237). Üretimin yanı sıra, GABA reseptörü bulunduran mikrobiyota bakterileri de mevcuttur (238). Mikrobiyotada bulunan bakterilerin ürettiği, triptofanın bir metaboliti olan indolün beyinden bağırsaklara uzanan vagusun aktivasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca akut aşırı indol üretimi olan sıçanlarda motor aktivitede azalma, kronik ve orta düzeyde artış olan sıçanlarda anksiyete benzeri davranışlarda artış görülmüştür (239). Önemli miktarda serotonin üreten bağırsak mikrobiyotasının, 5-HT reseptörleri üzerinden ESS matürasyonunu etkilediği de saptanmıştır (240). Ayrıca ESS'nin mikrobiyota üzerine etkisi olabileceği de görülmektedir. Sox10 transkripsiyon faktörü geninde bir mutasyon sonucu ESS'den yoksun zebra balığında, mikrobiyota profilinin pro-inflamatuvar yönde değiştiği ve sağlıklı mikrobiyota için sağlıklı ESS gerektiği tespit edilmiştir (241). Mikrobiyal karbonhidrat fermantasyon ürünleri kısa zincirli yağ asitleri de sistemik dolaşıma girerek MSS'yi etkileyebilir (242). Bağırsak mikrobiyotası hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksen ile de ilişkilidir (229). Germ-free (GF) hayvanlar hormonal sinyal yollarında ve nörotransmisyonunda normal hayvanlara göre farklılıklara sahiptir (243, 244). GF farelerle yapılan başka bir önemli çalışmada 16-18 embriyonik günlerde kan-beyin bariyerinin daha geçirgen olduğu, sıkı bağlantı proteini olan okludinin ekspresyonunun düşük olduğu ve bu etkilerin doğumdan yetişkinliğe kadar devam ettiği tespit edilmiştir (245). Aynı çalışmada doğum sonrası mikrobiyota tekrar

oluşturulduğunda gözlenen etkilerin tersine döndüğü görülmüştür. Bağırsak mikrobiyotası ve beyin arasındaki bu çift yönlü yolaklarla ilgili çok sayıda çalışma olmasına rağmen söz konusu aksı oluşturan mekanizmaları tam olarak anlamak hâlâ oldukça zordur.



Şekil 2.7: Beyin-bağırsak aksı (Cryan vd., 2019'dan (203) değiştirilerek). GLP-1: glukagon benzeri peptit 1, PYY: peptit YY, CCK: kolesistokinin

2.3.3. Bağırsak Mikrobiyotasının Nörolojik Hastalıklar ile İlişkisi

Beyin-bağırsak aksını oluşturan bağlantılar, bağırsak mikrobiyotasının nörolojik hastalıkların hem patofizyolojisinde hem de prognozunda yeri olabileceğini göstermektedir. Disbiyoz olarak bilinen bağırsak mikroflorasındaki dengesizliğin tedavisi, nörogelişimsel ve nöropsikiyatrik hastalıkların yanında Alzheimer, Parkinson ve epilepsi gibi toplumun önemli

bir kısmını etkileyen nörolojik hastalıklar için de umut verici olabilir. Parkinson hastalığı olan bireylerde *Coprococcus*, *Roseburia* ve *Blautia* gibi anti-inflamatuvar özellikler taşıyan bakterilerin azaldığı (246); sindirim, emilim ve vitamin üretimi gibi çok sayıda faydası bilinen bifidobakterilerin Alzheimer'lı bireylerde daha az (247), inflamatuvar yanıtı artıran *Escherichia* ve *Shigella* gibi bakterilerin ise sağlıklı kontrollere göre oldukça fazla bulunduğu (248), otizm spektrum bozuklukluğuna sahip kişilerde bakteri flora çeşitliliğinin normal bireylere göre düşük olduğu (249) saptanmıştır. Kabızlık başta olmak üzere gastrointestinal fonksiyon bozuklukları, Parkinson hastalığından etkilenen bireylerin %80'inde bulunmakta ve motor semptomlardan yıllar önce ortaya çıkabilmektedir (250). Parkinson hastalarının ESS'lerinde alfa-sinüklein birikimine bağlı inklüzyonlar oluşur (251). Bağırsak mikrobiyomunun alfa-sinüklein oluşturan enterik nöronları etkilediği düşünülmektedir (252). Oklüdin gibi sıkı bağlantı proteinleri bağırsak bariyer yapısı için büyük öneme sahiptir. Bu bariyeri bozan disbiyoz, bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olur (253). Parkinson hastalarında da oklüdin seviyesinin azaldığı ve bariyer yapısının değiştiği tespit edilmiştir (254). Çeşitli çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizliklerin, Alzheimer hastalığında ana patoloji olarak kabul edilen amiloid-beta üretimine yönelik sinyal yollarını aktive edebileceği, bozuk mikrobiyotaya sahip deneklere antibiyotik uygulamasının ise plak oluşumunu azaltabileceği gösterilmiştir (229). Otoimmün ensefalomyelit ve multipl skleroz (MS) gibi nörolojik otoimmün hastalıklar üzerine yapılan son araştırmalar da bağırsak mikrobiyomunun önemini vurgulamaktadır (255). Pediatrik popülasyondaki MS hastaları ile yapılan bir klinik çalışmadaki analizlerde bağırsak mikrobiyotasının değiştiği ve pro-inflamatuvar bir ortam oluştuğu tespit edilmiştir (256). Başka bir MS çalışmasında ise hastalara probiyotik uygulanması disbiyoz ile ilişkilendirilmiş bakterilerin sayısını ve inflamatuvar aktiviteyi azaltmıştır (257). Bağırsak mikrobiyomu serebrovasküler ve kardiyovasküler hastalıkların oluşumuna da katkı sağlayabilir. Bağırsak mikroflorası, ateroskleroz ve dislipidemi gibi vasküler hastalıkların farklı risk faktörlerinin modülasyonu ile dolaylı olarak ilişkilendirilebilirken, araştırmalar mikrobiyota metaboliti trimetilamin n-oksidin felç ya da miyokardiyal enfarktüs riskini doğrudan artırdığını göstermektedir (258). Bağırsak mikrobiyotasının yaşlanmada da rolü olabileceği düşünülmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının homeostazı yaşlanmayla birlikte değişmekte; patobiontların sayısı artıp anti-inflamatuvar özellikler taşıyan bakterilerin sayısı azalmaktadır (259). Yapılan deneysel bir çalışmada, yaşlı donör farelerden yapılan FMT'nin, genç farelerde *Faecalibaculum*, *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae* gibi kısa zincirli yağ asidi üreten bakterilerde azalmayla birlikte spasyal öğrenme ve hafızada bozulmalar oluşturduğu gösterilmiştir (260). Çeşitli çalışmalar farklı

mikrobiyota bakterileri ile epilepsinin patofizyolojisi arasında da bir ilişki olduğunu öne sürmektedir ki (261, 262) bu ilişki tezin epilepsi ve mikrobiyota başlığı altında incelenmiştir.

2.3.4. Epilepsi ve Mikrobiyota

Epileptik hastalarda sıklıkla gastrointestinal semptomlar görülürken, inflamatuvar bağırsak hastalığı olan kişilerde epilepsi daha fazla görülmektedir (14). KD, cerrahiye uygun olmayan ilaca dirençli epilepsilerde iyi sonuçlar verebilen önemli bir diyet türü olup mikrobiyota ile ilişkisi gösterilmektedir (263). Çalışmalarda epileptik hastalarla sağlıklı insanlar arasındaki mikrobiyota kompozisyonunda farklılıklar olduğu saptanmıştır (261, 264). Bu ve benzeri klinik bulgular epilepsi ve bağırsak arasında, büyük oranda mikrobiyotayı da içinde bulunduran bir ilişki olduğunu destekler. Epileptik durumda mikrobiyotanın değiştiğine yönelik benzer bulgular deneysel modellerde de tespit edilmektedir (265). Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, disbiyozis ile oluşan intestinal hasarın absans epilepsi ile ilişkili olduğu ve FMT'nin mikrobiyotayı değiştirip intestinal morfolojiyi kısmen düzeltirken aynı zamanda absans nöbetleri de azalttığı gösterilmiştir (266). Bağırsak mikrobiyotası, beyin-bağırsak aksında bahsedilen çeşitli yolak ve sistemler aracılığıyla beyin fonksiyonlarını ve nöronal eksitabiliteyi etkileyebilir. Probiyotik ve/veya prebiyotik kullanımı ya da FMT ise bağırsak mikrobiyotasının dengeli ve iyi yönde düzeltilip farklı epilepsi tiplerinin standart tedavisi haline gelebilme potansiyeli taşımaktadır.

2.3.4.1. Epilepside mikrobiyota profilindeki değişimler

Az sayıda yapılmış popülasyon temelli klinik çalışmalarda epilepsi grubu ile sağlıklı kontroller arasında nispeten sınırlı bir örneklem büyüklüğünde bağırsak mikrobiyotasının bileşenlerinde farklılıklar olduğu ortaya konmuştur (261, 262, 264, 267). İlaça dirençli epilepsili 14 hasta ile 30 sağlıklı kontrolün bağırsak mikrobiyotasının karşılaştırıldığı klinik bir çalışmada, sağlıklı kontrollerde bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinin daha yüksek olduğu saptanmış; filum düzeyinde kontrol grubu bağırsak mikrobiyotasının ana bileşeni *Bacteroidetes* iken hastalarda *Firmicutes*'in baskın olduğu tespit edilmiştir (267). İnsanlarda yapılan diğer bir çalışmada, ilaca dirençli epilepsi, ilaca duyarlı epilepsi ve sağlıklı kontrol grupları arasında karşılaştırma yapılmış ve bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği ve bileşiminde farklılıklar mevcut olup epilepsi nöbeti sıklığı ile bağırsak mikrobiyotasının korele olduğu gösterilmiştir

(261). Bu çalışmada ilaca duyarlı epilepsi ve sağlıklı kontrol gruplarında baskın filum *Bacteroidetes*, ikinci büyük filum *Firmicutes* olmak üzere benzer yapıya sahip olduğu ancak ilaca dirençli epilepsi grubunda ise baskın filumun *Firmicutes* olup onu *Bacteroidetes* filumunun izlediği ifade edilmiştir. Cins düzeyinde de ilaca dirençli ve ilaca duyarlı epilepsi grupları arasındaki farklılığın sürdüğü, *Bifidobacter* ve *Lactobacillus* cinslerinin yılda dörtten fazla nöbet geçiren hastalarda yılda dörtten az nöbet geçiren hastalara göre daha düşük olduğu saptanmıştır (261). Diğer bir çalışmada, 55 epilepsi hastasında 46 sağlıklı kontrole göre filum düzeyinde *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* miktarının arttığı, *Proteobacteria* miktarının ise azaldığı tespit edilmiştir (264).

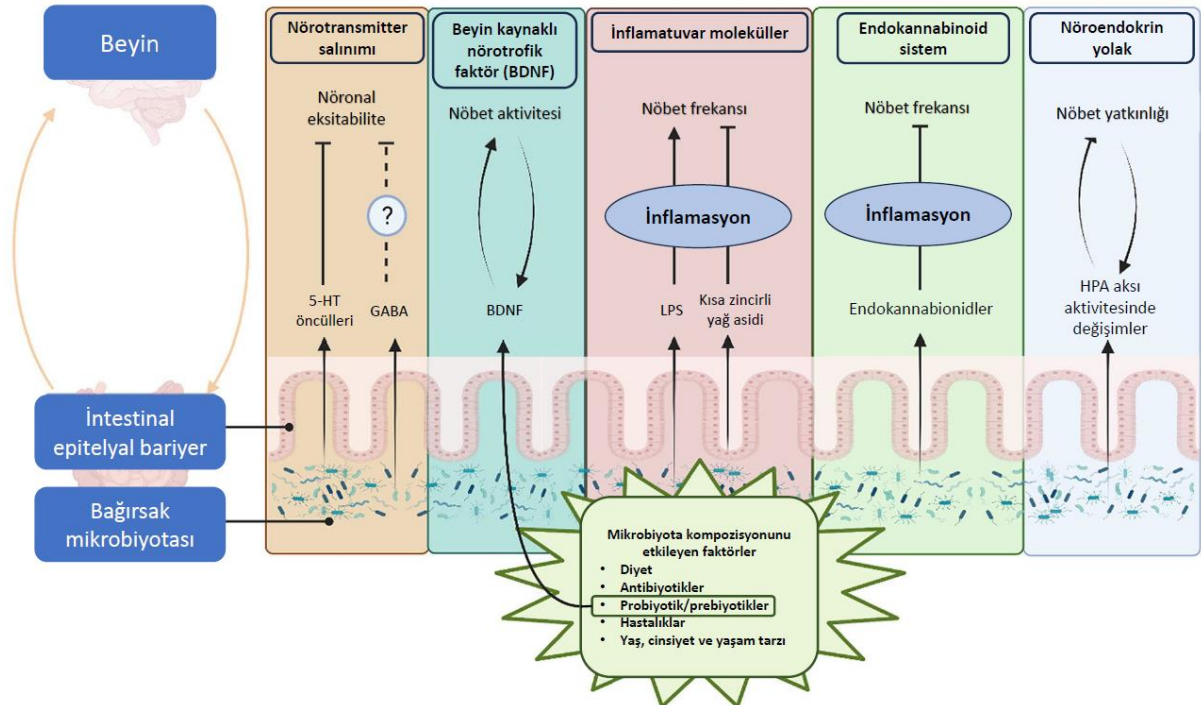
2.3.4.2. Epilepsinin patofizyolojisinde mikrobiyotanın rolü

Epilepsinin patogenezi nöroimmünite ve nöroinflamasyonla bağlantılıdır (262). Mikrobiyom alterasyonuna bağlı ortaya çıkan pro-inflamatuvar durumun beyin-bağırsak eksenini aracılığıyla nöroinflamasyona katkıda bulunup nöronal eksitabiliteye etki edeceği ve bu sayede epilepsi patofizyolojisinde rol oynayabileceği şaşırtıcı değildir.

Mikroglia ve astrositler MSS'deki ana inflamatuvar hücrelerdir ve bu hücrelerin inflamatuvar durumları epilepsi gelişimini teşvik eder (141). Bağırsak mikrobiyotasının immün sistem hücrelerinin gelişimini ve fonksiyonel özelliklerini etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (223, 224, 268). Bağırsak mikrobiyotası mikrogial hücrelerin diferansiasyonunda da yaşa ve cinsiyete bağlı olarak etkili olmaktadır (269). GF ve antibiyotik uygulanmış hayvanlar mikrogial morfoloji ve aktivasyon kusurları sebebiyle farklı patojenlere karşı yetersiz immün yanıt verirken mikrobiyotanın tekrar kolonize edilmesi ile düzelme sağlanmıştır (270). Mikrobiyota dengesinin bozulmasına bağlı olarak gelişen inflamasyon durumunda intestinal bariyerin hasar alması, bakteriler tarafından üretilen metabolitler, lipopolisakkaritler vb. toksinler ve sitokinler gibi çeşitli faktörlerin kana salınıp immün sistem hücrelerini aktive ederek KBB'de hasar oluşturmaya ve beyne zarar vermesine yol açabilir (271). Disbiyozun immün sistem aracılığıyla etkileri ile birlikte anti-inflamatuvar faydalı etkiler gösteren kısa zincirli yağ asitlerinin seviyesinin azalması da KBB permeabilitesini artırıp nöroinflamasyona katkı sağlarken özellikle hipokampus ve serebral kortekste bulunan nöron ve glialarda apoptotik hücre ölümüne yatkınlığı artırmaktadır (272). PTZ ile indüklenen epileptik farelerle yapılan bir deneysel çalışmada intestinal inflamasyonun konvülsan aktiviteyi artırıp

anti-epileptik ilaç etkisini azaltırken kısa zincirli bir yağ asidi olan bütiratın, intestinal inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak antiepileptik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (273).

Epilepside beyin bölgelerindeki eksitasyon-inhibisyon dengesinin bozulması ana patolojilerden biridir ve bu dengeyi düzenlemede nörotransmitterler görev alır. Epileptik odaklarda GABA hipoaktivitesi ya da glutamat/dopamin/norepinefrin hiperaktivitesi en sık gözlenen nörotransmitter dengesizlikleridir (274). Gastrointestinal sistemde nörotransmitterler doğrudan mikrobiyota tarafından veya metabolitlerin uyarması aracılığıyla gastrointestinal hücreler tarafından üretilir. Farklı mikroorganizmaların farklı nörotransmitterler ürettiği tespit edilmiştir. Örneğin *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. GABA üretirken *Escherichia* spp. ve *Bacillus* spp. norepinefrin ve dopamin üretir (262). *Coprococcus*, *Ruminococcus* ve *Turicibacter* türlerinin ise glutamat ve glutamin seviyeleri ile korele olduğu gösterilmiştir (275). Aynı ekip tarafından yapılmış 2 farklı deneysel çalışmada KD uygulanmış hayvanlardan yapılan FMT ve KD ile ilişkili *Akkermansia* ve *Parabacteroides* tedavilerinin her biri, kontrol diyetiyle beslenen farelerde hipokampal GABA/glutamat oranını yükselterek nöbet koruması sağlamıştır (276).



Şekil 2.8: Epilepsi ve mikrobiyota ilişkisi (Boeri vd., 2022'den (278) değiştirilerek)

Mikrobiyotanın nörotransmitter üretiminin yanı sıra hipokampus ve amigdala gibi spesifik beyin bölgelerindeki GABA ve NMDA reseptör ekspresyonlarını etkilediği de görülmektedir (14). Nörotransmitterler dışında beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi nörotrofik faktörler de epileptogenez ve epilepside eksitator/inhibitör sinaptik iletinin modülasyonu ile başta hipokampus olmak üzere çeşitli beyin bölgelerindeki nöronal aktivite üzerinde önemli etkilere sahiptir (277). GF farelerle yapılan bir çalışmada deneklerin hipokampus ve kortekslerinde BDNF eksikliği gözlemlenmiştir (243). Tüm bu veriler, mikrobiyomun ve beyin-bağırsak ekseninin epilepsi ve epileptogenezde rol oynayabileceğini ve epilepsilerdeki nöbet frekansı, nöbet aktivite şiddeti gibi parametreleri etkileyebileceğini göz ardı edemeyeceğimizi göstermektedir (Şekil 2.8).

2.3.4.2. Epilepsi tedavisinde mikrobiyota hedefli uygulamalar

Mikrobiyotayı değiştirip disbiyozu gidermeye ve sağlıklı bağırsak-beyin eksenini potansiyelize etmeye yönelik tedaviler ve girişimler, günümüzde mevcut tüm tedavilere rağmen dirençli epilepsiye sahip hastalar için umut olabilir. Sağlıklı mikrobiyota, epilepsinin patofizyolojisinde yer alan, normal beyin-bağırsak aksını bozan mekanizmaları düzelterek nöbet oluşumunu azaltabilirken aynı zamanda ilaç metabolizmasını ve emilimini destekleyerek antiepileptik ilaçlara verilen yanıtı artırabilir. Mikrobiyota hedefli uygulamalar arasında diyet, antibiyotikler, probiyotikler, prebiyotikler ve FMT yer almaktadır.

Epilepsi tedavisinde diyet dendiğinde birçok bilim insanının aklına ilk olarak KD gelir. KD, dirençli epilepsi hastalarında 100 yılı aşkın bir süreden beri kullanılan yüksek yağlı, düşük karbonhidratlı ve yeterli proteinli bir diyet olup enerji kullanımında glukoz metabolizmasından yağ asidi metabolizmasına doğru kaymayı tetikler (279). Klinikte iyi seçilmiş ve optimal dozda iki antiepileptik ilaçla tedaviye yeterli yanıt alınamayan epilepsi hastalarında KD uygulaması düşünülmektedir (279). Tezin epilepsi patofizyolojisinde mikrobiyotanın rolü başlığı altında bahsedilen Olson ve arkadaşlarının yaptığı KD ve mikrobiyotanın antiepileptik etkileri üzerine olan çalışması ve diğer çeşitli çalışmalar (268, 276, 280) KD'nin epilepside etkisini mikrobiyota üzerinden gösteriyor olabileceğine işaret etmektedir. Ancak ilaca dirençli epilepsiye sahip 12 çocuk üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise fekal materyal üzerinden yapılan metagenomik sekanslama, kontrol grubu olarak ebeveynler ile kıyaslandığında çocuklarda KD sonrası faydalı olarak görülebilecek bakteri popülasyonlarının azalıp bir patobiyont kabul edilen *Escherichia coli*'nin arttığı gösterilmiştir ve araştırmacılar tarafından KD'nin faydalarının sorgulanmasına

yol açmıştır (281). KD ve mikrobiyota ilişkisi ile ilgili şu ana kadar yapılan çalışmalar görece olarak dar kapsamlı ve sınırlı sayıdadır.

Antibiyotik kullanımı ile epilepsi arasındaki bağlantıya dair az sayıda çalışma mevcuttur. Antibiyotiklerle tedavi edilen altı ilaca dirençli epilepsi hastası üzerinde yapılan retrospektif bir çalışma, bazı antibiyotiklerin nöbet sıklığını azaltabildiğini göstermiş ve araştırmacılar antibiyotiklerin bağırsak florası üzerinden beyin-bağırsak eksenine müdahale edebileceğini öne sürmüşlerdir (282). Ancak penisilin, sefalosporin ve karbapenemler gibi bazı antibiyotikler özellikle renal disfonksiyonu olan hastalarda nöbete yol açabilir (283, 284). Antibiyotikler zararlı mikroorganizmaların yanında sağlığa yararlı olanları da etkileyip disbiyozu yol açma potansiyeli taşımaktadır. Farklı antibiyotiklerin mikrobiyotayı nasıl değiştirdiğine ve epileptik mekanizmalara olumlu ya da olumsuz nasıl katkıda bulunabileceklerine dair daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü ile Dünya Sağlık Örgütü probiyotikleri “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçı sağlığına yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak (285); Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Bilimsel Birliği prebiyotikleri “konakçı mikroorganizmalar tarafından selektif olarak kullanılan sağlığa faydalı substrat” şeklinde tanımlamaktadır (286). Sinbiyotikler ise “canlı mikroorganizmalar ve konak mikroorganizmaları tarafından selektif olarak kullanılan substrat veya substratlardan oluşup konağa sağlık açısından fayda sağlayan karışım” olarak ifade edilmekte ve sinerjistik/komplementer şeklinde ikiye ayrılmaktadır (286). Sinerjistik sinbiyotikte prebiyotik, birlikte uygulanan canlı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak kullanılırken komplementer sinbiyotikte her bileşen bağımsız olarak çalışır. Probiyotiklerin disbiyozu giderip mikrobiyota dengesini yeniden sağlayarak immün ve inflamatuvar yanıtları düzenlediği ifade edilmektedir. Probiyotikler sıklıkla *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerini içeren preparatlardan oluşur (287). Prebiyotikler genellikle ince bağırsakta hidrolize edilemeyen veya emilemeyen polimerize karbonhidratlar olarak ifade edilen liflerdir. Sıklıkla probiyotiklerin selektif olarak zenginleştirilmesi için kombine olarak bulunurlar. En sık bilinen prebiyotikler inülin, fruktooligosakkaritler, galaktooligosakkaritler ve dirençli nişastadır. Batı tarzı diyet tüketiminin artmasıyla korele olan prebiyotik alımındaki düşüş obezite, metabolik sendrom ve inflamatuvar hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (203). Prospektif bir çalışmada, 4 ay boyunca probiyotik karışımı ile tedavi edilen ilaça dirençli epilepsi hastalarının %28,9’unda nöbet sıklığı $\geq$ %50 oranında azalmış ve hastaların %76,9’unda tedaviyi bıraktıktan 4 ay sonrasına kadar düşük nöbet sıklığı korunmuştur (288). Sıçanlarda kainik asitle oluşturulmuş status epileptikus

modelinde probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik uygulamaları, inflamasyon ve oksidatif stresi iyileştirerek nöbet sıklığı ve kognitif defisitleri azaltmıştır (289). PTZ modeli ile yapılan başka bir deneysel çalışmada sinbiyotikler kısa zincirli yağ asitlerini çoğaltarak nöroprotektif etki göstermiştir (265). Bu ve benzeri çalışmalar probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik uygulamalarının nöbet sıklığını azaltabileceğini ve antiepileptik tedavi yanında tamamlayıcı tedavi olarak kullanılabilme potansiyeli taşıdığını göstermektedir.

FMT, bir donörden alınmış fekal maddenin solüsyon haline getirilip oral kapsül ya da endoskopi vb. yöntemlerle alıcının intestinal kanalına transfer edilmesini içeren bir tedavi yöntemidir. Dördüncü yüzyılda Çin’de gıda zehirlenmesi ve diyare tedavisi için uygulandığı bilinen bu yöntem, mikrobiyomu doğrudan değiştirebilir (290). FMT, patojenik mikroorganizmaların kolonizasyonunu azaltıp immün regülasyon yoluyla konağın patojenlere karşı direncini artırabilir (291). FMT’nin ülseratif kolit ve *Clostridium difficile* enfeksiyonu gibi çeşitli hastalıklarda etkili olduğu gösterilmiştir (292, 293). GF farelerle gerçekleştirilmiş bir temporal lob epilepsi çalışmasında, KD veya KD ile ilişkili mikroorganizmalar uygulanmış farelerden yapılan FMT sonrası tedavi uygulanmamış farelerin nöbet geçirme eşiğinde artış gözlemlenmiştir (276). Klinik olarak ise FMT’nin Crohn hastalığı ve 17 yıllık epilepsi öyküsü olan bir hastada antiepileptik ilaçların kesilmesinden sonra takip edilen 20. aya kadar epilepsi nöbetlerini tamamen durdurduğu gösterilmiştir (294). FMT için uygun ve sağlıklı donör belirlemek önem arz etmektedir. FMT, bazı tespit edilemeyen bakteri veya virüslerin bulaşmasına neden olup disbiyozu yol açabilir (295). Bu nedenle geniş çaplı klinik uygulamalardan önce epilepsi hastalarında FMT’nin etkinliğini ve güvenliğini belirlemek için uzun süreli takip çalışmalarına ihtiyaç vardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY TASARIMI VE MADDE UYGULAMALARI

3.1.1. Deney Hayvanları

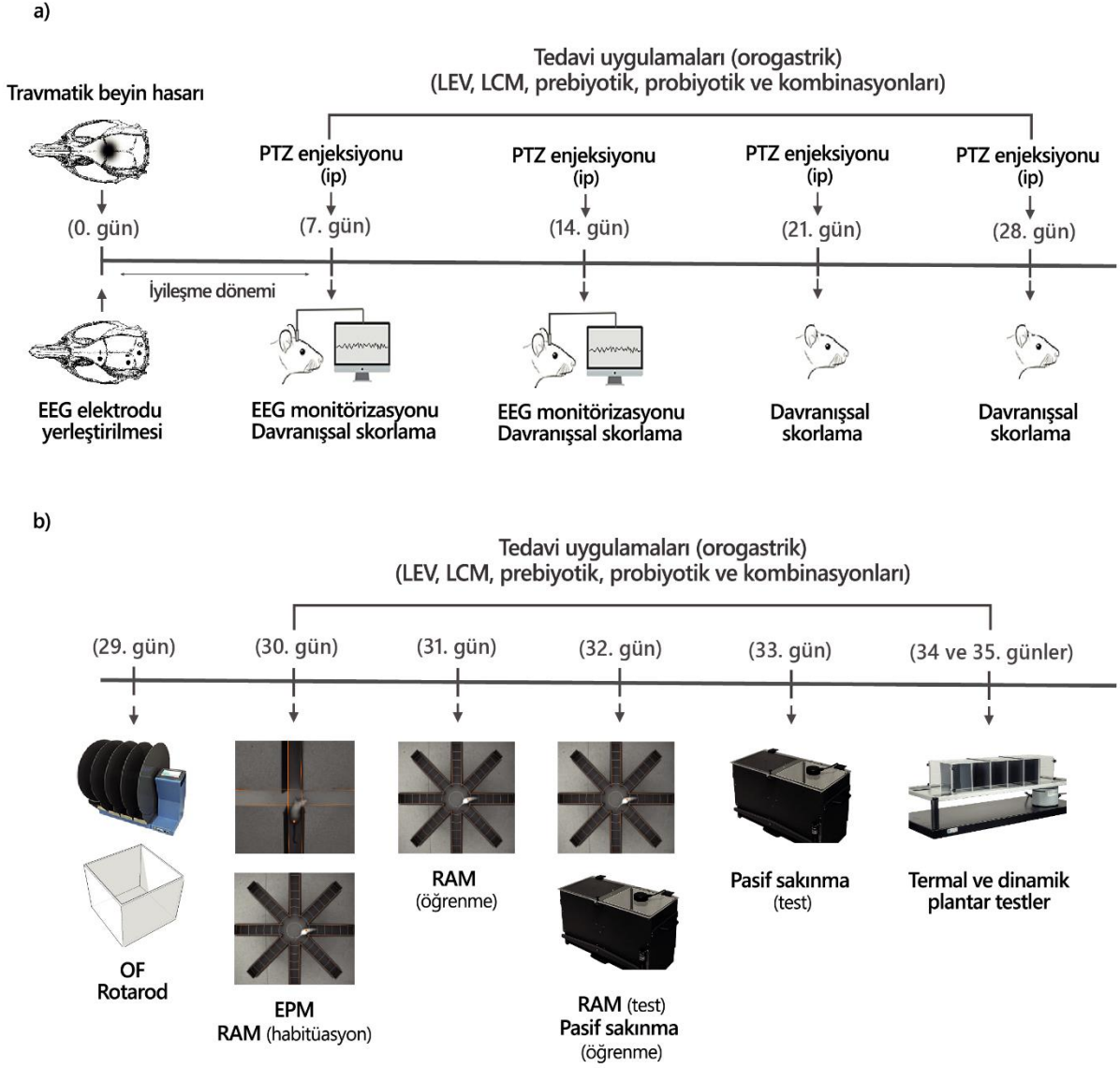
Deneylerde toplam 86 adet, 10-12 haftalık ve 200-240 gram ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları 21 ± 2 °C ortam sıcaklığı, %50-60 nem koşullarında koşulları ve 12/12 saat aydınlık-karanlık döngüsü altında barındırıldı. Her kafeste 4 hayvan olacak şekilde standart pelet yem ve musluk suyu ile herhangi bir besin kısıtlaması olmaksızın alabildikleri kadar besin ve suya ulaşabilmeleri sağlandı. Hayvanların ağırlıkları deney boyunca takip edildi.

3.1.2. Deney Dizaynı

Tez kapsamındaki deneysel çalışmalar, Sprague-Dawley sıçanlarda TBH sonrası subkonvulsan dozlarda PTZ ile provoke edilerek oluşturulacak deneysel PTE modeline dayanmaktadır. Literatürde oluşturulan travmanın şiddet ve biçimi, PTE gelişimi için belirlenen gözlem süresi ve subkonvulsif ajanların çeşidine bağlı olarak değişkenlik gösteren farklı PTE modelleri bulunmaktadır (296). Ancak PTE modelinin kullanımına ilişkin gözlem süresi başta olmak üzere bazı uygulama zorlukları ve standardizasyona ilişkin sorunlar mevcuttur.

Özellikle nöbetlerin travmaya bağlı spontan olarak gelişimini gözlemlemeye yönelik 6 ay, hatta 12 aya ulaşabilen uzun süreli yakın takip gerektiren çalışmalar (68, 296) dizayn edilmiş olmakla beraber ilgili modellerin uygulanmasına yönelik yeterli standardizasyonun yakalanamadığı ve farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bununla birlikte laboratuvarımızda daha önce gerçekleştirilen bir çalışmada PTE modelini standardize etmek için deneklere hafif TBH sonrası subkonvulsan dozlarda PTZ uygulanmış ve TBH oluşturulmadan subkonvulsan dozlarda PTZ uygulanan denekler ile yapılan karşılaştırmalar neticesinde öncesinde oluşturulan hafif TBH'nin PTE gelişimine katkısı açık bir şekilde ortaya konulmuştur (195).

Sunulan tez kapsamındaki deneysel süreç (Şekil 3.1) ve uygulamaların yöntemsel detayları ilgili başlıklar altında açıklanmıştır.



Şekil 3.1. Deney dizaynı. a) *Deneysel modelin oluşturulması ve nöbetlerin takibine ilişkin süreç.* b) *Davranış testlerinin uygulanmasına ilişkin süreç.* (OF: open field, EPM: elevated plus maze, RAM: radial arm maze, ip: intraperitoneal)

3.1.3. Antiepileptik İlaçlar, Prebiyotik ve Probiyotiklerin Uygulanması

Tez için oluşturulan deney kapsamında antiepileptik ilaç olarak LEV ve LCM, prebiyotik olarak inülin, probiyotik olarak VSL#3 isimli 7 farklı türde bakteri içeren potent takviye gıda ürünü kullanıldı. Antiepileptik ilaçlar LEV ve LCM Bilim İlaç (Keppra ve Benvida, Kocaeli, Türkiye)'den, prebiyotik olan inülin Fibrelle (İstanbul, Türkiye)'den, probiyotik olan VSL#3 Gesundheit-Health (Dallas, Cleveland)'den, anestezi için kullanılan ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorür sırasıyla Pfizer (Ketalar, İstanbul, Türkiye) ve

Bayer (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye)'den temin edildi. LCM %10'luk 5 ml etanolde çözüldükten sonra ihtiyaç hacminin geri kalanı serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile tamamlanarak, LEV, inülin ve VSL#3 ise tamamen serum fizyolojikte çözülerek uygulandı. Uygulama hacmi LCM, LEV ve VSL#3 için 2 ml/kg, inülin içinse yüksek doza bağlı çözünme probleminden dolayı 4 ml/kg olarak belirlendi. PTZ uygulaması ve davranış testleri boyunca ilgili gruplara oral gavaj (o.g.) ile intragastrik olarak 100 mg/kg LEV (302, 303) veya 30 mg/kg LCM (304, 305), prebiyotik olarak 1000 mg/kg inülin (289), probiyotik olarak 10×10^9 /kg oranında bakteri kolonisi içeren VSL#3 karışımı (306, 307), kontrol grubu ile PTE grubuna ise 2 ml/kg hacimde serum fizyolojik uygulandı. VSL#3 probiyotik karışımı, 7 farklı tür ve 8 suştan dondurularak kurutulmuş *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, *Bifidobacterium breve* ve *Streptococcus thermophilus* içeriğine sahiptir. Tezde kullanılan VSL#3 ürününün her bir şasesi 112 milyar bakteri içermektedir.

Tablo 3.1: Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Çözücü	Kullanım Amacı	Üretici Firma
Pentilentetrazol	Serum fizyolojik (%0,9 NaCl)	PTE indüksiyonu	Sigma, St. Louis, USA
Lakosamid	%10 Etanol	PTE tedavi süreci	İlaç preparatı (Benvida, BİLİM İlaç San. ve Tic. A.Ş., Kocaeli, Türkiye)
Levetirasetam	Serum fizyolojik (%0,9 NaCl)	PTE tedavi süreci	İlaç preparatı (Keppra, BİLİM İlaç San. ve Tic. A.Ş., Kocaeli, Türkiye)
Inülin	Serum fizyolojik (%0,9 NaCl)	PTE tedavi süreci	Fibrelle, İstanbul, Türkiye
VSL#3	Serum fizyolojik (%0,9 NaCl)	PTE tedavi süreci	Gesundheit-Health, Dallas, USA

Deney grupları aşağıdaki şekilde dizayn edilmiştir (prebiyotik, PRE; probiyotik, PRO ve sinbiyotik, SİN):

- Kontrol Grubu (n=8): 28 gün boyunca o.g. ile intragastrik olarak 2 ml/kg hacimde serum fizyolojik verildi. Kontrol grubuna sadece davranış testleri uygulandı.

- Post-travmatik Epilepsi (PTE) Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak serum fizyolojik (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LEV Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 100 mg/kg LEV (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LCM Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 30 mg/kg LCM (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LEV + PRE Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 100 mg/kg LEV + 1000 mg/kg prebiyotik inülin (4 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LEV + PRO (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 100 mg/kg LEV + 10x10⁹/kg VSL#3 probiyotik (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LEV + SİN Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 100 mg/kg LEV (2 ml/kg, o.g.) + 1000 mg/kg prebiyotik inülin (4 ml/kg, o.g.) + 10x10⁹/kg VSL#3 probiyotik (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LCM + PRE (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 30 mg/kg LCM (2 ml/kg, o.g.) + 1000 mg/kg prebiyotik inülin (4 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LCM + PRO Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 30 mg/kg LCM + 10x10⁹/kg VSL#3 probiyotik (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- PTE + LCM + SİN Grubu (n=8): Travmadan 7 gün sonra 30+15+15 mg/kg PTZ (2 ml/kg, i.p.), 28 gün boyunca intragastrik olarak 30 mg/kg LCM (2 ml/kg, o.g.) + 1000 mg/kg prebiyotik inülin (4 ml/kg, o.g.) + 10x10⁹/kg VSL#3 probiyotik (2 ml/kg, o.g.) uygulandı ve 14., 21, ve 28. günlerde tekrar PTZ (30+15+15 mg/kg, 2 ml/kg, i.p.) enjekte edildi.

- Ön Çalışma Grubu (n=6): Bu gruptaki hayvanlar TBH ve PTE modelinin doğrulanması, literatür ışığında tespit edilen antiepileptik ilaçların etkili dozunun belirlenmesi ve prebiyotik-probiyotik uygulama dozlarının teyit ve doğrulanması için kullanıldı.

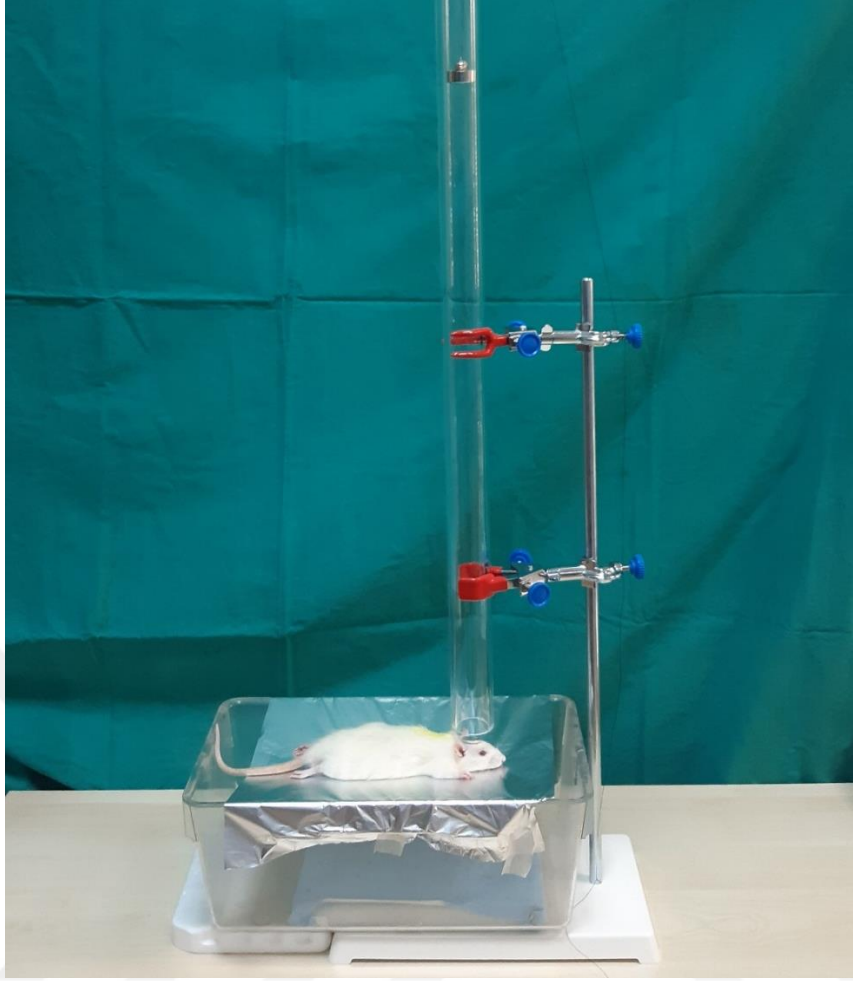
3.2. DENEYSEL MODELLER

3.2.1. Travmatik Beyin Hasarı Modelinin Oluşturulması

TBH modeli oluşturulmadan önce 12 saat süreyle aç bırakılan hayvanlar, ketamin hidroklorür (90 mg/kg) / ksilazin hidroklorür (10 mg/kg) kombinasyonunun intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonu ile anesteziye alındı. TBH modeli olarak ağırlık düşürme yöntemi ile hafif kafa travması oluşturuldu. Travma aparatı, zemine düşey uzanan 60 cm yüksekliğinde içi boş ve şeffaf pleksiglas bir borudan oluşmaktadır. Bu pleksiglas boru, paslanmaz çelik bir ağırlığın belirli bir yükseklikten yerçekimi ile sıçanın kafasına serbestçe düşmesini sağlamaktadır. Anestezi altına alınmış sıçan, alüminyum folyo ile kaplanmış bir pleksiglas kafes üzerine yüzüstü yerleştirildikten sonra sıçanın başı rostral-kaudal eksen boyunca yere paralel olarak ve pleksiglas borunun 1 cm altına hizalandı (Şekil 3.2). Kapalı kafa travması, 60 cm yükseklikten boru aracılığıyla başın orta hattına bırakılan 50 g paslanmaz çelik ağırlıkla indüklendi (195, 297). Paslanmaz çelik ağırlığı koronal ve lambdoid sütürler arasındaki sagittal hatta düşürmek için orbitaların arkasından geçen hat ile kulak çizgisi arasındaki alan pleksiglas borunun üzerine yerleştirilen bir lazer ile işaretlendi. TBH modelinde mortalite oluşmayacak şekilde hafif şiddette TBH geliştirilmesi ve böylece antiepileptik ilaçlar ile ve prebiyotik-probiyotik takviyelerinin kronik olarak kullanımlarının test edilmesi amaçlandı.

3.2.2. EEG Elektrotlarının Yerleştirilmesi

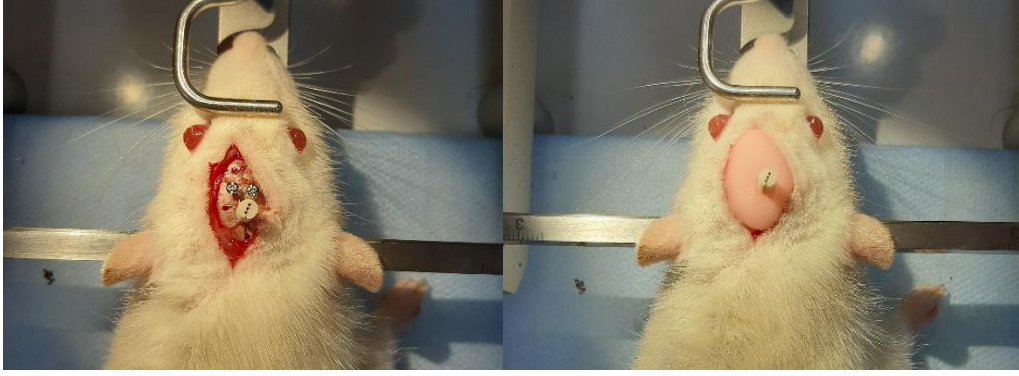
Kapalı kafa travmasından hemen sonra anestezi altındaki sıçanlar, EEG elektrotlarını yerleştirmek için bir stereotaksik aparata (Stoelting Instruments, Wood Dale, IL, USA) yerleştirildi. Hayvanın kafa derisi rostrokaudal ekseninde insize edildikten sonra kraniyum üzerindeki yumuşak doku uzaklaştırıldı ve Bregma noktası görünür hale getirildi. EEG kaydı için tripolar epidural elektrotlar (MS 333/2A, Plastic One Inc., Roanoke, VA, USA) kullanıldı.



Şekil 3.2. Travma oluşturma düzeneği

Elektrotların yerleştirilmesi gereken noktalar bir tur motoru yardımı ile açıldı. EEG elektrot uçları kortekse bası yapmayacak şekilde epidural olarak yerleştirildi. Elektrotların yerleştirileceği koordinatlar Paxinos ve Watson'ın stereotaktik atlasına (298) göre belirlendi. Atlasta belirlenen koordinatlara göre aktif elektrotlardan biri frontal kortekse (AP +2.0, L -3.5), ikincisi pariyetal kortekste (AP -6.0, L -4.0) ve referans elektrot ise serebellum üzerindeki orta hatta yerleştirildi. Kraniyuma, sağ ve sol hemisfer üzerine olacak şekilde iki çelik vida yerleştirildikten sonra tripolar elektrot dental akrilik ile kafatasına sabitlendi (Şekil 3.3).

Elektrotlar akrilik ile sabitlendikten sonra insizyon bölgeleri %10 iyot çözeltisi ile temizlendi ve hayvanlar ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi. Hayvanlar elektrot cerrahisi sonrası 7 günlük iyileşme sürecine bırakıldı (195, 299, 300).



Şekil 3.3: Elektrot cerrahisi

3.2.3. PTZ ile Post-travmatik Epilepsinin İndüklenmesi

TBH ve elektrot yerleştirilmesinden 7 gün sonra PTE indüklemek için başlangıç günü kabul edilerek 7 gün ara ile, toplamda 28 günlük bir süreç boyunca 4 ayrı zaman diliminde PTZ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) uygulandı. PTZ bu zaman dilimlerinden her birinde TBH ile indüklenebilecek nöbetlerin maskelenmesini önlemek için önce 30 mg/kg (2 ml/kg hacimde, i.p.), eğer ilk dozdan sonra Racine 4-5 düzeyinde nöbet oluşmazsa 30 dakika sonra 15 mg/kg (2 ml/kg hacimde, i.p.) ve yine oluşmazsa ilk 15 mg/kg doz uygulamasından 30 dakika sonra tekrar 15 mg/kg (2 ml/kg hacimde, i.p.) şeklinde subkonvulsan 3 ayrı doza bölünerek 3 farklı zaman aralığında enjekte edildi (195). Racine 4 ya da 5 düzeyinde nöbet geçiren hayvanlara tekrar PTZ uygulanmadı. PTZ'nin uygulandığı 2 zaman diliminde (bkz. Şekil 3.1. 7. Ve 14. günler) 30 mg/kg'lık ilk PTZ dozu öncesi 30 dakika, sonrasında ise 120 dakika Racine skorlaması ile birlikte EEG monitorizasyonu yapıldı. Deney dizaynının 21. ve 28. günlerinde deneklerde yeterli sayıda elektrot kalmadığı için EEG monitörizasyonu yapılamadı. PTZ ile indüklenen nöbetlere ilişkin parametreler sadece davranışsal Racine skorlaması ile kayıt altına alındı. Racine skorlaması ile davranışsal parametre olarak nöbet başlangıç latensi, nöbet şiddeti, nöbet sayısı ve toplam nöbet süresi kaydedildi. Tedavi protokolünde bulunan antiepileptik ilaçlar ile prebiyotik-probiyotikler ilk PTZ uygulamasından 60 dk önce başlanarak PTZ uygulamaları ve davranış testlerinin gerçekleştirildiği süre boyunca tanımlanan dozlarda oral gavaj yoluyla uygulandı. Bu sayede ilgili antiepileptik ilaç veya antiepileptik ilaç ve prebiyotik-probiyotik kombinasyonlarının PTZ ile kolaylaştırılan epileptik nöbetler üzerindeki hem akut hem de kronik uygulamalarına bağlı etkinliğin incelenmesi hedeflendi. Ayrıca ilaç ile ilaç kombinasyonlarına davranış testleri boyunca devam edilerek ilgili uygulamaların incelenen davranışlar üzerindeki muhtemel etkilerinin de belirlenmesi amaçlandı.

3.3. EPİLEPTİK AKTİVİTE KAYDI

3.3.1. EEG Kaydı

EEG kaydı 16 kanallı elektrofizyolojik veri kazanım ünitesi (PowerLab 16/35, AD Instruments, Sydney, Australia) kullanılarak gerçekleştirildi. Hayvanlar pleksiglas gözlem kafesine yerleştirildikten sonra EEG elektrodu esnek bir kablo ile bir preamplifikatöre (ML136 Animal BioAmp, AD Instruments, Sydney, Australia) bağlandı ve hayvanların 30 dakika süreyle ortam ve kabloları alışmaları sağlandı (Şekil 3.4). Habitüasyon sonrasında sıçanlar serbestçe hareket ederken EEG kablosunun bağlandığı preamplifikatörler yardımıyla güçlendirilen EEG sinyalleri PowerLab veri kazanım ünitesine aktarılarak anlık olarak monitörize edildi ve kaydedildi (Şekil 3.4).

EEG kayıt ve analizi için LabChart Pro 8.1 (AD Instruments, Sydney, Australia) yazılımı kullanıldı. LabChart Pro 8.1 yazılımı ile EEG sinyalleri 1024 Hz örneklem hızında kaydedilerek 0,1-100 Hz aralığında filtrelendi. EEG kaydı, 16 farklı pleksiglas kafese yerleştirilmiş 16 sıçanda aynı anda gerçekleştirildi (195, 301).



Şekil 3.4: Elektrofizyolojik kayıt sistemi

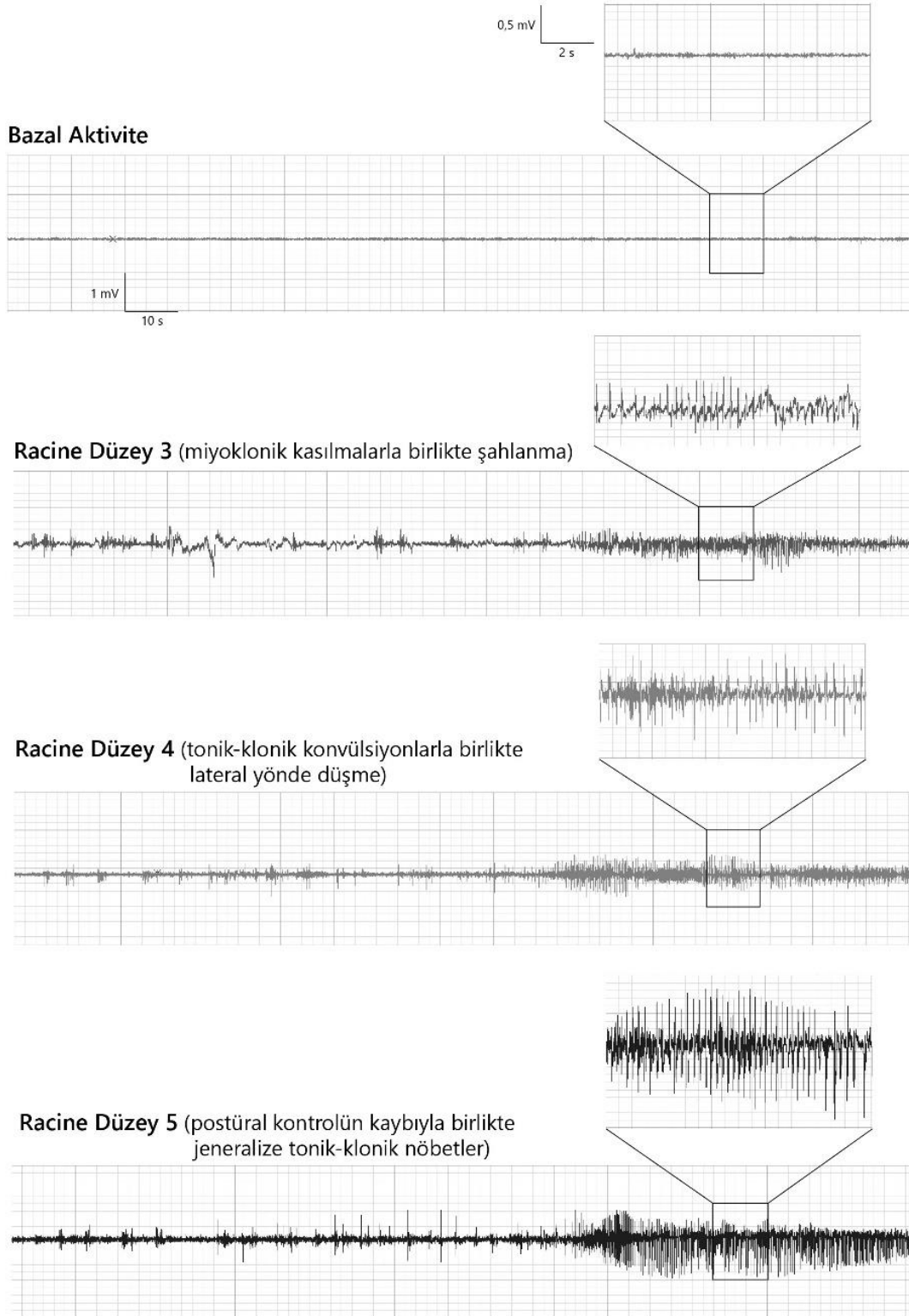
3.3.2. Nöbetlerin Davranışsal Olarak Skorlanması

İlgili deney gruplarına 4 farklı zaman dilimindeki (7., 14., 21. ve 28. günler) PTZ uygulaması ile PTE indüklendikten sonraki 120 dakikalık süreçte EEG kaydı ile birlikte davranışsal nöbet skorlaması yapıldı. Davranışsal nöbet skorlaması modifiye edilmiş bir Racine skorlaması ile gerçekleştirildi (Racine, 1972). Nöbet şiddeti, Tablo 3.2’de de belirtilen şekilde modifiye edilmiş Racine skalasına göre evre 0: yanıt yok; evre 1: kulak ve yüz seğirmesi; evre 2: vücutta konvülsif dalgalanmalar; evre 3: şahlanma ile birlikte miyoklonik kasılmalar; evre 4: yan pozisyona dönüş ile birlikte tonik-klonik konvülsiyonlar; evre 5: postüral kontrol kaybıyla birlikte jeneralize tonik-klonik nöbetler olarak kaydedildi (195, 308). Skorlama işlemi araştırmacılar tarafından gerçek zamanlı olarak yapıldı (Şekil 3.5).

Her bir hayvan için nöbet latensi, nöbet sıklığı, nöbet süresi ve nöbet şiddetleri belirlendi. Nöbet şiddeti, PTZ enjeksiyonundan sonraki toplam 120 dakika boyunca meydana gelen Racine skalasına göre en yüksek nöbet şiddeti olarak hesaplandı. Nöbet latensi, Racine skalasına göre 4 veya 5 düzeyinde ilk nöbet oluşana kadar geçen süre olarak belirlendi. Nöbet sıklığı, ilk PTZ enjeksiyonundan sonra toplam 120 dakika boyunca meydana gelen Racine skalasına göre 4 ve 5 düzeyindeki toplam nöbet sayısı olarak hesaplandı. Toplam nöbet süresi, PTZ enjeksiyonundan sonra toplam 120 dakika boyunca meydana gelen Racine skalasına göre 4 ve 5. düzey nöbetlerin toplam süresi olarak belirlendi (195).

Tablo 3.2: Modifiye Racine skorlaması (195)

Racine evresi	Davranışsal karşılığı
0	Davranış değişimi yok, yanıtsız
1	Ani durgunluk, hareketsiz bakış, kulaklarda ve yüzde seğirme
2	Vücutta konvülsif dalgalanma, baş sallanması
3	Şahlanma ile birlikte miyoklonik kasılma, ön uzuvlarda klonus
4	Şahlanıp tek tarafa düşme ile birlikte tonik-klonik konvülsiyon
5	Postür kaybı ile birlikte jeneralize tonik-klonik aktivite, ani sıçrama

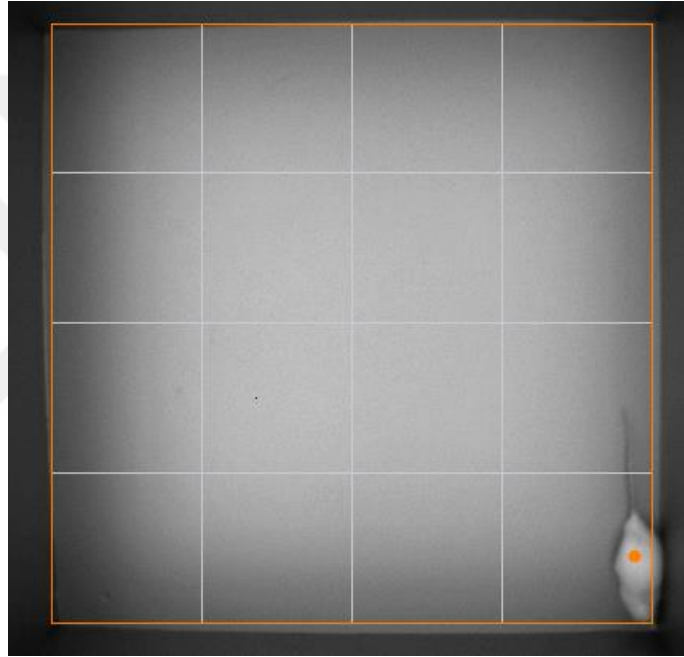


Şekil 3.5: Sprague-Dawley sıçanlarda bazal ve PTZ uygulamasını takiben iktal aktivite sırasındaki EEG traseleri (*Racine* skalasına göre 3, 4 ve 5 düzeyindeki nöbet skorlarına karşılık gelen EEG aktiviteleri sunulmuştur)

3.4. DAVRANIŞ TESTLERİ

3.4.1. Lokomotor Aktivite ve Anksiyeteye İlişkin Davranış Testleri

PTE gelişen kişilerde depresif belirtiler, öğrenme ve hafıza bozuklukları, anksiyete benzeri davranışlar, denge ve motor koordinasyon problemleri gibi çeşitli davranışsal ve nöropsikiyatrik işlev bozuklukları oluşabilmektedir (1). Bu nedenle sunulan tez çalışmasında PTE'nin motor aktivite, anksiyete, öğrenme-hafıza ve ağrı eşiği üzerindeki etkileri aşağıda belirtilen davranış testleri kullanılarak incelenmiştir.



Şekil 3.6: Açık alan testi

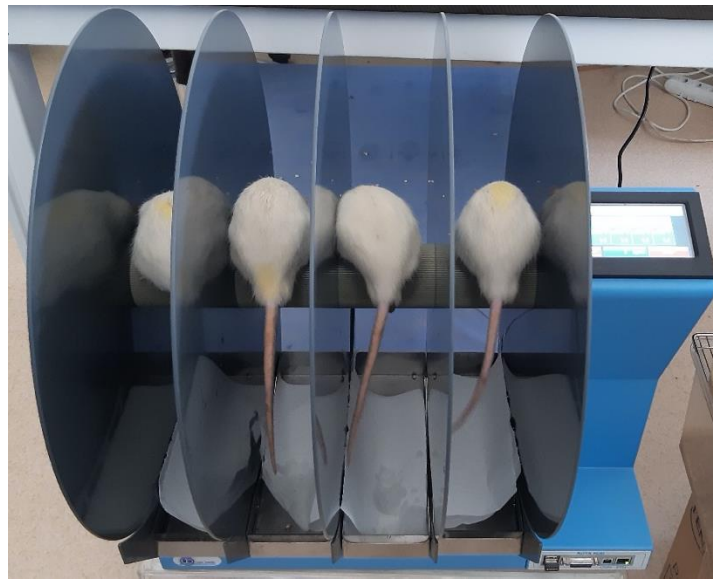
3.4.1.1. Açık alan (open field) testi

Open field test düzeneği 100 x 100 cm boyutlarında ve 35 cm yüksekliğinde, gri renkli, pleksiglas malzemeden yapılmış kare şeklinde bir alandan oluşmaktadır. Deney hayvanlarının lokomotor etkinliklerinin gözlemlenebileceği bir test düzeneğidir. Düzenek yazılım aracılığı ile 16 eşit kareye bölünmüştür ve merkezi alan 4 adet merkezi kareye karşılık gelmektedir. Deneyler saat 9:00-15:00 aralığında loş ışık (40 lüks) koşulları altında gerçekleştirildi. Hayvanların davranışları test düzeneğinin tavanına yerleştirilmiş bilgisayara bağlı bir video kamera ile kaydedildi (Şekil 3.6). Davranış parametrelerinin kayıt ve analizinde bir nesne takip

yazılımı (ANY-Maze Video Tracking System, Stoelting Europe, Dublin, Ireland) kullanıldı. Her bir sıçan open field test düzeneğine önceden belirlenmiş bir köşeden bırakıldıktan sonra 5 dakika süre ile davranışları kaydedildi. Kat edilen toplam mesafe lokomotor aktivitenin bir ölçüsü olarak kullanıldı. Merkezi alana giriş sayısı, bu alanda geçirilen süre ve defekasyon sayısı ise anksiyete davranışına ilişkin bir gösterge olarak kabul edildi. (300, 309, 310). Test düzeneği her bir deney sonrası %30'luk alkol ile temizlendi.

3.4.1.2. Rotarod testi

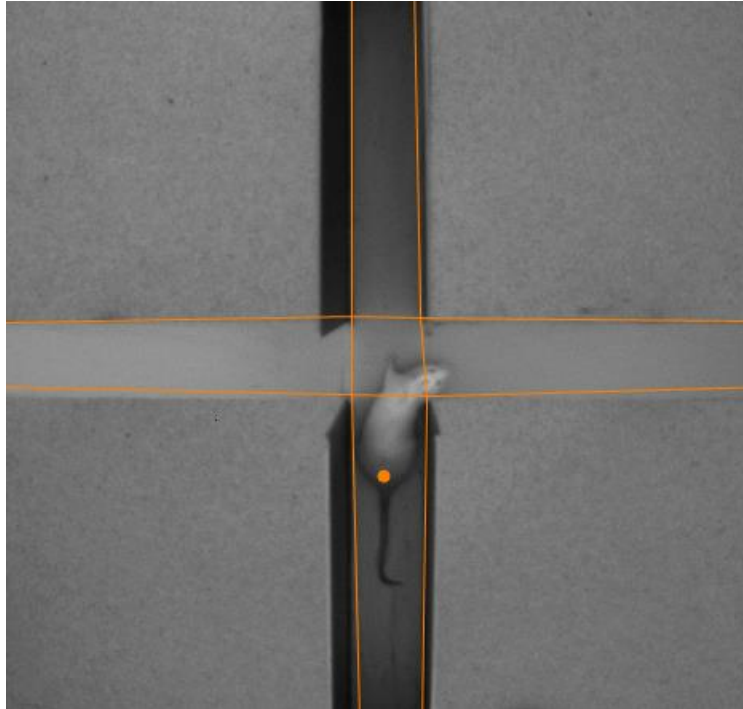
Hayvanların zorlu motor aktivite ve denge performansları rotarod testi kullanılarak değerlendirildi. Rotarod test aparatı, kendi etrafında ayarlanabilir hızlarda dönen silindirik bir milden oluşmaktadır (Şekil 3.7). Rotarod testi iki aşamada gerçekleştirildi. Habitüasyon aşaması olan birinci aşamada 4 adet sıçan 1 dakika süreyle 5 RPM hızında rotarod aparatına alıştırıldı ve bu işlem 10 dakika aralıklarla 3 kez tekrarlandı. İkinci aşama olan test aşamasında 4 adet sıçan 5 RPM hızla hareket eden rotarod aparatına yerleştirildikten sonra hız kademeli olarak 300 saniyede 40 RPM'e çıkacak şekilde ayarlanarak sıçanların dönen silindirik platformdan zemine düşme latensleri kaydedildi (195, 300). Platform üzerinde kalan sıçanlar için 300. saniyede test sonlandırılarak düşme latensi 300 saniye olarak kabul edildi. Test aşaması 15 dakikalık aralıklarla üç kez tekrarlandı ve rotarod aparatının tüm kısımları her testten sonra %30'luk alkol ile temizlendi.



Şekil 3.7: Rotarod testi

3.4.1.3. Yükseltilmiş artı labirent (elevated plus maze) testi

Yükseltilmiş artı labirent testi, deney hayvanlarında anksiyete düzeyini ölçmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Bu test yöntemi, deney hayvanının açık alanlardan kaçınmasına dayanmaktadır. Anksiyete düzeyi, hayvanın kapalı kollarda daha fazla zaman geçirmesiyle ifade edilmektedir. Yükseltilmiş artı labirent düzeneği gri renkli pleksiglas malzemeden yapılmış, ikisi açık ikisi kapalı olmak üzere yerden 60 cm yükseklikte artı biçiminde 4 koldan oluşan bir alettir. Bu kolların her birinin genişliği 10 cm ve uzunluğu 50 cm'dir. Kapalı kolların duvar yüksekliği 40 cm'dir. Açık koridorun merkezdeki 4 kolun kesiştiği bölüm dahil toplam uzunluğu 110 cm'dir. Kapalı kol aktivitesindeki artış (süre ve/veya girişler) anksiyete düzeyindeki artışa, açık kol aktivitesindeki artış (süre ve/veya girişler) ise anksiyete düzeyindeki azalmaya işaret eder. (311, 312). Yükseltilmiş artı labirent düzeneğinde test edilen hayvanın davranışları, tavanına yerleştirilen bir kamera yardımıyla bir nesne takip yazılımı (ANY-Maze Video Tracking System, Stoelting Europe, Dublin, Ireland) kullanılarak izlendi ve kaydedildi (Şekil 3.8). Sıçan labirentin dört kolunun birleşme noktasına, önceden tespit edilen açık bir kola bakacak şekilde yerleştirilerek her bir kola giriş sayısı ve kollarda geçirilen süre 300 saniye süreyle ANY-Maze yazılımı ile otomatik olarak tespit edildi. Test düzeneği her bir uygulama sonrası %30'luk alkol ile temizlendi.

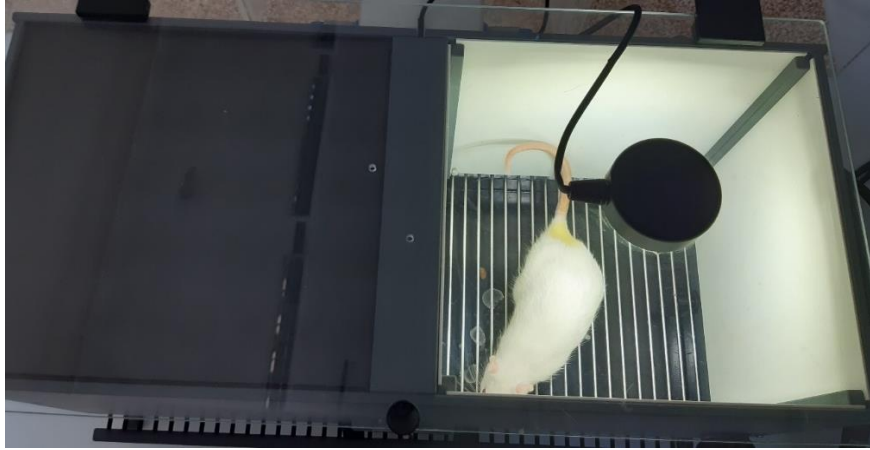


Şekil 3.8: Yükseltilmiş artı labirent testi

3.4.2. Öğrenme ve Hafızaya İlişkin Davranış Testleri

3.4.2.1. Pasif sakınma (passive avoidance) testi

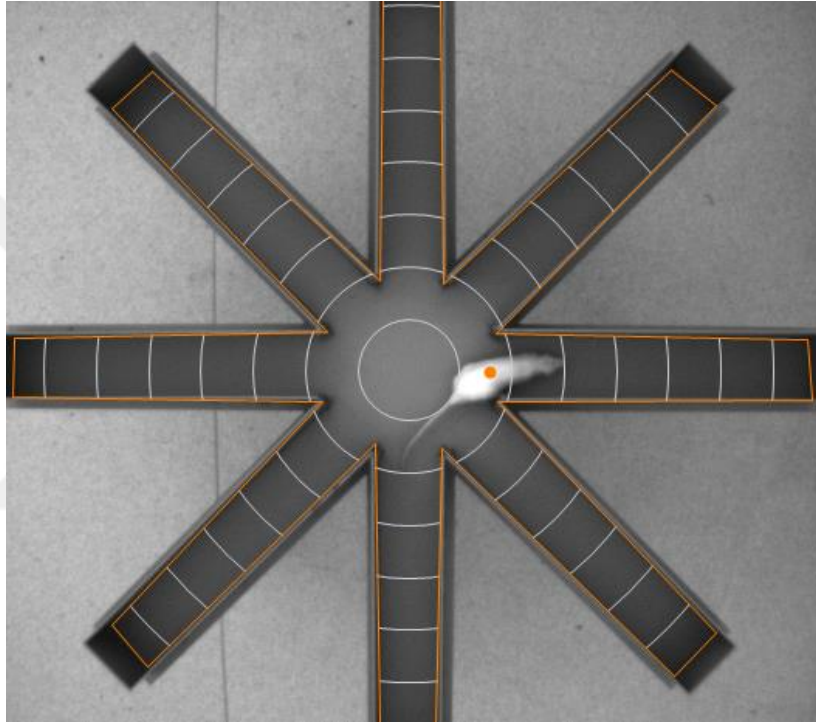
Pasif sakınma düzeneği korkuya dayalı hafızayı incelemeye yarayan bir davranış testi cihazıdır (40552 Passive Avoidance - Step Through, Ugo Basile, Italy). Cihaz beraberindeki bir bilgisayarda yer alan yazılım yardımı ile programlandı ve aşağıda sıralanan test aşamalarının tamamı otomatik olarak gerçekleştirildi. Düzenek aydınlık bir bölüm ve sürgülü bir kapı ile aydınlık bölüme açılan bir karanlık bölümden oluşmaktadır (Şekil 3.9). Aydınlık bölüm ışığı geçiren şeffaf bir malzemeden yapılmış olup zemin yukarıya yerleştirilmiş bir ışık kaynağı ile aydınlatılmaktadır. Karanlık bölümde zeminden 2 cm yüksek, 1 cm aralıklarla yerleştirilmiş, 3 mm çapında paslanmaz çelikten yapılmış bir ızgara bulunmaktadır. Bu ızgarayla bağlantılı olan ve kontrol ünitesi olarak kullanılan bilgisayar ile bütünleşik haldeki stimülatörden yazılım aracılığı ile hayvanlara ayaklarından belirlenen şiddet ve sürelerde akım verildi. Test iki günlük bir uygulama dönemini kapsamaktadır. Birinci gün yapılan öğrenme denemesinde (training test) sıçan düzeneğin aydınlık bölümüne yerleştirildikten sonra iki bölümü ayıran sürgülü kapak otomatik olarak açıldı ve sıçan karanlık bölüme tamamen geçtiğinde sürgülü kapak yine otomatik olarak kapanadıktan sonra 3 saniye süreyle hayvanın ayaklarına stimülatör vasıtasıyla elektrik akımı uygulandı.



Şekil 3.9: Pasif sakınma testi

Öğrenme denemesinden 24 saat sonra yapılan test (retention test) ile tekrar aydınlık bölüme yerleştirilen sıçanlar 300 saniye boyunca gözlemlendi. Hem öğrenme hem de test aşamaları tüm deneklere uygulandı. Her iki test aşamasında sıçanın ilk defa karanlık bölüme

geçiş zamanı kaydedildi. Test aşamasındaki kapalı bölüme geçiş zamanı sakınma latensi olarak belirlendi (313, 314). Her işlem sonrası bir önceki hayvanın kokusu ile zemindeki defekasyon ve ürinasyon kalıntılarını uzaklaştırmak için tüm düzenek %30'luk etil alkolle silindi. Testleri yürüten araştırmacılar ses, parfüm kokusu vb. hayvan davranışını etkileyebilecek faktörlere azami düzeyde özen gösterdi. Hayvanın kafese konulması ve geri alınması dışındaki tüm test süreçler kontrol ünitesindeki yazılım üzerinden programlandı ve veri otomatik olarak kaydedildi (40550-010 Software for Passive Avoidance Test, Ugo Basile, Italy).



Şekil 3.10: Sekiz kollu ışınsal labirent testi

3.4.2.2. Sekiz kollu ışınsal labirent (radyal arm maze) testi

Radyal arm maze test düzeneği spasyal (mekânsal) öğrenme ve hafıza sürecinin değerlendirilmesinde kullanılan sekiz kollu ışınsal labirentten oluşmaktadır (Şekil 3.10). Deney habitüasyon, öğrenme ve test olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmektedir. Habitüasyon aşamasında sıçan 10 dakika süreyle düzeneğe bırakılarak alışması sağlandı. Bu aşamanın ardından sıçanlarda yem kısıtlamasına gidildi ve ertesi gün yapılan öğrenme seansında, sekiz koldan sadece birinin son bölümüne yem yerleştirilerek diğer kolların sürgülü kapakları kapatıldı. Sıçanın 10 dakika süreyle yem bulunan kola serbestçe giriş çıkışına ve beslenmesine

müsaade edildi. Sıçanların bu aşamadan 24 saat sonra uygulanan test aşamasında tüm kollara serbestçe erişmelerine imkân tanındı ve hayvan düzeneğe bırakılarak bir gün önce yem bulunan kolu bulma latensi ve bu süre içerisinde diğer kollara yaptığı hatalı giriş sayıları tespit edildi (309, 314). Her test sonrası bir önceki hayvanın kokusu, zemindeki defekasyon ve ürinasyon kalıntılarını uzaklaştırmak için tüm düzeneğe %30'luk etil alkolle silindi. Diğer taraftan testleri yürüten araştırmacılar ses, parfüm kokusu vb. hayvan davranışını etkileyebilecek faktörlere azami düzeyde özen gösterdi. Hayvanların test düzeneğine bırakılması ve geri alınması dışındaki tüm davranış parametrelerinin kayıt ve analizinde nesne takip yazılımı (ANY-Maze Video Tracking System, Stoelting Europe, Dublin, Ireland) kullanıldı.

3.4.3. Ağrıya İlişkin Davranış Testleri

3.4.3.1. Dinamik plantar test

Mekanik ağrı eşiği, dinamik plantar test düzeneği veya diğer adıyla kalibre edilmiş elektronik Von Frey düzeneği (Dynamic plantar anesthesiometer, model 37450, Ugo Basile, Varese, Italy) kullanılarak ayak geri çekme eşiği ölçülerek değerlendirildi (315). Sıçanlar zemini metal bir ızgaradan oluşan pleksiglas gözlem kafeslerinin içerisine yerleştirildi. Ortama alışmaları için 10 dakika süreyle pleksiglas kafeslerde bekletildikten sonra her bir denekten 5 dakika aralıklarla sağ arka ayağından 3 ölçüm alındı. Mekanik uyaran 0,5 mm çapında paslanmaz çelik bir filamentin hayvanın arka ayağına lineer olarak artan (2,5 gr/saniye) bir kuvvette uygulanması ile gerçekleştirildi (20 saniyede 0-50 gram olacak şekilde). Ayak geri çekme latensi ve uygulanan kuvvet yaklaşık 0,1 gram hassasiyetle cihaz tarafından otomatik olarak kaydedildi. Elde edilen 3 ayrı ayak geri çekme yanıtının ortalaması alınarak ayak geri çekme eşiği belirlendi. Mekanik uyarıya karşı oluşabilecek herhangi bir doku hasarını önlemek için eşik değeri 50 gram olarak belirlendi. Test düzeneği her bir uygulama sonrası %30'luk alkol ile temizlendi.

3.4.3.2. Termal plantar test

Termal ağrı eşiğini ve termal nosiseptif duyarlılığı değerlendirmek için Hargreaves testi kullanıldı (316). Termal ayak geri çekme latensi, plantar test cihazı (Plantar Test Instrument, model 37370, Ugo Basile, Varese, Italy) kullanılarak tespit edildi. Sıçanlar teste başlamadan 10 dakika önce şeffaf bir zemine sahip plantar test cihazının pleksiglas bölmelerine yerleştirildi

(Şekil 3.11). Test, şeffaf zeminin altında yer alan hareketli bir kızılötesi radyasyon kaynağının ayak geri çekme latensini saptamak için hayvanın sağ arka ayağının plantar yüzeyine odaklanması ve ısı uygulaması ile gerçekleştirildi. Geri çekme latensi yaklaşık 0,1 saniyelik hassasiyete sahip dijital zamanlayıcı ile otomatik olarak belirlendi. Normal lokomotor davranıştan kaynaklanan ayak geri çekme hesaplama dahil edilmedi. Aynı denekten 5 dakika aralıklarla 3 ölçüm alındı ve analizlerde bu ölçümlerin ortalaması kullanıldı. Potansiyel doku hasarını önlemek için, ısı kaynağının maksimal uygulanma süresi 20 saniye olarak ayarlandı. Test düzeneği her bir uygulama sonrası %30'luk alkol ile temizlendi.



Şekil 3.11: Termal plantar test düzeneği

3.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

PTE'ye ilişkin nöbet parametreleri ve davranış testlerinden elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS v22.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile belirlendi. Veriler normal dağılıma uymadığı için gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis varyans analizi sonrası ikili karşılaştırmalar için Mann Whitney U testi ile yapıldı. Grup içi farklı zaman dilimlerinde elde edilen verilere yönelik bağımlı karşılaştırmalar için Friedman testi ile varyans analizi yapıldıktan sonra Wilcoxon testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde ifade edildi. İstatistiksel analizin sonuçlarına yönelik olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

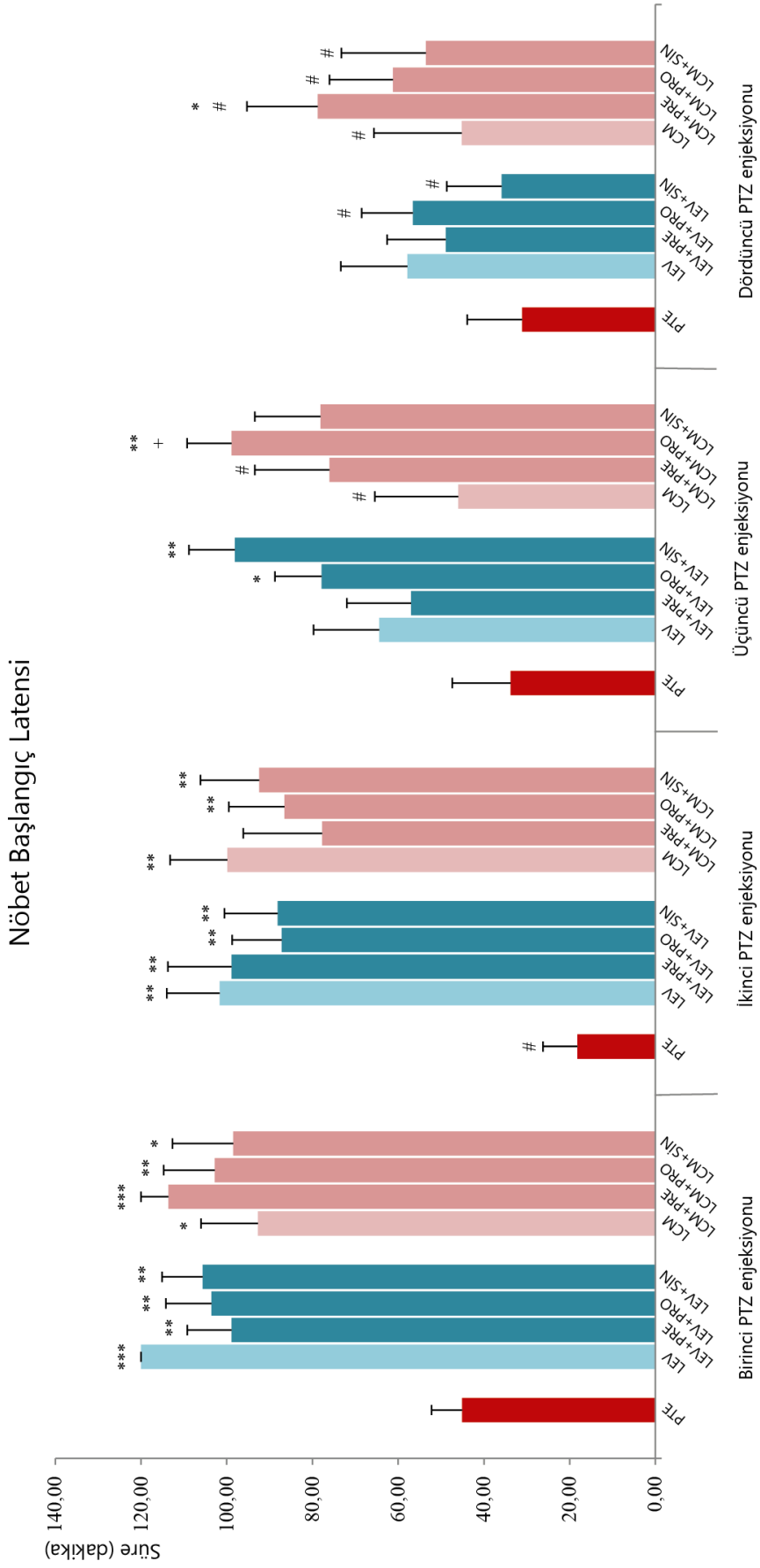
Deney hayvanlarına ağırlık düşürme modeli ile kapalı kafa travması oluşturulup elektrotların takılmasından 1 hafta sonra başlamak üzere birer hafta arayla toplam 4 kez PTZ ve her gün tedavi modaliteleri uygulandı. Hayvanların PTZ uygulamasından sonraki nöbet şiddetleri, toplam nöbet süreleri, nöbet frekansları, nöbet başlangıç latensleri ve uygulanan PTZ dozları kaydedildi. PTZ uygulamaları bittikten sonra tedaviler devam ederken davranış testleri gerçekleştirildi ve deneklerin lokomotor aktivitesi, zorlu motor aktivitesi, anksiyete düzeyi, öğrenme-hafıza performansı ve ağrı düzeylerine yönelik veriler elde edildi.

4.1. NÖBET PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

4.1.1. Nöbet Başlangıç Latenslerinin Karşılaştırılması

28 günlük deney sürecinde 1 hafta arayla toplam 4 kez PTZ uygulanan hayvanların PTZ uygulamasından sonra Racine 4/5 düzeyinde oluşan ilk nöbetin başlangıç zamanına kadar geçen süre dakika cinsinden “nöbet başlangıç latensi” olarak kabul edildi. Birinci enjeksiyon sonrasında PTE, LEV, LEV+PRE, LEV+PRO, LEV+SİN, LCM, LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında nöbet başlangıç latensi ortalamaları ($\pm$ SEM) sırasıyla 45 ± 7 , 120 ± 0 , 98 ± 10 , 103 ± 10 , 105 ± 9 , 92 ± 13 , 113 ± 6 , 102 ± 11 ve 98 ± 14 dk; ikinci enjeksiyon sonrasında sırasıyla 18 ± 8 , 101 ± 12 , 98 ± 14 , 87 ± 11 , 88 ± 12 , 99 ± 13 , 77 ± 18 , 86 ± 13 ve 92 ± 13 dk; üçüncü enjeksiyon sonrasında sırasıyla 33 ± 13 , 64 ± 15 , 57 ± 14 , 77 ± 10 , 98 ± 10 , 46 ± 19 , 76 ± 17 , 98 ± 10 ve 78 ± 15 dk; dördüncü enjeksiyon sonrasında ise sırasıyla 31 ± 12 , 57 ± 15 , 48 ± 13 , 56 ± 11 , 35 ± 12 , 45 ± 20 , 78 ± 16 , 61 ± 14 ve 53 ± 19 dakika olduğu tespit edildi.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda nöbet başlangıç latenslerinde PTE’ye göre LEV grubunda birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,01$), LEV+PRE grubunda da birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde uzama ($p<0,01$), LEV+PRO grubunda birinci, ikinci ve üçüncü PTZ enjeksiyonları sonrasında anlamlı düzeyde artış (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,01$ ve $p<0,05$), LEV+SİN grubunda birinci, ikinci ve üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış ($p<0,01$); LCM grubunda birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$), LCM+PRE grubunda birinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,05$), LCM+PRO grubunda birinci, ikinci ve üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış ($p<0,01$) ve LCM+SİN grubunda ise birinci



Şekil 4.1: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin nöbet başlangıç latenslerine etkisi (PTE grubuna göre * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; aynı grubun birinci PTZ enjeksiyonuna göre # $p < 0,05$; ilgili antiepileptik monoterapi grubuna göre + $p < 0,05$)

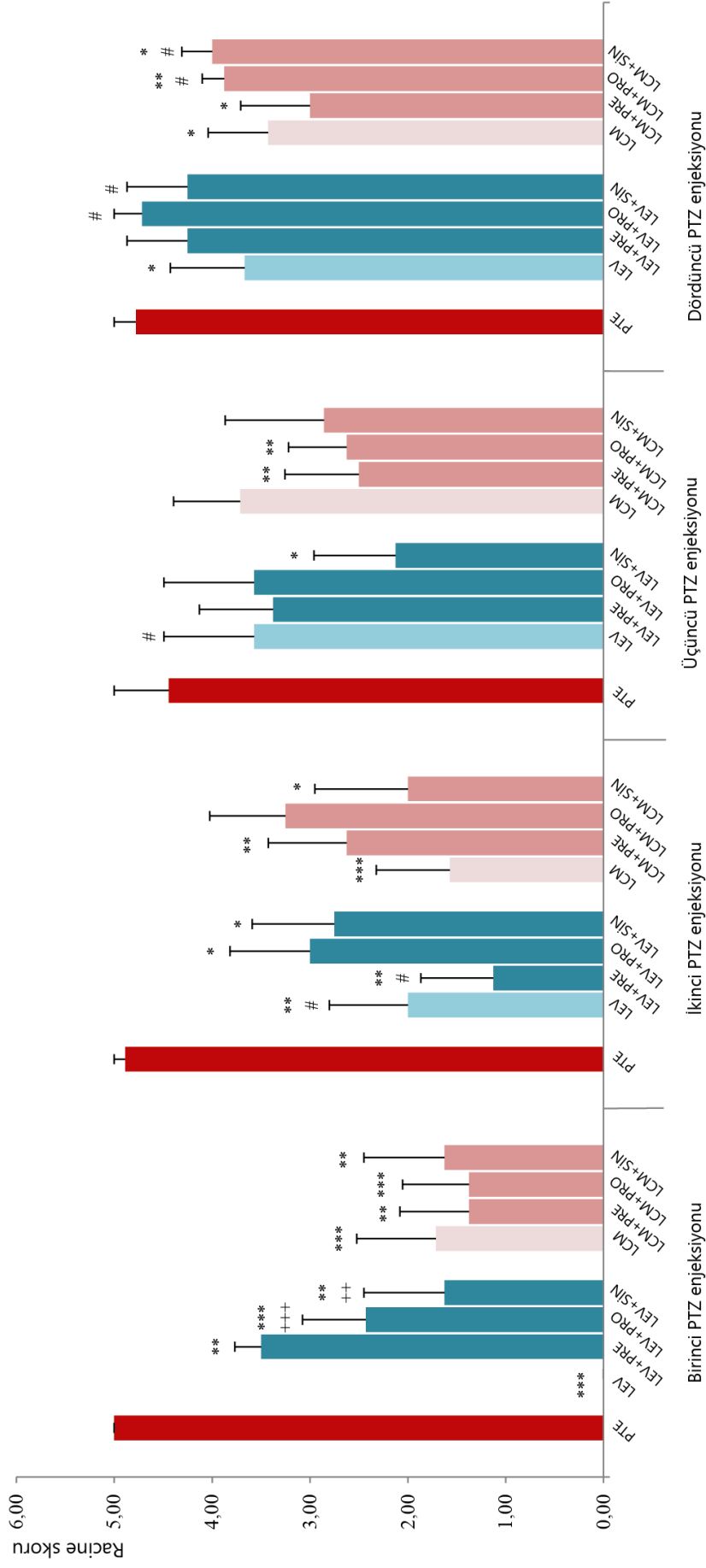
ve ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.1). Antiepileptik + pre/pro/sinbiyotik kombinasyonu uygulanan gruplara ait verilerin ilgili antiepileptik monoterapi uygulanan grubun verileri ile yapılan karşılaştırmalarında ise sadece LCM+PRO grubunda LCM grubuna göre üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde artış ($p<0,05$) saptandı (Şekil 4.1). İkinci, üçüncü ve dördüncü PTZ uygulama günlerindeki nöbet başlangıç latenslerinin birinci uygulama gününe göre yapılan grup içi karşılaştırmaları incelendiğinde PTE grubunda ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında latensin anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0,05$), LEV ve LEV+PRE gruplarında üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında latenslerin anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0,05$), LEV+PRO, LEV+SİN, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında ise sadece dördüncü PTZ uygulaması sonrasında latenslerin anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0,05$) belirlendi (Şekil 4.1).

4.1.2. Nöbet Şiddetlerinin Karşılaştırılması

Deney sürecinde toplam 4 kez uygulanan PTZ sonrasında yapılan gözlem ile deneklerin geçirdiği nöbetlerin şiddetleri modifiye edilmiş Racine düzeylerine göre skorlandı. Elde edilen verilere göre birinci PTZ enjeksiyonu sonrasında PTE, LEV, LEV+PRE, LEV+PRO, LEV+SİN, LCM, LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında nöbet şiddeti ortalamalarının ($\pm$ SEM) sırasıyla 5 ± 0 , 0 ± 0 , $3,5\pm0,2$, $2,4\pm0,6$, $1,6\pm0,8$, $1,7\pm0,8$, $1,3\pm0,7$, $1,3\pm0,6$ ve $1,6\pm0,8$; ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında sırasıyla $4,8\pm0,1$, $2\pm0,8$, $1,1\pm0,7$, $3\pm0,8$, $2,7\pm0,8$, $1,5\pm0,7$, $2,6\pm0,8$, $3,2\pm0,7$ ve $2\pm0,9$; üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında sırasıyla $4,4\pm0,5$, $3,5\pm0,9$, $3,3\pm0,7$, $3,5\pm0,9$, $2,1\pm0,8$, $3,7\pm0,6$, $2,5\pm0,7$, $2,6\pm0,5$ ve $2,8\pm1$; dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında sırasıyla $4,7\pm0,2$, $3,6\pm0,7$, $4,2\pm0,6$, $4,7\pm0,2$, $4,2\pm0,6$, $3,4\pm0,6$, $3\pm0,7$, $3,8\pm0,2$ ve $4\pm0,3$ düzeyinde olduğu belirlendi.

Yapılan istatistiksel analiz sonrasında nöbet şiddetlerinde PTE'ye göre LEV grubunda birinci, ikinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,01$ ve $p<0,05$), LEV+PRE grubunda birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma ($p<0,01$), LEV+PRO grubunda birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,05$), LEV+SİN grubunda birinci, ikinci ve üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,05$ ve $p<0,05$); LCM grubunda birinci, ikinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p<0,05$), LCM+PRE grubunda tüm PTZ

Nöbet Şiddeti



Şekil 4.2: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin nöbet şiddetine etkisi (PTE grubuna göre * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; aynı grubun birinci PTZ enjeksiyonuna göre # $p < 0,05$; ilgili antiepileptik monoterapi grubuna göre + $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$, +++ $p < 0,001$)

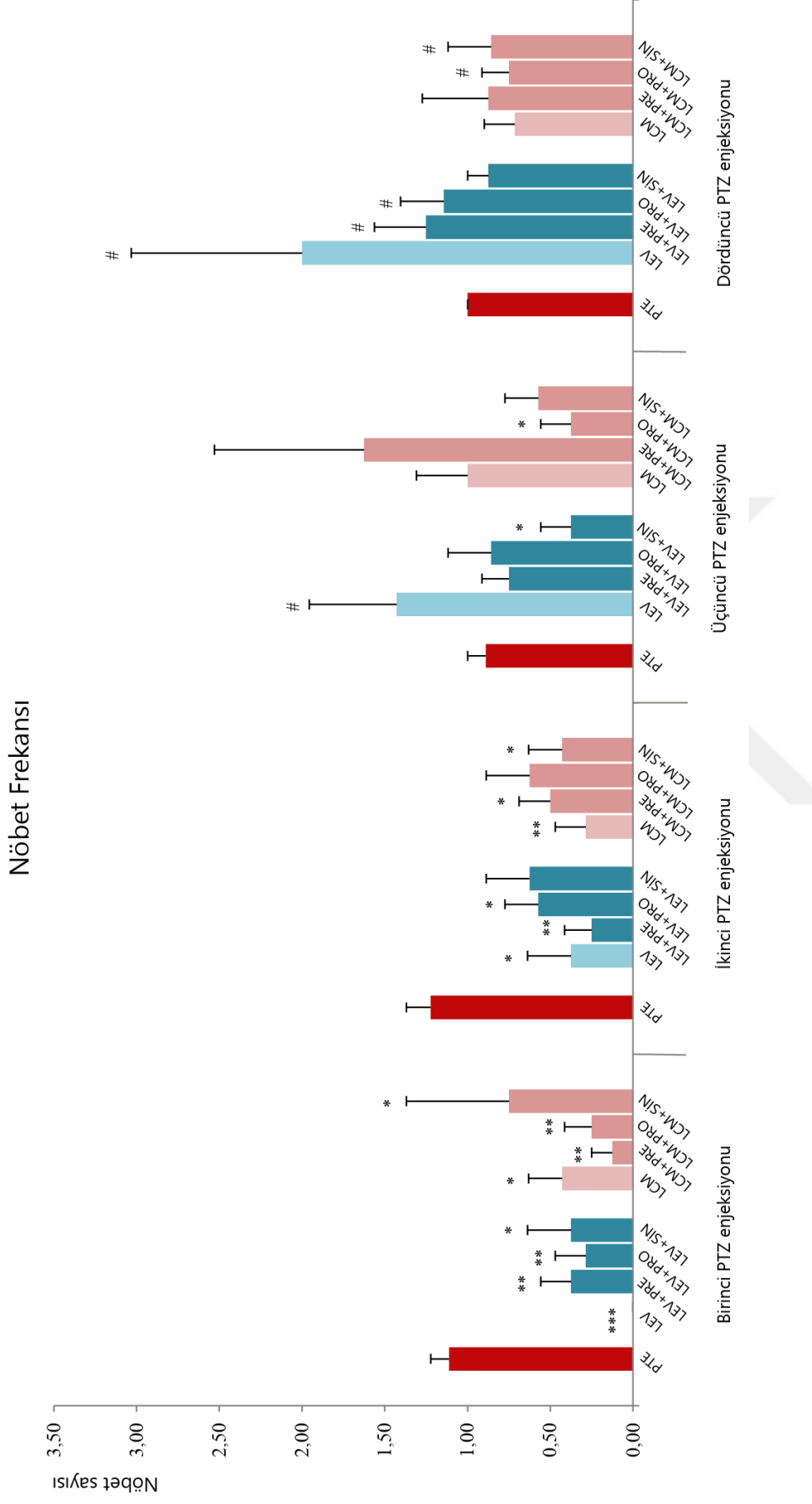
enjeksiyonları sonrasında anlamlı düzeyde azalma (ilk 3 uygulama için $p<0,01$, son uygulama için $p<0,05$), LCM+PRO grubunda birinci, üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,01$ ve $p<0,01$) ve LCM+SİN grubunda ise birinci, ikinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,05$ ve $p<0,05$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.2).

Antiepileptik + pre/pro/sinbiyotik kombinasyonu uygulanan gruplar ile bu grupların antiepileptik monoterapi uygulanan grupları karşılaştırıldığında sadece LEV+PRE ve LEV+PRO gruplarında LEV grubuna göre birinci PTZ enjeksiyonu sonrasında nöbet şiddetinin anlamlı düzeyde arttığı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,01$) ve diğer gruplar arasında bir fark olmadığı saptandı (Şekil 4.2). İkinci, üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyon günlerindeki nöbet şiddetlerinin birinci güne göre grup içi karşılaştırmaları incelendiğinde LEV grubunda ikinci ve üçüncü enjeksiyon sonrasında; LEV+PRE grubunda ikinci enjeksiyon sonrasında; LEV+PRO, LEV+SİN, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında ise dördüncü enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde artış ($p<0,05$) gösterdiği görüldü (Şekil 4.2).

4.1.3. Nöbet Frekanslarının Karşılaştırılması

Her PTZ uygulamasından sonra yapılan 2 saatlik gözlemde Racine 4/5 düzeyinde görülen tüm nöbetlerin sayısı “nöbet frekansı” olarak kaydedildi. Birinci PTZ enjeksiyonu sonrasında PTE, LEV, LEV+PRE, LEV+PRO, LEV+SİN, LCM, LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında nöbet frekansı ortalamalarının ($\pm$ SEM) sırasıyla $1,1\pm0,1$, 0 ± 0 , $0,3\pm0,1$, $0,2\pm0,1$, $0,3\pm0,2$, $0,4\pm0,2$, $0,1\pm0,1$, $0,2\pm0,1$ ve $0,7\pm0,6$; ikinci PTZ enjeksiyonu sonrasında sırasıyla $1,2\pm0,1$, $0,3\pm0,2$, $0,2\pm0,1$, $0,5\pm0,2$, $0,6\pm0,2$, $0,2\pm0,1$, $0,5\pm0,1$, $0,6\pm0,2$ ve $0,4\pm0,2$; üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında sırasıyla $0,8\pm0,1$, $1,4\pm0,5$, $0,7\pm0,1$, $0,8\pm0,2$, $0,3\pm0,1$, $1\pm0,3$, $1,6\pm0,9$, $0,3\pm0,1$ ve $0,5\pm0,2$; dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında 1 ± 0 , 2 ± 1 , $1,2\pm0,3$, $1,1\pm0,1$, $0,8\pm0,1$, $0,7\pm0,1$, $0,8\pm0,3$, $0,7\pm0,1$ ve $0,8\pm0,2$ olduğu görüldü.

Nöbet frekansı verileri istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde PTE grubuna göre LEV grubunda birinci ve ikinci enjeksiyon sonrasında nöbet frekansında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,05$), LEV+PRE grubunda birinci ve ikinci enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde azalma ($p<0,01$), LEV+PRO grubunda birinci ve ikinci enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$), LEV+SİN grubunda birinci ve üçüncü enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$); LCM grubunda birinci ve ikinci enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$), LCM+PRE



Şekil 4.3: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin nöbet frekansına etkisi (PTE grubuna göre * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; aynı grubun birinci PTZ enjeksiyonuna göre # $p < 0,05$)

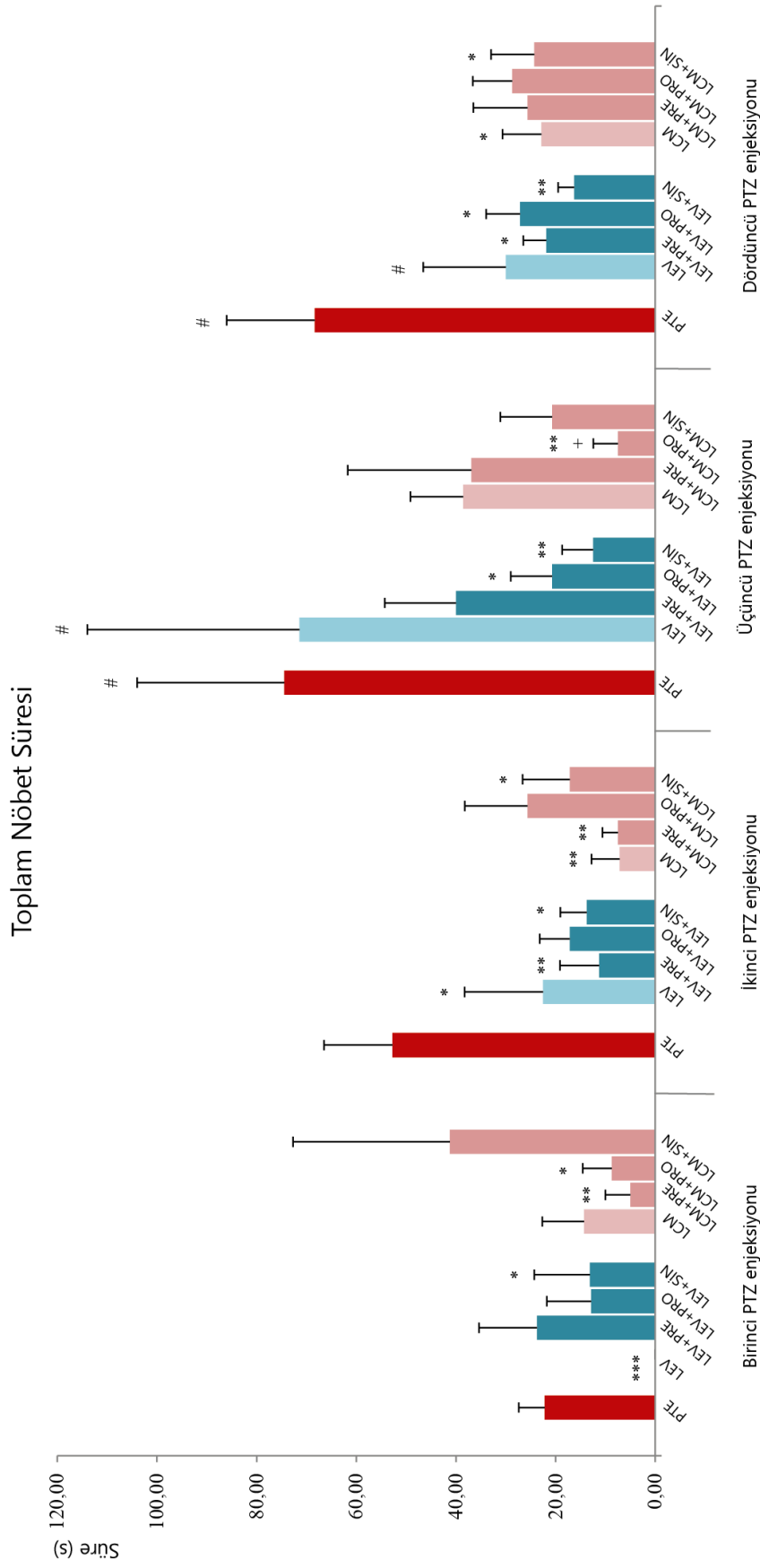
grubunda birinci ve ikinci enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$), LCM+PRO grubunda birinci ve üçüncü enjeksiyon sonrasında anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$) ve LCM+SİN grubunda ise birinci ve ikinci enjeksiyonlar sonrasında anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$) olduğu saptandı (Şekil 4.3).

Antiepileptik + pre/pro/sinbiyotik kombinasyonu verilen gruplar ile sadece antiepileptik monoterapi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. İkinci, üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyon günlerindeki nöbet frekanslarının birinci güne göre yapılan grup içi karşılaştırmaları incelendiğinde LEV grubunda üçüncü ve dördüncü enjeksiyon sonrasında; LEV+PRE, LEV+PRO, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında ise dördüncü enjeksiyon sonrasında nöbet frekansında anlamlı düzeyde artış ($p<0,05$) olduğu görüldü (Şekil 4.3).

4.1.4. Toplam Nöbet Sürelerinin Karşılaştırılması

PTZ enjeksiyonlarından sonra deneklerin 2 saat boyunca geçirdiği 4/5 düzeyindeki tüm nöbetlerin toplam süresi saniye cinsinden kaydedildi ve “toplam nöbet süresi” verisi olarak değerlendirildi. Toplam nöbet süresi ortalamalarının ($\pm$ SEM) birinci PTZ enjeksiyonundan sonra PTE, LEV, LEV+PRE, LEV+PRO, LEV+SİN, LCM, LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında sırasıyla 22 ± 5 , 0 ± 0 , 23 ± 11 , 12 ± 8 , 13 ± 11 , 14 ± 8 , 5 ± 5 , 8 ± 5 ve 41 ± 31 sn; ikinci PTZ enjeksiyonundan sonra 52 ± 13 , 22 ± 15 , 11 ± 7 , 17 ± 6 , 13 ± 5 , 7 ± 5 , 7 ± 3 , 25 ± 12 ve 17 ± 9 sn; üçüncü PTZ enjeksiyonundan sonra 74 ± 29 , 71 ± 42 , 40 ± 14 , 20 ± 8 , 12 ± 6 , 38 ± 10 , 36 ± 24 , 7 ± 4 ve 20 ± 10 sn; dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra 68 ± 17 , 30 ± 16 , 21 ± 4 , 27 ± 6 , 16 ± 3 , 22 ± 7 , 25 ± 10 , 28 ± 7 ve 24 ± 8 saniye olduğu belirlendi.

Toplam nöbet süreleri istatistiksel açıdan incelendiğinde PTE grubuna göre LEV grubunda birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonunda toplam nöbet süresinde anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,05$), LEV+PRE grubunda ikinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$), LEV+PRO grubunda üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$), LEV+SİN grubunda tüm PTZ enjeksiyonlarından sonra anlamlı düzeyde azalma (birinci ve ikinci için $p<0,05$, üçüncü ve dördüncü için $p<0,01$); LCM grubunda ikinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$), LCM+PRE grubunda birinci ve ikinci PTZ enjeksiyonundan sonra anlamlı düzeyde azalma ($p<0,01$), LCM+PRO grubunda birinci ve üçüncü PTZ enjeksiyonundan sonra anlamlı düzeyde azalma (sırasıyla $p<0,05$ ve



Şekil 4.4: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin toplam nöbet süresine etkisi (PTE grubuna göre * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; aynı grubun birinci PTZ enjeksiyonuna göre # $p < 0,05$; ilgili antiepileptik monoterapi grubuna göre + $p < 0,05$)

$p<0,01$) ve LCM+SİN grubunda ikinci ve dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$) olduğu görüldü (Şekil 4.4).

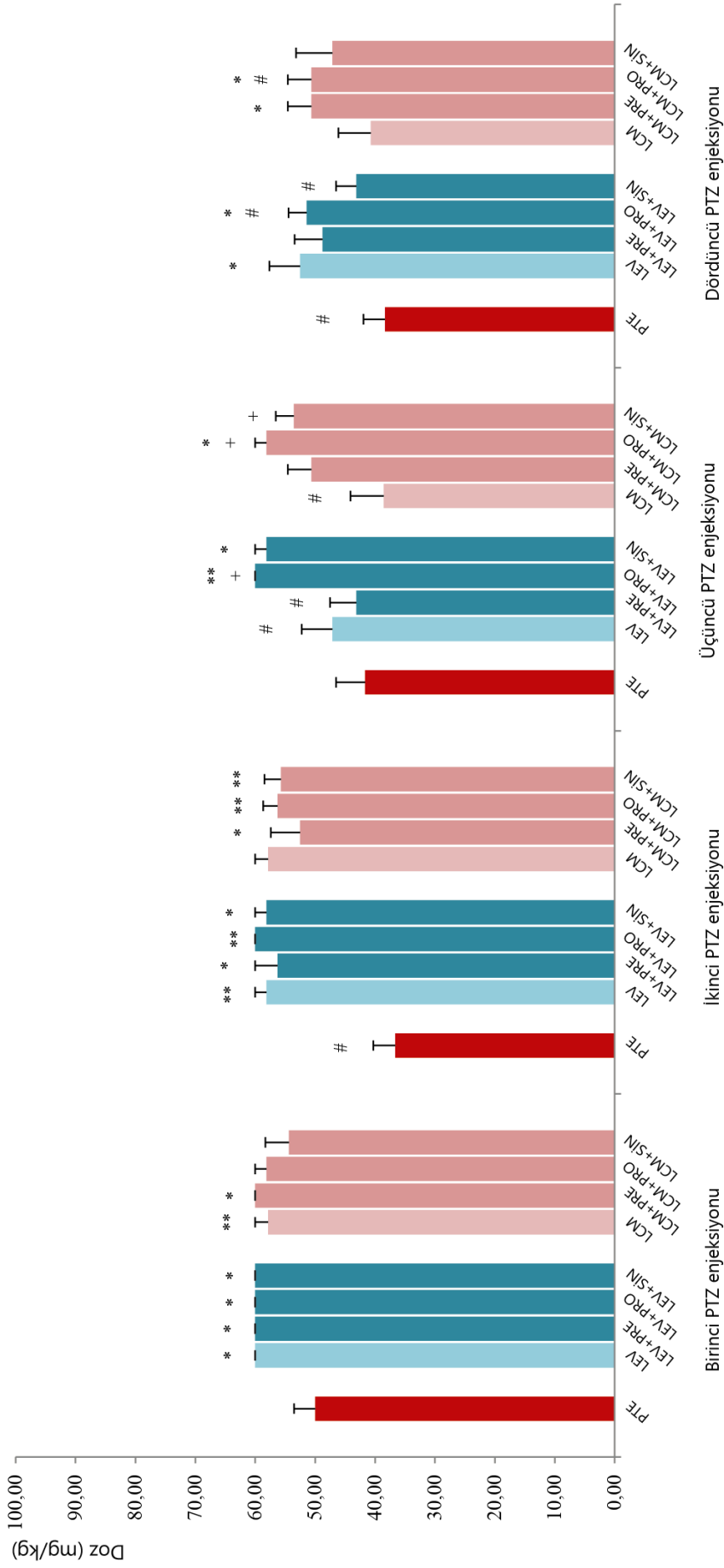
Antiepileptik + pre/pro/sinbiyotik kombinasyonu uygulanan gruplar ile sadece LEV ya da LCM şeklinde ilgili monoterapi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında yalnızca LCM grubuna göre LCM+PRO grubunda üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrası toplam nöbet süresinde anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.4). İkinci, üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyon günlerindeki toplam nöbet sürelerinin birinci gün nöbet süresine göre grup içi karşılaştırmaları incelendiğinde sadece PTE ve LEV gruplarında üçüncü ve dördüncü enjeksiyonlar sonrasındaki toplam nöbet süresinde anlamlı düzeyde artış ($p<0,05$) olduğu görüldü (Şekil 4.4).

4.1.5. Uygulanan Toplam PTZ Dozlarının Karşılaştırılması

PTE'yi indüklemek için deneklere birer hafta ara ile toplam 4 kez PTZ uygulandı. Bu uygulama 30 mg/kg şeklinde subkonvülsan dozda yapıldı. Eğer denek 30 mg/kg PTZ uygulandıktan sonra 30 dakika içinde Racine 4/5 düzeyinde bir nöbet geçirmez ise ilave 15 mg/kg PTZ uygulandı. Bu uygulamadan sonra yine 30 dakika içinde nöbet geçirmez ise ikinci ve son kez 15 mg/kg PTZ enjekte edildi. Deneklerin aldığı PTZ dozları sadece 30 mg/kg uygulanan için 30 mg/kg, 30 mg/kg + 15 mg/kg PTZ uygulanan denekler için 45 mg/kg, 30 mg/kg + 15 mg/kg + 15 mg/kg PTZ uygulanan denekler için 60 mg/kg olarak ifade edildi. Birinci PTZ uygulama gününde PTE, LEV, LEV+PRE, LEV+PRO, LEV+SİN, LCM, LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarının aldığı toplam PTZ dozu ortalaması ($\pm$ SEM) sırasıyla $50\pm3,5$, 60 ± 0 , 60 ± 0 , 60 ± 0 , 60 ± 0 , $57,8\pm2,1$, 60 ± 0 , $58,1\pm1,8$ ve $54,3\pm3,9$ mg/kg; ikinci PTZ uygulama gününde sırasıyla $36,6\pm3,6$, $58,1\pm1,8$, $56,2\pm3,7$, 60 ± 0 , $58,1\pm1,8$, $57,8\pm2,1$, $52,5\pm4,9$, $56,2\pm2,4$ ve $55,7\pm2,7$ mg/kg; üçüncü PTZ uygulama gününde sırasıyla $41,6\pm4,8$, $57,1\pm5,1$, $43,1\pm4,4$, 60 ± 0 , $58,1\pm1,8$, $38,5\pm5,5$, $50,6\pm3,9$, $58,1\pm1,8$ ve $53,5\pm3$ mg/kg; dördüncü PTZ uygulama gününde sırasıyla $38,3\pm3,6$, $52,5\pm5,1$, $48,7\pm4,7$, $51,4\pm3$, $43,1\pm3,3$, $40,7\pm5,3$, $50,6\pm3,9$, $50,6\pm3,9$ ve $47,1\pm6$ mg/kg olduğu tespit edildi.

PTE'yi indüklemek için uygulanan toplam PTZ dozları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, PTE grubuna göre LEV grubunda birinci, ikinci ve dördüncü PTZ uygulama günlerinde anlamlı düzeyde daha fazla (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,05$), LEV+PRE grubunda birinci ve ikinci PTZ uygulama günlerinde anlamlı düzeyde daha fazla ($p<0,05$), LEV+PRO grubunda tüm PTZ uygulama günlerinde anlamlı düzeyde daha fazla (bir

Toplam PTZ dozu



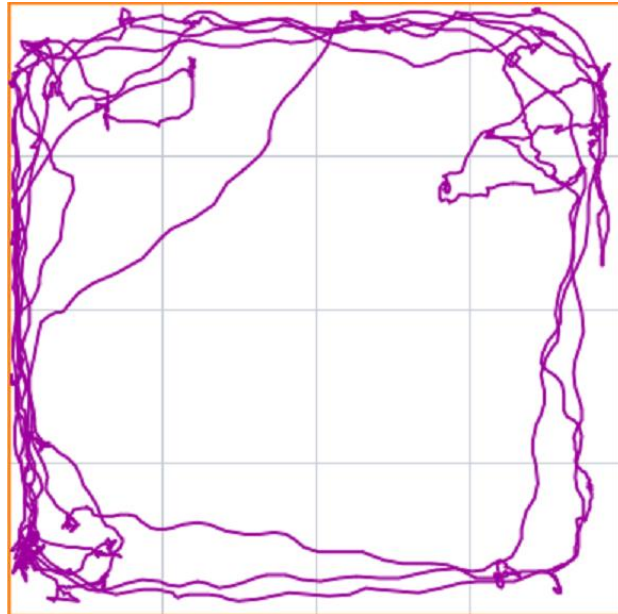
Şekil 4.5: Racine 4/5 düzeyinde nöbet oluşturmak için uygulanan PTZ doz ortalamaları (30+15 mg/kg uygulanan denekler 45, 30+15+15 mg/kg uygulanan denekler 60 olarak hesaba dahil edilmiştir) (PTE grubuna göre * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$; aynı grubun birinci PTZ enjeksiyonuna göre # $p<0,05$; ilgili antiepileptik monoterapi grubuna göre + $p<0,05$)

ve dördüncü uygulama için $p<0,05$, iki ve üçüncü uygulama için $p<0,01$), LEV+SİN grubunda birinci, ikinci ve üçüncü PTZ uygulama günlerinde anlamlı düzeyde daha fazla ($p<0,05$) PTZ dozunun uygulandığı saptandı. PTE grubuna göre LCM grubunda sadece ikinci PTZ uygulama gününde anlamlı düzeyde ($p<0,01$) daha yüksek, LCM+PRE grubunda birinci, ikinci ve dördüncü PTZ uygulama günlerinde anlamlı düzeyde ($p<0,05$) daha yüksek, LCM+PRO grubunda ikinci, üçüncü ve dördüncü PTZ uygulama günlerinde anlamlı düzeyde (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,05$ ve $p<0,05$) daha yüksek ve LCM+SİN grubunda ise sadece ikinci PTZ uygulama gününde anlamlı düzeyde ($p<0,01$) daha yüksek dozda PTZ uygulandığı belirlendi (Şekil 4.5).

4.2. DAVRANIŞ PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

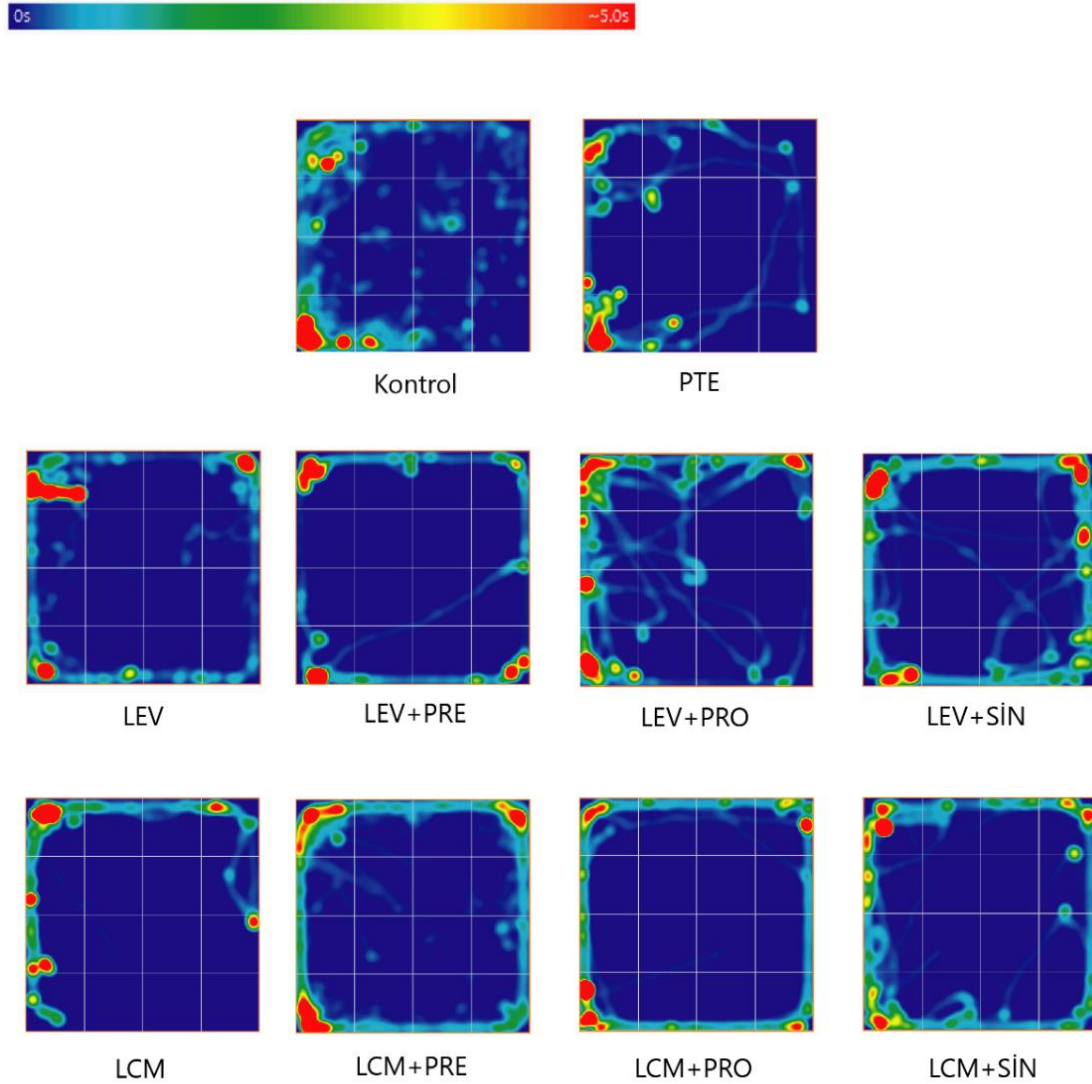
4.2.1. Lokomotor Aktivitelerin Karşılaştırılması

Tez çalışması kapsamında oluşturulan PTE modelinde PTE'nin ve tedavi amaçlı uygulanan ilaç ve takviyelerin lokomotor aktivite üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla açık alan testi yapıldı. Açık alan testinde denekler kamera bağlı görüntü işleme yazılımı (ANY-Maze) ile otomatik olarak takip edildi ve hareket lokasyonları kayıt altına alındı (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Açık alan testinde bir deneğin katettiği mesafe ve güzergah

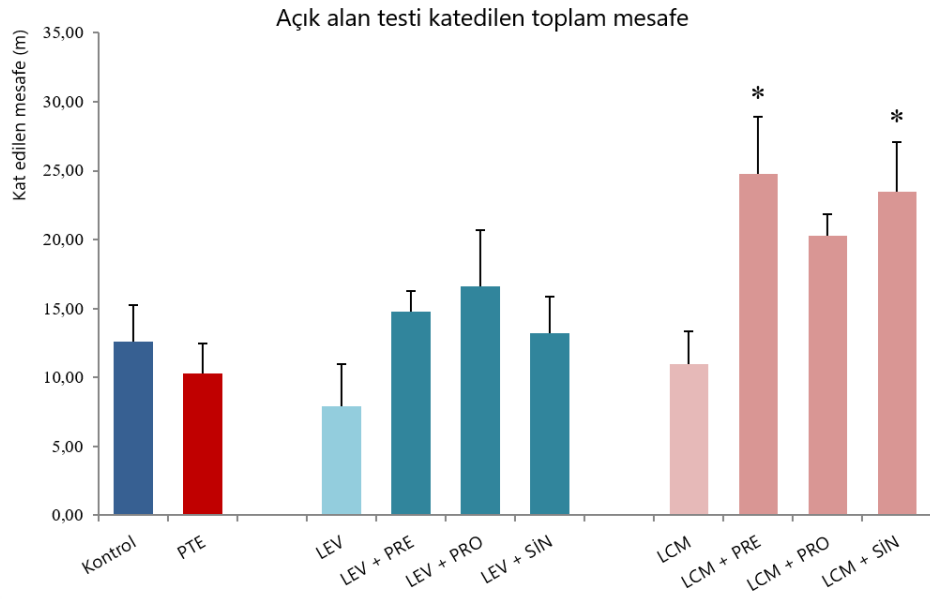
Lokomotor etkinlik hayvanların açık alan testinde katettikleri toplam mesafe, merkez karelere giriş sayısı ve şaşlanma sayıları ile belirlendi. Bu parametreler ANY-Maze yazılımı ile otomatik olarak skorlandı. 300 saniyelik test sırasında yoğun olarak bulundukları lokasyonlar ısı haritasında gösterildi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: Açık alan testine ilişkin grubu temsil eden ısı haritaları

4.2.1.1. Açık alan testinde toplam katedilen mesafelerin karşılaştırılması

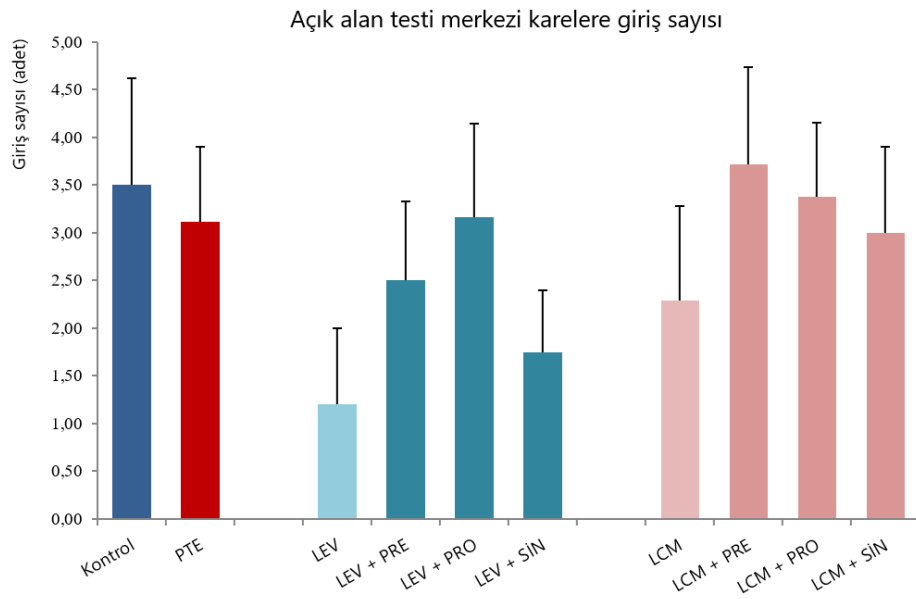
Elde edilen veriler sonucunda LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında kontrol grubuna göre kat edilen toplam mesafede artış tespit edildi ($p < 0,05$). Diğer gruplarda ise kontrol grubuna göre anlamlı değişim saptanmadı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testi kat edilen toplam mesafeye etkisi (Kontrol grubuna göre * $p < 0,05$)

4.2.1.2. Açık alan testinde merkezi karelere giriş sayısının karşılaştırılması

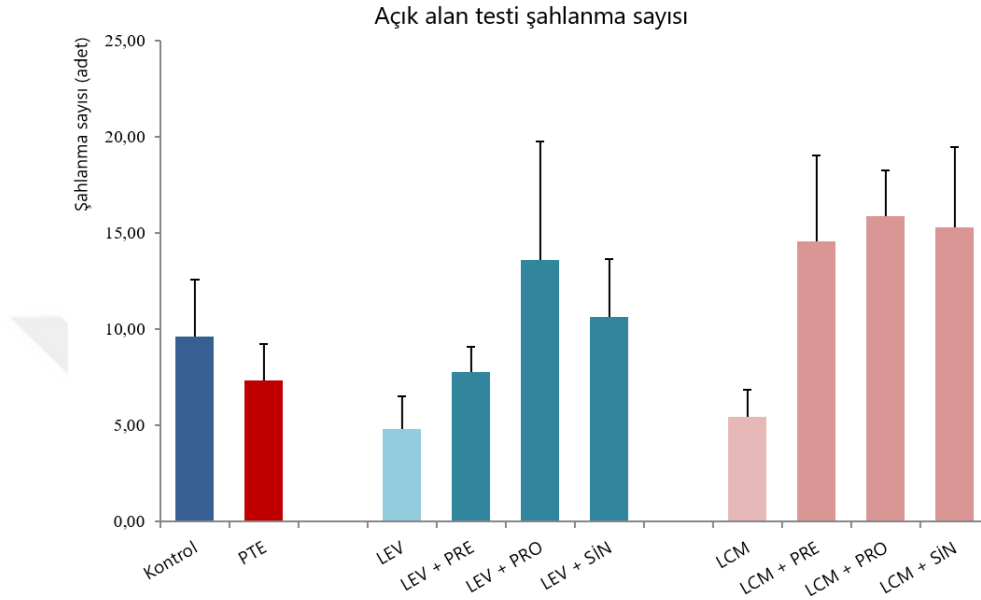
Elde edilen bulgulara göre, açık alan testi merkezi karelere giriş sayısı bakımından kontrol grubuna göre diğer grupların herhangi birinde anlamlı bir fark yoktu (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testi merkezi karelere giriş sayısına etkisi

4.2.1.3. Açık alan testinde şahlanma sayılarının karşılaştırılması

Elde edilen bulgulara göre, açık alan testi şahlanma sayısı bakımından kontrol grubuna göre diğer gruplarda anlamlı farklılık tespit edilmedi (Şekil 4.10).

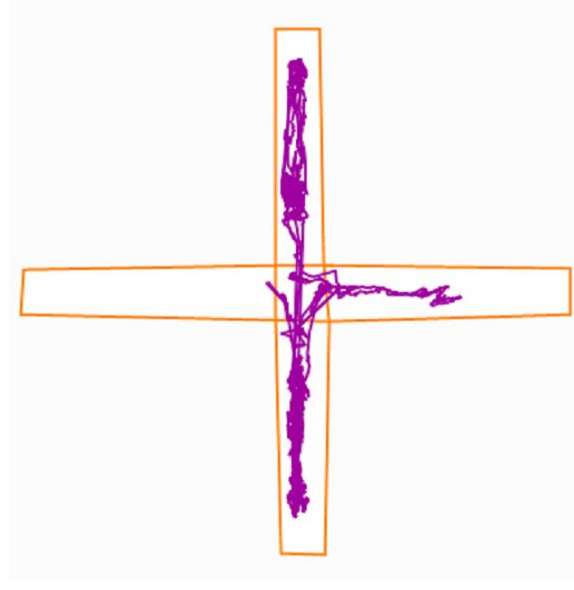


Şekil 4.10: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testi şahlanma sayısına etkisi

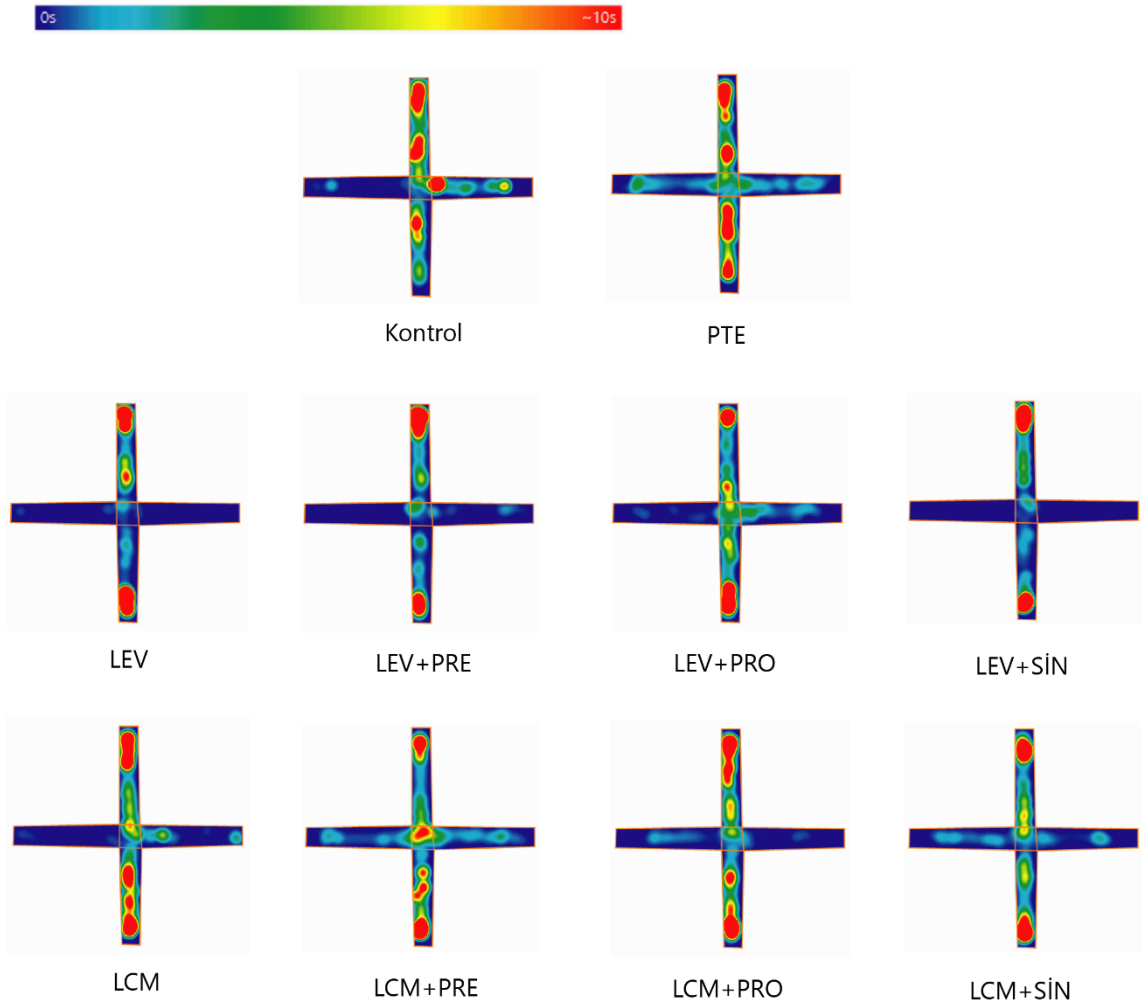
4.2.2. Anksiyete Düzeylerinin Karşılaştırılması

Tez çalışması kapsamında deneklerin anksiyete durumunu değerlendirmek için açık alan testinde merkez karelerde geçirilen toplam süre, donma süresi ve defekasyon sayıları; yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayısı, açık kolda geçirilen toplam süre ve donma süresi tespit edildi. Yükseltilmiş artı labirent testinde de deneklerin hareketleri nesne takip yazılımı (ANY-Maze) ile otomatik olarak kayıt altına alındı (Şekil 4.11). Hayvanın 300 saniyelik test süresince yoğun olarak bulundukları lokasyonlar ısı haritasında gösterildi (Şekil 4.12).

Yükseltilmiş artı labirentten elde edilen açık ve kapalı kol verileri kullanılarak oluşturulan “yükseltilmiş artı labirent anksiyete indeksi” adı verilen parametre, aşağıdaki formül ile hesaplanarak deneklerin anksiyete düzeyleri belirlendi. Anksiyete indeksi = $1 - \frac{([Açık\ kol\ süresi/Test\ süresi] + [Açık\ kol\ girişleri/Toplam\ giriş\ sayısı])}{2}$ şeklinde hesaplandı (317).



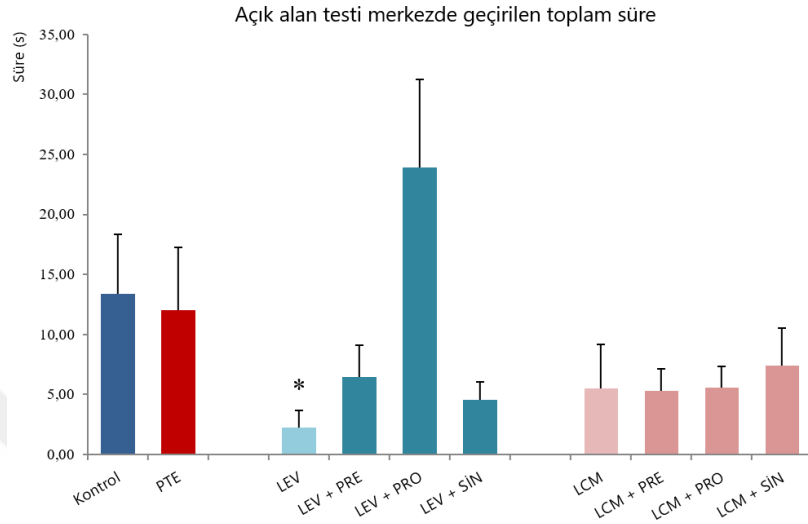
Şekil 4.11: Yükseltilmiş artı labirent testinde bir denneğin katettiği mesafe ve güzergah



Şekil 4.12: Yükseltilmiş artı labirent testinde ısı haritası grup ortalamaları

4.2.2.1. Açık alan testinde merkezi karede geçirilen sürelerin karşılaştırılması

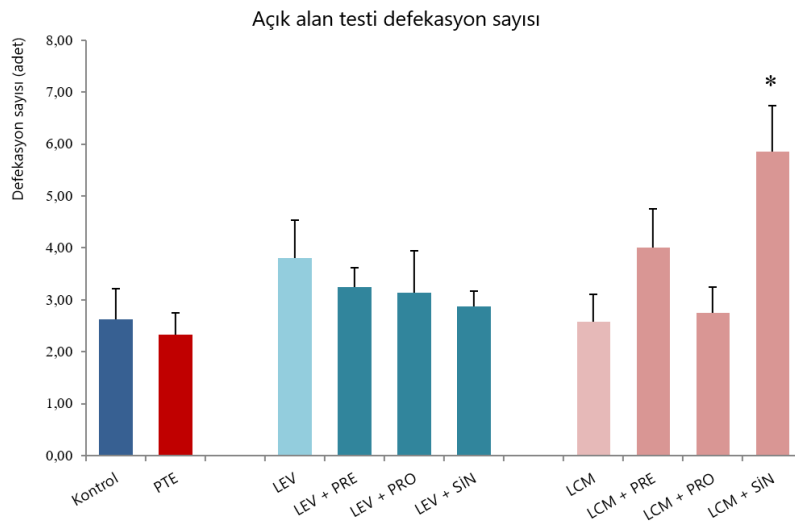
Elde edilen bulgulara göre, açık alan testi merkezi karede geçirilen süre bakımından LEV grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Diğer gruplarda herhangi bir fark saptanmadı (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testi merkezde geçirilen toplam süreye etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$)

4.2.2.2. Açık alan testi defekasyon sayılarının karşılaştırılması

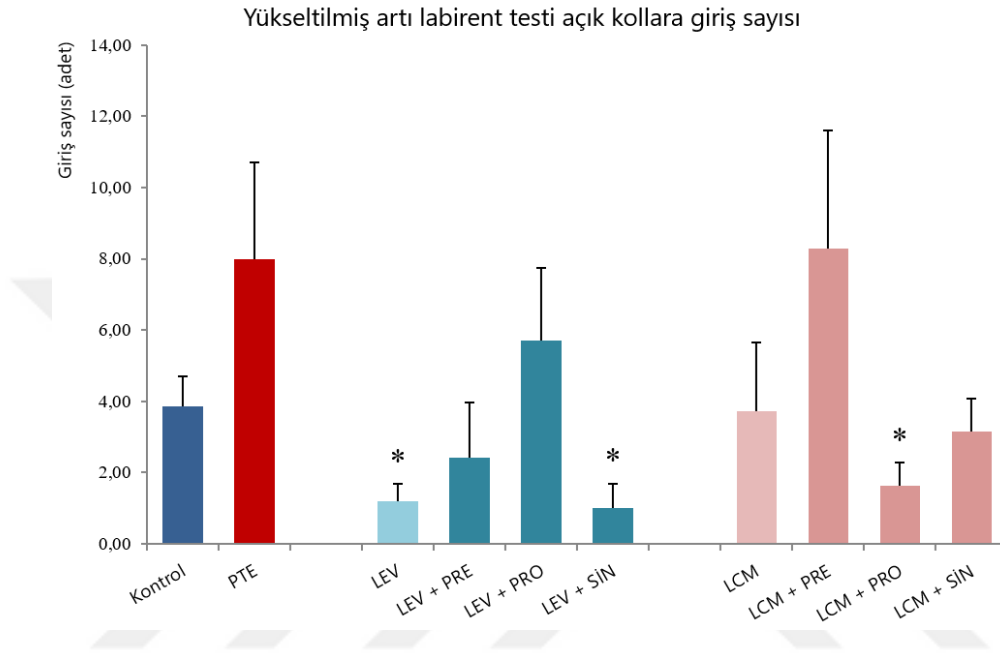
Defekasyon sayısında LCM+SİN grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu belirlendi ($p<0,05$). Diğer gruplarda anlamlı bir farklılığın olmadığı saptandı (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin açık alan testi defekasyon sayısına etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$)

4.2.2.3. Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayılarının karşılaştırılması

Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayılarının LEV, LEV+SİN ve LCM+PRO gruplarında kontrole göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0,05$) saptandı (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollara giriş sayısına etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$)

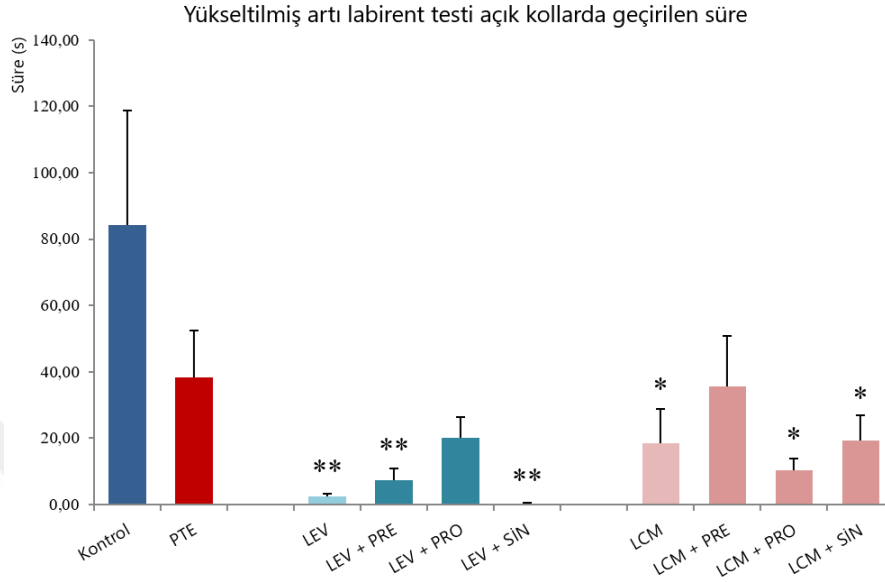
4.2.2.4. Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolda kalma sürelerinin karşılaştırılması

Yükseltilmiş artı labirent testi açık kolda kalma süresi incelendiğinde LEV, LCM, LEV+PRE, LEV+SİN, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğu saptandı (LEV, LEV+PRE, LEV+SİN $p<0,01$; LCM, LCM+PRO, LCM+SİN $p<0,05$). Diğer gruplarda anlamlı düzeyde farklılık tespit edilmedi (Şekil 4.16).

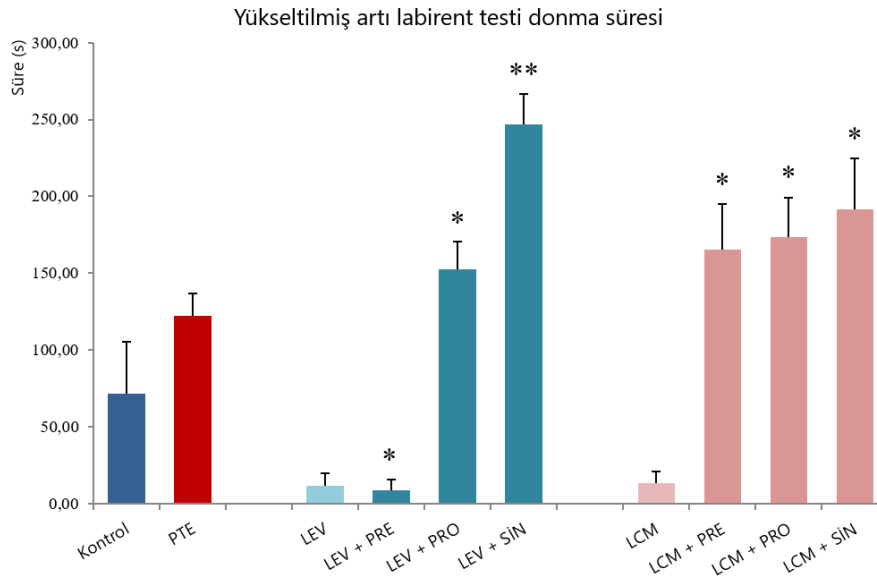
4.2.2.5. Yükseltilmiş artı labirent testinde donma sürelerinin karşılaştırılması

Yükseltilmiş artı labirent testindeki donma süreleri incelendiğinde LEV+PRO, LEV+SİN, LCM+PRE, LCM+PRO, LCM+SİN gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı

düzeyde artış ($p<0,05$), LEV+PRE grubunda ise anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$) saptandı. Diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi (Şekil 4.17).



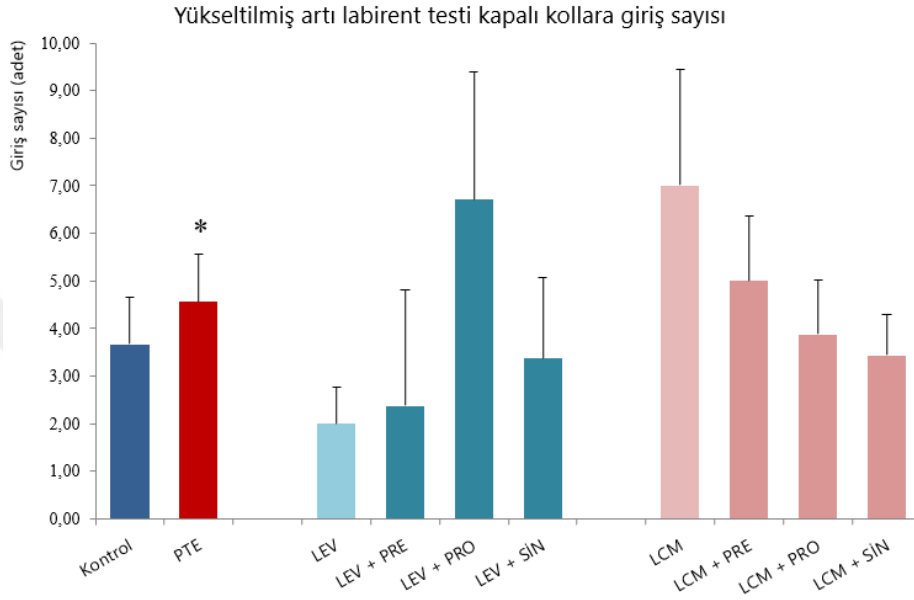
Şekil 4.16: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen süreye etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$, ** $p<0,01$)



Şekil 4.17: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde donma süresine etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$)

4.2.2.6. Yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kola giriş sayılarının karşılaştırılması

Yükseltilmiş artı labirent testindeki kapalı kola giriş sayıları incelendiğinde sadece PTE grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış ($p<0,05$) olduğu saptandı. Diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 4.18).



Şekil 4.18: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kollara giriş sayısına etkisi (*Kontrol grubuna göre * $p<0,05$*)

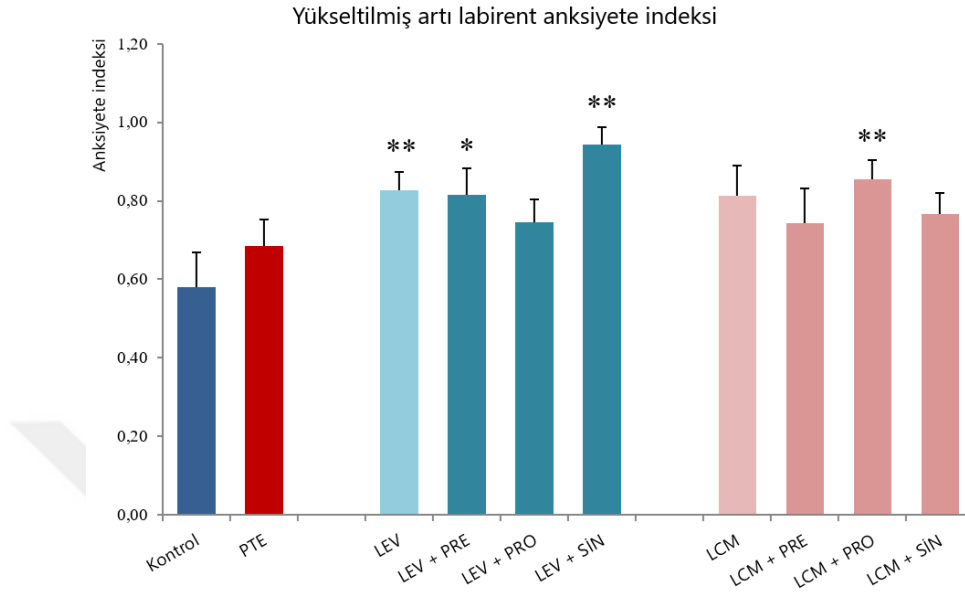
4.2.2.7. Yükseltilmiş artı labirent testi anksiyete indekslerinin karşılaştırılması

Yükseltilmiş artı labirent testi verilerinden formül kullanılarak elde edilen anksiyete indekslerinin karşılaştırılması sonucunda LEV, LEV+PRE, LEV+SİN ve LCM+PRO gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu tespit edildi (LEV, LEV+SİN ve LCM+PRO $p<0,01$; LEV+PRE $p<0,05$). Diğer gruplarda anlamlı düzeyde farklılık saptanmadı (Şekil 4.19).

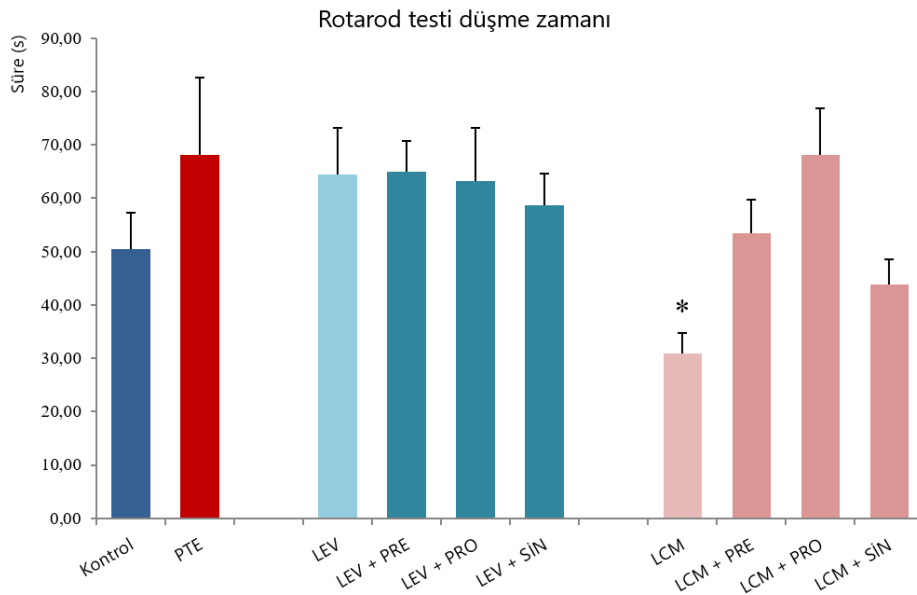
4.2.3. Zorlu Motor Aktivitelerin Karşılaştırılması

Tüm deneklerin zorlu motor aktiviteleri rotarod testi kullanılarak incelendi. Rotarod testinden elde edilen düşme latensi zorlu motor aktivite düzeyinin göstergesi olarak kabul edildi. Elde edilen veriler sonucunda LCM grubunda rotarod düşme latensinin kontrol grubuna

göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0,05$), diğer grupların düşme latensinin ise kontrol grubuna göre anlamlı değişim göstermediği tespit edildi (Şekil 4.20).



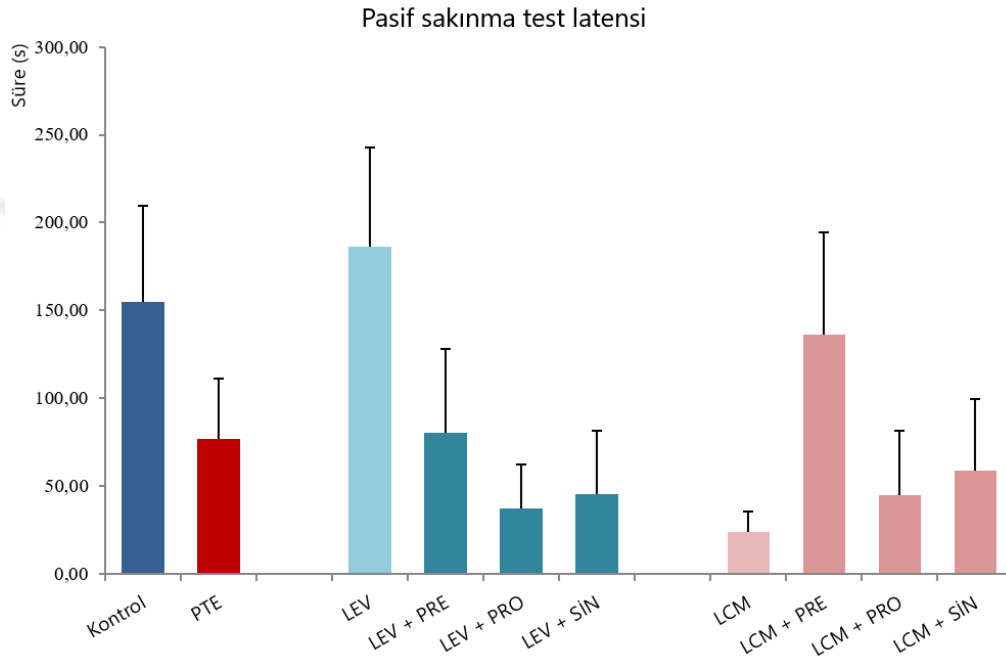
Şekil 4.19: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin yükseltilmiş artı labirent testi anksiyete indeksine etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$, ** $p<0,01$)



Şekil 4.20: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin rotarod testi düşme latensine etkisi (Kontrol grubuna göre * $p<0,05$)

4.2.4. Korku Hafızası Performanslarının Karşılaştırılması

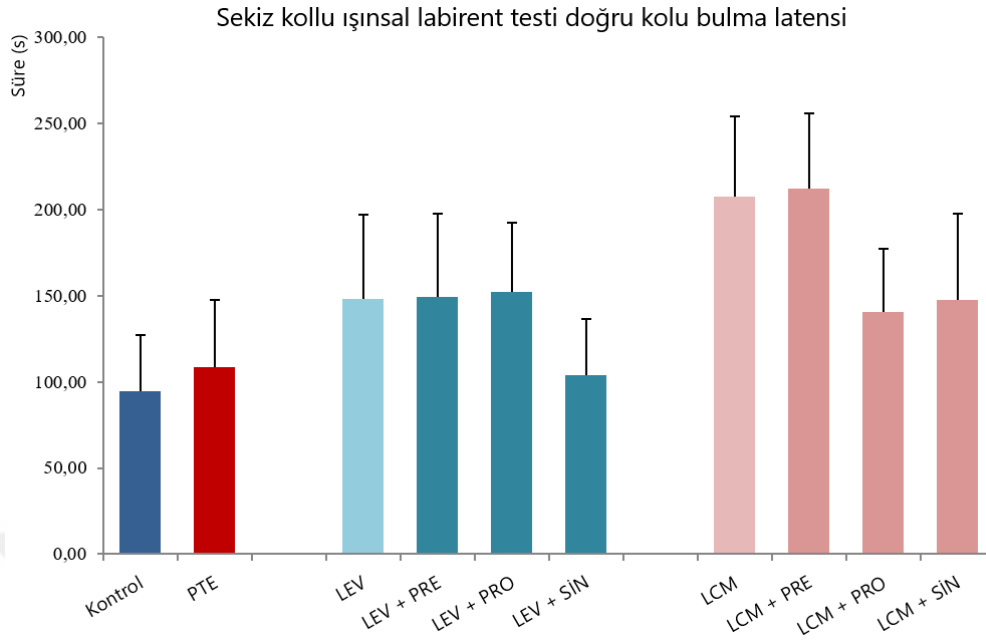
Tüm deneklerin korkuya dayalı öğrenme ve hafıza düzeyleri pasif sakınma testi kullanılarak incelendi. Pasif sakınma testinden elde edilen karanlık odaya geçme latensi korkuya dayalı öğrenme ve korku hafızasının göstergesi olarak kabul edildi. Elde edilen veriler sonucunda hiçbir grupta kontrol grubuna göre anlamlı değişim olmadığı saptandı (Şekil 4.21).



Şekil 4.21: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin pasif sakınma test latensine etkisi

4.2.5. Mekansal Hafıza Performanslarının Karşılaştırılması

Tüm deneklerin mekansal hafıza ve öğrenme düzeyleri sekiz kollu ışınal labirent testi kullanılarak incelendi. Denekler yazılım ile otomatik olarak takip edildi ve hareket lokasyonları kayıt altına alındı. Test habitüasyon, öğrenme ve test aşaması olmak üzere 3 günde gerçekleştirildi. Hayvanların test gününde yem bulunan doğru kolu bulma latensleri mekânsal hafızanın göstergesi olarak kabul edildi. Elde edilen veriler incelendiğinde tüm grupların kontrol grubuna göre doğru kolu bulma latensinde anlamlı bir fark göstermediği tespit edildi (Şekil 4.22).



Şekil 4.22: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin sekiz kollu ışnsal labirent testinde doğru kolu bulma latensine etkisi

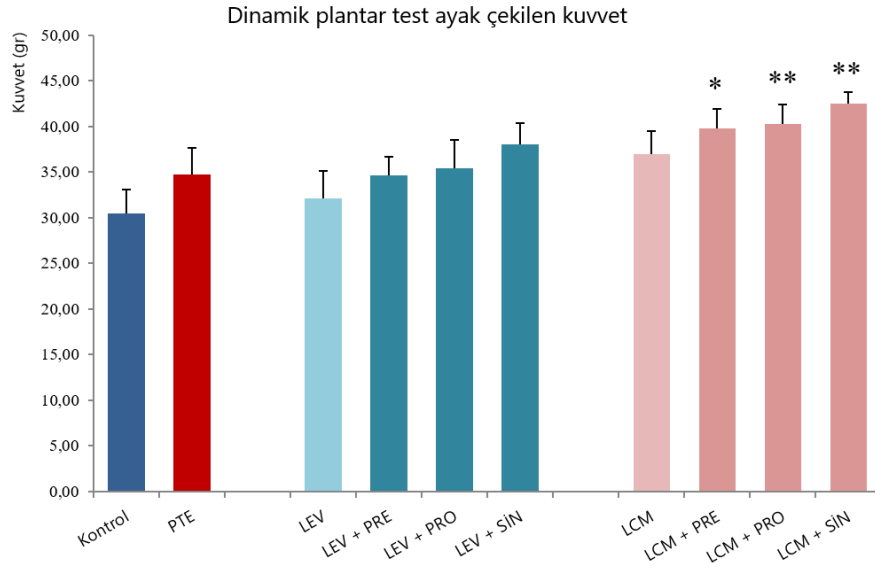
4.2.6. Ağrı Eşiği Düzeylerinin Karşılaştırılması

Tüm deneklerin ağrı eşiği düzeyleri dinamik plantar ve termal plantar testler kullanılarak incelendi. Dinamik plantar testinde hem deneyin uygulandığı ekstremitayı ağırlı uyarana refleks yanıt olarak çıktıkları kuvvet miktarı (ayak çekilen kuvvet miktarı) hem de ekstremitayı ağırlı uyarana refleks yanıt olarak çekme zamanı (ayak çekme latensi), termal plantar testte ise yalnızca ayak çekme latensi ağrı eşik düzeyi göstergesi olarak kabul edildi.

4.2.6.1. Dinamik plantar test ayak çekilen kuvvetlerinin karşılaştırılması

Dinamik plantar testten elde edilen veriler sonucunda LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında ayak çekilen kuvvet miktarında kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu tespit edildi (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$).

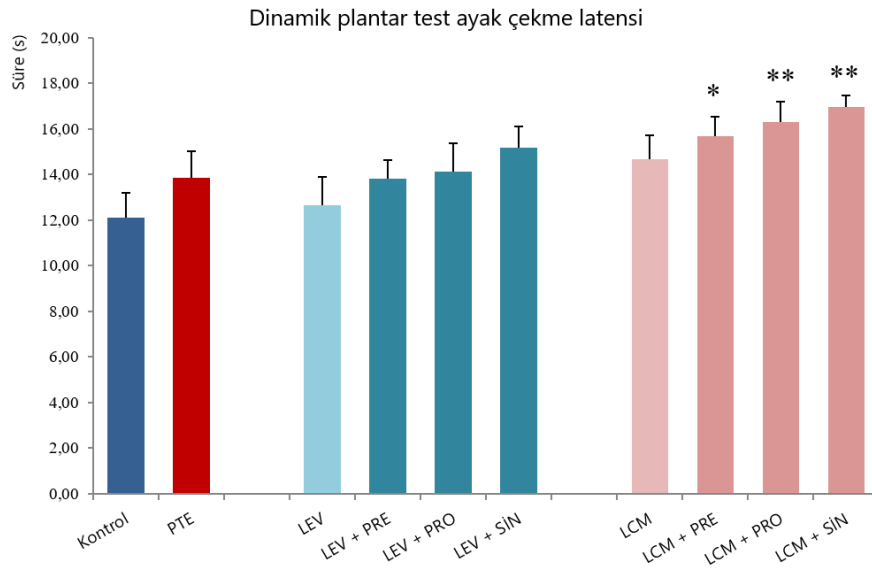
Diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Şekil 4.23).



Şekil 4.23: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin dinamik plantar testte ayak çekilen kuvvet miktarına etkisi (*Kontrol grubuna göre * $p<0,05$, ** $p<0,01$*)

4.2.6.2. Dinamik plantar test ayak çekme latenslerinin karşılaştırılması

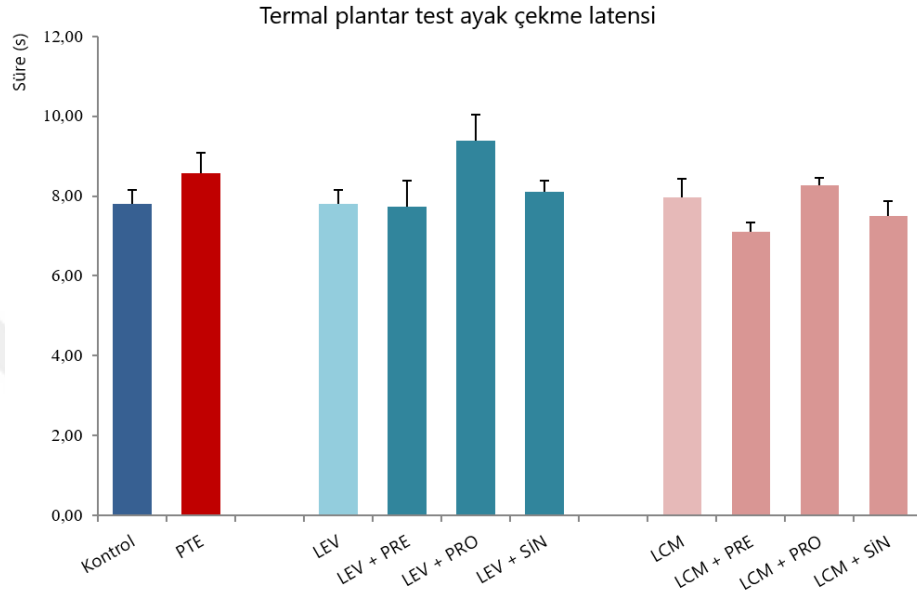
Dinamik plantar testten elde edilen veriler sonucunda LCM+PRE, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında ayak çekilen kuvvet verileriyle benzer şekilde ayak çekme latensinde kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu tespit edildi (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$). Diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4.24).



Şekil 4.24: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin dinamik plantar testte ayak çekme latensine etkisi (*Kontrol grubuna göre * $p<0,05$, ** $p<0,01$*)

4.2.6.3. Termal plantar test ayak çekme latenslerinin karşılaştırılması

Termal plantar testten elde edilen bulgular incelendiğinde tüm deney gruplarında ayak çekme latensinin kontrol grubundan farklı olmadığı saptandı (Şekil 4.25).



Şekil 4.25: Antiepileptik, prebiyotik ve probiyotiklerin termal plantar testte ayak çekme latensine etkisi

5. TARTIŞMA

TBH hem kontüzyon gibi fokal yaralanmaya bağlı olarak hem de nörodejenerasyon ve inflamasyon gibi sekonder patolojiler sebebiyle uzun vadeli engellilik, bilişsel gerileme ve psikiyatrik hastalıklar gibi ikincil hasar kaskadlarına yol açmaktadır (3, 4). TBH'nin neden olduğu yaygın sekonder bozukluklar arasında nöbetler ve PTE yer almaktadır (5). TBH'nin şiddetinin PTE gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu ve belirli yaralanma türlerinin post-travmatik nöbet insidansı ile bağlantılı olduğu ifade edilmiştir (318). Epileptogenez riski hafif TBH sonrası yaklaşık 2-4 kat, orta TBH sonrası 8 kat ve şiddetli TBH sonrası 16 kat artmaktadır (319). PTE, tüm epilepsilerin yaklaşık %5'inden ve yapısal epilepsilerin ise %20'sinden sorumlu görünmektedir (320). TBH vakalarının %90'ından fazlası hafif TBH şeklinde olup, hafif TBH sonrası epilepsi gelişen toplam hasta sayısı, deneysel ve klinik araştırmaların odak noktası olan şiddetli TBH sonrası epilepsi gelişen hasta sayısından daha fazladır (321). Deneysel çalışmalar PTE'ye ilişkin nöbetler, psikolojik değişiklikler ve motor disfonksiyon gibi nöropatolojik süreçler ve komorbid durumların büyük ölçüde anlaşılmasına katkı sağlamakla birlikte, deneysel olarak uygulanan terapötik stratejilerin klinik yansımaları post-travmatik nöbetleri önlemede yetersiz kalmış veya başarısız olmuştur (1, 71). PTE, bir kafa travmasından sonra spontan olarak tekrarlayan en az iki nöbet ile karakterize bir nörolojik durumdur. Spontan nöbetler genellikle ilk TBH'dan aylar veya yıllar sonra ortaya çıktığı için klinik ortamda epileptojenik süreci incelemek oldukça güçtür (1). Benzer bir zorluk, uzun bir süre içerisinde meydana gelebilecek spontan nöbetlerin gelişiminin beklenmesi ve ne zaman gerçekleşeceği belli olmayan bu nöbetler için sürekli ve uzun süreli EEG monitörizasyonun gerekli olması bakımından deneysel PTE modelleri için de geçerlidir. Bununla birlikte PTE'nin kemirgen modelleri, beyin hasarı ve nöbetler arasındaki nedensel ilişkinin daha kapsamlı bir şekilde araştırılmasına olanak sağlaması bakımından oldukça önemli ve gereklidir.

Antiepileptik ilaçların profilaktik kullanımının erken post-travmatik nöbet riskini azaltabileceği fakat daha sonraki nöbetleri etkilemeyeceği ifade edilmektedir (10). Laboratuvarımızda gerçekleştirilen deneysel bir çalışmada, profilaktik LEV uygulamasının, nöbet sonrası uygulama ile karşılaştırıldığında ekstra bir katkısı olmadığı görülmüştür (195). Klinik bir çalışmada, akut dönemdeki TBH'li hastaların PHT ile tedavisinde erken post-travmatik nöbet insidansının %14,2'den %3,6'ya düştüğü gösterilmiş fakat akut dönemin sonrasında sürdürülen antiepileptik ilaç tedavisinin PTE gelişiminde prognozu değiştirmediği ifade edilmiştir (322). TBH sonrası nöbet profilaksisinde LCM ile PHT'nin etkinlik ve

güvenirliğini karşılaştıran retrospektif bir çalışmada, TBH sonrası erken post-travmatik nöbetlerin önlenmesinde LCM ile PHT arasında fark olmadığı, LCM'nin daha tolere edilebilir bir yan etki profiline sahip olduğu saptanmıştır (323). Erken ve geç PTE önlemede farklı antiepileptik ilaçlarının etkinliğini Mart 2022 tarihine kadar yayımlanmış ilgili tüm makaleleri inceleyerek belirlemeye çalışan bir meta-analizde, toplamda 7 randomize kontrollü çalışma ile 18 randomize olmayan kontrollü çalışma değerlendirmeye dahil edilmiş ve PHT+fenobarbital, LEV, PHT, PHT+LEV, LCM ve valproatın PTE üzerindeki etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Yapılan bu meta-analizin bulgularına göre LEV'in TBH'li hastalar için en iyi tedavi seçeneği olduğu bildirilmiştir (324). Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre LEV, diğer antiepileptik ilaçlardakine benzer yan etkilere yol açmaması ve daha düşük sitotoksisiteye sahip olması nedeniyle PTE tedavisinde popülerlik kazanmıştır (10). PTE modellerinde tüm ilaçlar test edilmemiş olmakla birlikte PTE'yi tedavi etmek için ek replasman tedavileri gerekli görünmektedir. Alternatif tedavilerde kalıcı beyin enflamasyonunu önlemek için anti-inflamatuvar, kan-beyin bariyeri onarımını destekleme ve hasarlı aksonal yolların bütünlüğünü sağlama gibi özellikler bulunması araştırılmaktadır (10).

Mevcut antiepileptik ilaçların PTE'yi tedavi etmede çok etkili olmaması nedeniyle PTE tedavisinde yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Daha etkili ve yeni bir antiepileptik ilaç geliştirilme sürecindeki zamansal, mali ve etkinlik düzeyine ilişkin sorunlar dikkate alındığında, mevcut antiepileptiklerle birlikte kullanılabilecek ve onların etkinliğini destekleyebilecek tamamlayıcı veya ilave tedavi yaklaşımları daha iyi ve uygulanabilir bir seçenek olarak görünmektedir. Mikrobiyota ile epilepsi arasındaki ilişkiyi inceleyen ve epileptik nöbetlerin önlenmesinde mikrobiyota manipülasyonunun etkili olabileceğine dair özellikle son 3 yıl içerisindeki deneysel çalışma bulguları dikkate alındığında, özellikle mevcut antiepileptik ilaçlar ile kontrolü oldukça zor olan PTE'nin, bağırsak mikrobiyotasına yönelik prebiyotik, probiyotik, farklı tipte diyetler ve antibiyotik uygulamaları ile mevcut antiepileptik ilaçların etkinliğinin desteklenmesi daha etkili tedavi seçeneklerinin belirlenmesine yardımcı olabileceği ön görülmektedir (325, 326). Diğer taraftan kullanılan antiepileptik ilaçların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri ve bu etkileşimin tedaviye yansısı da belirlenmesi gereken diğer bir konudur.

Deneysel epilepsi modellerinde bağırsak mikrobiyotasının nöronal eksitabilite ve epileptik nöbetler üzerindeki etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çalışmalardan bir tanesinde, Wistar sıçanlarda PTZ ile oluşturulan epileptik tutuşma (kindling) öncesi veya sırasında uygulanan *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* ve *Bifidobacterium*

infantis karışımının hem tutuşmanın etkinliğini hem de nöbetlerin şiddetini azalttığı gösterilmiştir (327). Diğer bir çalışmada *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* karışımının tutuşma öncesinde uygulanmasının Wistar sıçanlarda tam tutuşmayı önlediği saptanmıştır (328). Ayrıca 4 haftalık erkek Wistar sıçanlara 60 gün süreyle uygulanan çoğunlukla *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinden oluşan 13 farklı bakteri türünden oluşan bir probiyotik karışımının akut PTZ ile oluşturulan jeneralize tonik-klonik nöbetlerin başlama zamanını geciktirerek ve nöbet süresini kısaltarak antikonvülsan bir etki sergilediği gösterilmiştir (329). Bununla birlikte *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* karışımının farelerde PTZ ile oluşturulan nöbetlerin süre veya şiddetini azaltmadığı fakat diazepamın koruyucu etkisini güçlendirdiği tespit edilmiştir (330). Epilepside bağırsak mikrobiyotasının probiyotikler veya bakteri ürünleri ile manipülasyonuna ilişkin, prelinik çalışmalara kıyasla çok daha sınırlı sayıda klinik çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bir tanesinde bakteriyel bir ürün olan ve aynı zamanda kısa zincirli yağ asidi olarak faydalı bakterilerin vücut üzerindeki etkilerine aracılık ettiği ifade edilen propionatın epilepsili çocuklardan alınan orta temporal girus nöronlarına ilişkin kesitte epileptiform deşarj sıklığını azalttığı saptanmıştır (331). Bir vaka çalışmasında, sağlıklı bir donörden fekal mikrobiyota transferi sonrası, Crohn hastası 17 yaşındaki bir kız çocuğunda nöbetlerin tamamen iyileştiği görülmüştür (294). Beş laktobasil, iki bifidobakter ve bir streptokok türü içeren bir probiyotik karışımının ilaca dirençli epilepsi üzerindeki potansiyel etkilerini inceleyen bir klinik çalışmada, 43 hastanın %28,9'unda 4 ay sonra nöbetlerde %50 veya daha fazla azalma olduğunu bulunmuştur (288). Literatürde PTE ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki ve etkileşimi inceleyen ve aynı araştırma ekibi tarafından 2022 yılında yayımlanmış olan sadece iki çalışma bulunmaktadır (325, 332). Bu çalışmalardan ilkinde erişkin erkek Sprague Dawley sıçanlarda lateral SPH ile oluşturulan PTE'nin, bağırsak mikrobiyomunda ölçülebilir bozulmalarla ilişkili olup-olmadığı incelenmiştir. Sham grubu ve SPH gruplarından hasar öncesi ve hasardan 1 hafta, 1 ay ve 7 ay sonra toplanan fekal örneklerde 16S ribozomal RNA gen dizilimi ile alfa çeşitliliği, beta çeşitliliği ve diferansiyel mikrobiyal bolluğun longitudinal analizleri yapılmıştır. Ayrıca fekal örneklerde tandem kütle spektrometrelili sıvı spektrometresi kullanılarak kısa zincirli yağ asitleri ölçülmüştür. Sonuçta SPH, bağırsak mikrobiyomunda PTE ile ilişkili herhangi bir bozukluk oluşturmazken; PTE riskinin önceden var olan mikrobiyal kompozisyon ve kısa zincirli yağ asidi içeriğine göre sınıflandırılabilirdiği ifade edilmiştir (332). Araştırma ekibinin daha sonraki çalışmasında, PTE geçmişine sahip olan ve olmayan erişkin erkek Sprague Dawley sıçanlarda aynı ırktan alıcı sıçanlara TBH öncesi fekal mikrobiyota transferinin PTE üzerindeki modülatör etkisi

incelenmiştir. Bu çalışmada PTE'yi indüklemek için lateral SPH sonrası elektriksel olarak bazolateral amigdala tutuşma modeli uygulanmıştır. Elde edilen bulgular PTE eğilimli donörlerden yapılan fekal mikrobiyota transferinin alıcılarda hafif ila orta derecede pro-epileptik etkiler gösterdiğini, seçilen alıcılarda ve onların ilgili donörlerinden elde edilen fekal örneklerin analizinin tam bir mikrobiyom dönüşümü olmasa da fekal mikrobiyota transferinin alıcılarda mikrobiyotayı değiştirdiğini ve bağırsak mikrobiyomunun epilepsiye yatkınlığı aktif olarak modüle edebileceğini göstermiştir (325).

Sunulan tez kapsamında yapılan deneysel çalışmada, TBH sonrası subkonvülsan dozlarda uygulanan PTZ ile indüklenen PTE oluşturulmuş sıçanlara prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik takviyelerinin uygulanmasının antiepileptik tedaviye katkıları nöbet parametreleri üzerinden incelendiğinde tedavi gruplarının büyük bir bölümünde ilk doz tedavi sonrası uygulanan birinci PTZ ve bir haftalık tedavi sonrası uygulanan ikinci PTZ enjeksiyonundan sonra nöbet başlangıç latensinde PTE grubuna göre tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü. Bu artış iki haftalık tedavi sonrası uygulanan üçüncü PTZ enjeksiyonundan sonra LEV+PRO, LEV+SİN ve LCM+PRO gruplarında devam ederken üç haftalık tedavi sonrası uygulanan dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra sadece LCM+PRE grubunda anlamlı düzeyde artış olduğu saptandı. Bu durum özellikle tedavinin erken aşamalarında nöbet başlangıç zamanının uygulanan tedavi kombinasyonları ile geciktirildiğini göstermektedir. Grup içi değerlendirme için birinci PTZ enjeksiyonu ile karşılaştırıldığında LCM ve LCM+PRE gruplarında üçüncü PTZ enjeksiyonundan sonra; LEV+PRO, LEV+SİN ve tüm LCM gruplarında nöbet başlangıç latensinde anlamlı azalma olduğunun görülmesi, ilaç etkinliklerinin zaman içerisinde azaldığı ve deneklerin PTZ'ye daha duyarlı hale geldiğine işaret etmektedir. Üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında LCM+PRO grubunun tek başına LCM tedavisine göre nöbet başlangıç latensini uzatmada daha başarılı olduğu görüldü. Bunun dışında kombinasyon gruplarının tek başına monoterapi gruplarına göre nöbet başlangıç latensini uzatmada herhangi bir üstünlüğü olmadığı saptandı. Nöbet şiddetine ilişkin veriler incelendiğinde LEV ve kombinasyon gruplarının, LCM ve kombinasyon gruplarına göre üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyonları sonrasında nöbet şiddetini azaltmada daha yetersiz oldukları belirlendi. Nöbet şiddetine ilişkin kombinasyon grupları ilgili monoterapi grupları ile karşılaştırıldığında, LEV+PRO ve LEV+SİN gruplarında tek başına LEV grubuna göre birinci enjeksiyon sonrasında anlamlı azalma olduğu tespit edildi. Bu veriye dayanarak LEV ile birlikte probiyotik uygulamasının erken dönemde PTE'ye bağlı nöbetleri önlemede olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmüştür. Nöbet frekansı verileri incelendiğinde yine tüm gruptaki ilaç

etkinliklerinin erken dönemde fazla olduğu, ancak özellikle dördüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında nöbet frekanslarının arttığı ve dolayısıyla ilaç etkinliklerinin azaldığı görülmüştür. Deneyisel çalışmalarda tekrarlanan PTZ'ye karşı hayvanların duyarlılığının giderek arttığı bilinmektedir. Tedavinin geç dönemlerinde gözlemlenen nöbet parametreleri üzerindeki olumlu etkilerin azalmasına ilaç etkisizliğinin yanında tekrarlanan PTZ'ye karşı duyarlılık artışının da etkili olabileceği dikkate alınması gereken bir durumdur. Toplam nöbet süreleri incelendiğinde LEV monoterapisinin üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyonundan sonra etkisini kaybettiği ancak LEV'in kombinasyon gruplarının nöbet süresini düşürmeye yönelik etkilerini büyük oranda koruduğu gözlenmiştir. Üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında LCM ile probiyotik uygulaması, tek başına LCM uygulamasına göre nöbet süresinde anlamlı düzeyde azalma sağlamıştır. LCM+SİN grubunda da üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında LCM grubuna göre toplam nöbet süresinde azalma mevcuttur fakat bu etki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Deneklerde nöbeti indüklemek için kullanılan toplam PTZ dozları incelendiğinde, özellikle üçüncü PTZ enjeksiyonu sonrasında LEV+PRO, LEV+SİN, LCM+PRO ve LCM+SİN gruplarında ilgili monoterapi antiepileptik gruplarına göre daha fazla PTZ'ye ihtiyaç duyulduğu görülmüştür. Bu durum deneklerin nöbet duyarlılığını prebiyotiklerden ziyade probiyotiklerin azaltılabileceğine yönelik önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Literatürde yer alan travmatik beyin hasarı sonrası erken dönemde gelişen nöbetler ve post-travmatik epilepsi sürecine yönelik tedavilerin etkileri göz önüne alındığında, LEV, LCM ve PHT gibi antiepileptiklerin travma sonrası erken dönemde gelişen nöbetler ve post-travmatik epilepsinin erken dönem nöbetlerine yönelik iyileştirici etkileri olduğu ancak geç dönemde prognozu değiştirmediği görülmüştür (10, 322, 323). Sunulan tez kapsamında yaptığımız çalışmada da hem post-travmatik epilepside sık kullanılan LEV ve LCM tedavilerinin hem de bu tedaviler ile birlikte uygulanan prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik kombinasyonlarının literatürde mevcut olan bilgilerle uyumlu olarak erken dönemde görülen nöbetleri hafifletici etkileri olduğu saptanmıştır. Ek olarak, LEV ve LCM tedavileri ile birlikte uygulanan probiyotik ve sinbiyotiklerin monoterapilere kıyasla antiepileptik etkiyi artırabileceği ve nöbet parametrelerini daha uzun süre iyileştirebileceği tespit edilmiştir. Ayrıca üçüncü ve dördüncü PTZ enjeksiyonlarından sonra elde edilen nöbet şiddeti verilerine göre LCM ve pre/pro/sinbiyotik kombinasyonlarının LEV ve pre/pro/sinbiyotik kombinasyonlarına göre daha başarılı olması, klinik olarak üstün olduğu belirtilmesine rağmen (324), LEV'in LCM'ye göre PTZ ile kolaylaştırılan PTE'ye ilişkin nöbetleri önlemede daha zayıf olduğuna işaret

etmektedir. Probiyotiklerin direkt antiepileptik etkileri ya da halihazırda kullanılan diğer antiepileptiklerin etkilerini güçlendirici özellikleri olduğu son yıllarda ortaya çıkmaktadır (327-330). Sunulan tez çalışmasından elde edilen veriler de literatürle uyumlu olarak farklı probiyotik bakterilerden oluşan VSL#3'ün PTE modelinde antiepileptik etkiyi güçlendirerek nöbetleri azaltabileceğini göstermiştir. Tez çalışması kapsamında elde edilen bulgulara göre, Medel-Matus ve ekibinin ortaya koyduğu bozulmuş mikrobiyota ve PTE ilişkisine yönelik çalışma da (325) dikkate alındığında probiyotiklerin PTE üzerinde olumlu etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

PTE ile ortaya çıkan nöbetler dışındaki çok sayıda komorbidite, kişilerin yaşam kalitesini oldukça düşürmektedir. PTE'li hastaların TBH'li non-epileptik hastalara kıyasla yılda 7,85 kat daha fazla tıbbi ziyaret yaptığı ve bu şekilde tıbbi yükün de önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (333). Bu sürece kullanılan antiepileptik ilaçların da etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Bu ilaçlar, bir yandan nöbetleri azaltırken diğer yandan farklı yan etki potansiyelleri ile PTE'ye yönelik komorbiditelerin kötüleşmesine sebep olabilmektedir. TBH sonrası rehabilitasyon sürecine ilişkin yapılan retrospektif bir klinik çalışma, profilaktik nöbet önleyici ilaç verilen hastaların travma sonrası nöbet geçirip-geçirmemelerinden bağımsız olarak öngörülenden daha zayıf bir iyileşme süreci görüldüğünü ortaya koymuştur (334). Psikometrik testler, PTE'li hastaların önemli ölçüde azalmış planlama yeteneği sergilediğini, inisiyatif eksikliği gösterdiğine ve TBH'si olan ve nöbeti olmayan hastalara kıyasla daha yüksek kısıtlanmış davranış insidansına sahip olduğuna işaret etmektedir (335). Ayrıca klinik araştırmalarda dikkat yeteneğinde (336), problem çözme beceresinde (337), kısa süreli hafıza ve işleyen hafızada (338) bozulmalara dair kanıtlar bulunmuştur. Preklinik bir çalışmada da, değişen sinaptik plastisite ve TBH'ce indüklenen nörodejenerasyonun bilişsel bozulmada kritik bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir (1). TBH'nin hem kısa hem de uzun süreli belleği etkilediği bilinmektedir (339). PTE'nin kısa ve uzun süreli bilişsel performans üzerindeki etkinliğini inceleyen çalışmalarda PTE'nin hasarlı kontrollere kıyasla bu görevlerde zayıf performans sergilenmesine yol açtığı bulunmuştur (193, 340, 341). Anksiyete ve depresyon popülasyondaki diğer herhangi bir psikiyatrik bozukluk grubu içinde en yüksek prevalansa sahip olup, yaşam boyu görülme oranı yaklaşık %30 düzeyinde seyretmektedir (342). TBH'li hastalarda yapılan çalışmalarda, duygudurum ve anksiyete bozukluklarının popülasyona kıyasla daha yaygın olduğu, TBH'li hastaların yaklaşık %70'inin hasar sonrası ilk yıl içinde psikiyatrik bir hastalık yaşadığı tespit edilmiştir (343). Uzun süreli bir nöropsikiyatrik çalışmada, PTE'li hastaların TBH'li non-epileptik hastalara kıyasla daha yüksek agresyon ve

ajite davranışlar sergilediği, saldırganlık ve kişilik bozuklukları insidansının bu hastalarda daha yüksek olduğu bulunmuştur (335).

Tez kapsamında yapılan PTE modeli ve antiepileptik, prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik takviyelerinin uygulanmasının ardından deneklerde hem PTE'ye bağlı hem de tedavi amaçlı uygulamalara bağlı oluşabilecek komorbidite ve yan etkileri incelemek amacıyla farklı davranış ve ağrı testleri uygulanmıştır. Bu testlerden elde edilen veriler incelendiğinde LCM+PRE ve LCM+SİN gruplarında kontrol grubuna göre açık alan testinde katettikleri toplam mesafenin arttığı gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgu, LCM ile birlikte probiyotiklerden ziyade prebiyotik uygulamasının lokomotor aktiviteyi artırabileceğine yönelik bilgi vermektedir. Hayvanların zorlu motor aktivitesini değerlendiren rotarod testinin sonuçlarına göre de LCM grubunda kontrol grubuna göre düşme latensinde anlamlı düzeyde azalma mevcutken, kombinasyon gruplarında azalma olmaması LCM tedavisinin zorlu motor aktivitede olumsuz etkilere yol açtığını ve hem prebiyotik hem de probiyotik uygulamasının bu etkiyi tersine çevirdiğine işaret etmektedir. Mekansal hafızayı değerlendirmeye yönelik yapılan sekiz kollu ışınal labirent ve korku hafızasını değerlendirmeye yönelik yapılan pasif sakınma testlerinde hiçbir grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir. Buna dayanarak tezde uygulanan antiepileptiklerin ve prebiyotik/probiyotik takviyelerin en azından uygulanan doz ve sürelerde öğrenme ve hafıza üzerine olumlu ya da olumsuz etkilerinin olmadığı söylenebilir. Önemli bir anksiyete testi olan yükseltilmiş artı labirent testinden elde edilen başta anksiyete indeksi olmak üzere bulgular incelendiğinde LEV+PRO hariç diğer tüm LEV gruplarında anksiyete düzeyinin arttığı, LCM+PRO hariç diğer tüm LCM gruplarında anksiyete düzeyinin kontrole göre farklı olmadığı fakat LCM+PRO grubunda anksiyete düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir. Deneklerdeki ağrı eşiğinde meydana gelebilecek değişimleri saptamak için yapılan dinamik ve termal plantar testlerde LCM'nin kombinasyon gruplarında dinamik plantar testte ağrı eşiğinde kontrol grubuna göre yükselme tespit edilmiştir. Ancak termal plantar testte anlamlı düzeyde bir fark bulunamamıştır. Bu veriye dayanarak LCM ile prebiyotik ve probiyotik uygulamalarının mekanik ağrı eşiğinde artışa yol açtığı ifade edilebilir.

Literatürde PTE'nin öğrenme ve hafızaya ilişkin bozukluklara yol açabileceği bildirilmektedir (193, 339). Literatürün aksine, tez çalışması kapsamında hafif TBH sonrası PTZ ile kolaylaştırılan PTE modelinde sıçanlarda öğrenme ve hafızayı incelemeye yönelik davranış testlerinden elde edilen bulgulara göre hem tedavi uygulanmayan PTE grubunda hem de tedavi gruplarında kontrol grubuna göre bir farklılık saptanmamıştır. Travmanın hafif şiddette olmasının elde edilen bulgulara katkıda bulunmuş olabileceği değerlendirilmiştir.

Probiyotikler, motor koordinasyonu artırıp egzersiz performansını güçlendirebilir (344). Literatürde yer alan bilgilerle uyumlu olarak, sunulan tez çalışmasında LCM'ye bağlı zorlu motor aktivite bozukluğunun probiyotik uygulamaları ile normale döndürüldüğü saptanmıştır. Literatürde ayrıca probiyotiklerin anksiyete ve depresyon üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği de ifade edilmiştir (345). Anksiyete düzeyleri ile ilgili olarak sunulan tez çalışmasında literatürle uyumlu bir şekilde LEV ile birlikte probiyotik uygulamasının diğer tüm LEV gruplarında artan anksiyete düzeyini normale döndürdüğü tespit edilmiştir. Ancak LCM gruplarına bakıldığında, LCM ile birlikte probiyotik uygulamasının anksiyete düzeyinde olumsuz etkiye neden olduğu, prebiyotik uygulamasının ise olumlu bir etki sağladığı saptanmıştır. Diğer taraftan LCM ile birlikte uygulanan pre/pro/sinbiyotik kombinasyonları sıçanlardaki mekanik ağrı eşiğini artırmıştır. Literatürde LCM'nin tek başına nöropatik ağrı gibi klinik durumlara faydalı olabileceği gösterilmiştir (346). LCM'nin nöropatik ağrı tedavisindeki bu potansiyel rolü ve tez çalışmasından elde edilen LCM ve pre/pro/sinbiyotik kombinasyonlarının tek başına LCM'ye göre ağrı eşiğini yükseltmeye yönelik artmış etkileri dikkate alındığında, çeşitli ağrı sendromlarında LCM ile birlikte prebiyotik ve probiyotik uygulamalarının ağrı yönetimi açısından daha güçlü bir etki sergileme potansiyeli taşıdığı değerlendirilmiştir.

6. SONUÇLAR

Sunulan tıpta uzmanlık tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Sıçanlarda TBH sonrası PTZ ile indüklenen PTE modelinde, LEV ve LCM ile birlikte uygulanan probiyotik kombinasyonlarının ilgili ilaçların antiepileptik etkinliğini güçlendirdiği tespit edilmiştir.
- Uygulanan tedavilerin büyük bir bölümünde ilk iki haftada PTE'ye ilişkin antiepileptik etkinlik daha güçlü iken, tekrarlanan PTZ dozları ile PTZ'ye olan nöbet duyarlılığının artması ile birlikte tüm tedavi gruplarındaki antiepileptik etkinliğin son iki haftada görece olarak azaldığı saptanmıştır.
- LCM ile birlikte uygulanan probiyotik kombinasyonunun lokomotor aktiviteyi artırdığı tespit edilmiştir.
- LCM'nin neden olduğu zorlu motor aktivitedeki bozukluğun, hem probiyotik hem de prebiyotik kombinasyonları ile önlendiği saptanmıştır.
- LCM ile birlikte uygulanan probiyotik ve prebiyotik kombinasyonlarının mekanik ağrı eşiğini artırdığı tespit edilmiştir.

Sunulan tıpta uzmanlık tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre, sıçanlarda ağırlık düşürme yöntemi ile oluşturulan hafif TBH sonrası PTZ ile indüklenen PTE modelinde, dört hafta boyunca oral gavaj ile uygulanan LEV ve LCM ile bunların prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik kombinasyonlarını kapsayan tedavi uygulamalarında ilgili antiepileptik ilaçlar ile birlikte uygulanan VSL#3 şeklindeki probiyotiklerin antiepileptik etkinliği güçlendirdiği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Golub, V. M., & Reddy, D. S. (2022a). Post-Traumatic Epilepsy and Comorbidities: Advanced Models, Molecular Mechanisms, Biomarkers, and Novel Therapeutic Interventions. *Pharmacological reviews*, 74(2), 387–438. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000375>
2. Dewan, M. C., Rattani, A., Gupta, S., Baticulon, R. E., Hung, Y. C., Punchak, M., Agrawal, A., Adeleye, A. O., Shrimel, M. G., Rubiano, A. M., Rosenfeld, J. V., & Park, K. B. (2018). Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *Journal of neurosurgery*, 1–18. Advance online publication. <https://doi.org/10.3171/2017.10.JNS17352>
3. Maas, A. I. R., Menon, D. K., Adelson, P. D., Andelic, N., Bell, M. J., Belli, A., Bragge, P., Brazinova, A., Büki, A., Chesnut, R. M., Citerio, G., Coburn, M., Cooper, D. J., Crowder, A. T., Czeiter, E., Czosnyka, M., Diaz-Arrastia, R., Dreier, J. P., Duhaime, A. C., Ercole, A., ... InTBIR Participants and Investigators (2017). Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research. *The Lancet. Neurology*, 16(12), 987–1048. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30371-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30371-X)
4. Immonen, R., Harris, N. G., Wright, D., Johnston, L., Manninen, E., Smith, G., Paydar, A., Branch, C., & Grohn, O. (2019). Imaging biomarkers of epileptogenesis after traumatic brain injury - Preclinical frontiers. *Neurobiology of disease*, 123, 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.10.008>
5. Englander, J., Bushnik, T., Duong, T. T., Cifu, D. X., Zafonte, R., Wright, J., Hughes, R., & Bergman, W. (2003). Analyzing risk factors for late posttraumatic seizures: a prospective, multicenter investigation. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 84(3), 365–373. <https://doi.org/10.1053/apmr.2003.50022>
6. Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Jr, Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475–482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
7. Boylan, K. R., Bieling, P. J., Marriott, M., Begin, H., Young, L. T., & MacQueen, G. M. (2004). Impact of comorbid anxiety disorders on outcome in a cohort of patients with bipolar disorder. *The Journal of clinical psychiatry*, 65(8), 1106–1113. <https://doi.org/10.4088/jcp.v65n0813>
8. Szemere, E., & Jokeit, H. (2015). Quality of life is social--towards an improvement of social abilities in patients with epilepsy. *Seizure*, 26, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2014.12.008>
9. Dalic, L., & Cook, M. J. (2016). Managing drug-resistant epilepsy: challenges and solutions. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 12, 2605–2616. <https://doi.org/10.2147/NDT.S84852>

10. Sharma, S., Tiarks, G., Haight, J., & Bassuk, A. G. (2021). Neuropathophysiological Mechanisms and Treatment Strategies for Post-traumatic Epilepsy. *Frontiers in molecular neuroscience*, 14, 612073. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.612073>
11. Varvel, N. H., Jiang, J., & Dingledine, R. (2015). Candidate drug targets for prevention or modification of epilepsy. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 55, 229–247. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010814-124607>
12. Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS biology*, 14(8), e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
13. Darch, H., & McCafferty, C. P. (2022). Gut microbiome effects on neuronal excitability & activity: Implications for epilepsy. *Neurobiology of disease*, 165, 105629. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105629>
14. De Caro, C., Iannone, L. F., Citraro, R., Striano, P., De Sarro, G., Constanti, A., Cryan, J. F., & Russo, E. (2019). Can we 'seize' the gut microbiota to treat epilepsy?. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 107, 750–764. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.10.002>
15. Arlinghaus KA, Shoaib AM, Price TRP. Neuropsychiatric assessment. In: Silver JM, McAllister TM, Yudofsky SC, editors. *Text-book of Traumatic Brain Injury*. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, Inc (2005). p.59–78
16. Capizzi, A., Woo, J., & Verduzco-Gutierrez, M. (2020). Traumatic Brain Injury: An Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Medical Management. *The Medical clinics of North America*, 104(2), 213–238. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.11.001>
17. Zasler ND, Katz DI, Zafonte RD. *Brain injury medicine*. 2nd edition. New York: Demos Medical Publishing, LLC; 2013.
18. Khellaf, A., Khan, D. Z., & Helmy, A. (2019). Recent advances in traumatic brain injury. *Journal of neurology*, 266(11), 2878–2889. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09541-4>
19. Vos, P. E., Alekseenko, Y., Battistin, L., Ehler, E., Gerstenbrand, F., Muresanu, D. F., Potapov, A., Stepan, C. A., Traubner, P., Vecsei, L., von Wild, K., & European Federation of Neurological Societies (2012). Mild traumatic brain injury. *European journal of neurology*, 19(2), 191–198. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2011.03581.x>
20. GBD 2016 Traumatic Brain Injury and Spinal Cord Injury Collaborators (2019). Global, regional, and national burden of traumatic brain injury and spinal cord injury, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Neurology*, 18(1), 56–87. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30415-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30415-0)
21. Frey L. C. (2003). Epidemiology of posttraumatic epilepsy: a critical review. *Epilepsia*, 44(s10), 11–17. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.44.s10.4.x>
22. Centers for Disease Control and Prevention. Traumatic Brain Injury & Concussion. <https://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/data/index.html> (Accessed on July 06.06.2023)

23. Jennett B. (1996). Epidemiology of head injury. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 60(4), 362–369. <https://doi.org/10.1136/jnnp.60.4.362>
24. Daugherty, J., Waltzman, D., Sarmiento, K., & Xu, L. (2019). Traumatic Brain Injury-Related Deaths by Race/Ethnicity, Sex, Intent, and Mechanism of Injury - United States, 2000-2017. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 68(46), 1050–1056. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6846a2>
25. Iaccarino, C., Carretta, A., Nicolosi, F., & Morselli, C. (2018). Epidemiology of severe traumatic brain injury. *Journal of neurosurgical sciences*, 62(5), 535–541. <https://doi.org/10.23736/S0390-5616.18.04532-0>
26. Guerriero, R. M., Proctor, M. R., Mannix, R., & Meehan, W. P., 3rd (2012). Epidemiology, trends, assessment and management of sport-related concussion in United States high schools. *Current opinion in pediatrics*, 24(6), 696–701. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e3283595175>
27. Xydakis, M. S., Ling, G. S., Mulligan, L. P., Olsen, C. H., & Dorlac, W. C. (2012). Epidemiologic aspects of traumatic brain injury in acute combat casualties at a major military medical center: a cohort study. *Annals of neurology*, 72(5), 673–681. <https://doi.org/10.1002/ana.23757>
28. Hoge, C. W., McGurk, D., Thomas, J. L., Cox, A. L., Engel, C. C., & Castro, C. A. (2008). Mild traumatic brain injury in U.S. Soldiers returning from Iraq. *The New England journal of medicine*, 358(5), 453–463. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa072972>
29. DOD numbers for traumatic brain injury: Worldwide - Totals. <https://health.mil/Military-Health-Topics/Centers-of-Excellence/Traumatic-Brain-Injury-Center-of-Excellence/DOD-TBI-Worldwide-Numbers> (Accessed on July 06.06.2023)
30. Kraus, J. F., & McArthur, D. L. (1996). Epidemiologic aspects of brain injury. *Neurologic clinics*, 14(2), 435–450. [https://doi.org/10.1016/s0733-8619\(05\)70266-8](https://doi.org/10.1016/s0733-8619(05)70266-8)
31. Feigin, V. L., Theadom, A., Barker-Collo, S., Starkey, N. J., McPherson, K., Kahan, M., Dowell, A., Brown, P., Parag, V., Kydd, R., Jones, K., Jones, A., Ameratunga, S., & BIONIC Study Group (2013). Incidence of traumatic brain injury in New Zealand: a population-based study. *The Lancet. Neurology*, 12(1), 53–64. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70262-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70262-4)
32. Kaur, P., & Sharma, S. (2018). Recent Advances in Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Current neuropharmacology*, 16(8), 1224–1238. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170613083606>
33. Harhangi, B. S., Kompanje, E. J., Leebeek, F. W., & Maas, A. I. (2008). Coagulation disorders after traumatic brain injury. *Acta neurochirurgica*, 150(2), 165–175. <https://doi.org/10.1007/s00701-007-1475-8>

34. Hellewell, S. C., Ziebell, J. M., Lifshitz, J., & Morganti-Kossmann, M. C. (2016). Impact Acceleration Model of Diffuse Traumatic Brain Injury. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1462, 253–266. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3816-2_15
35. Unterberg, A. W., Stover, J., Kress, B., & Kiening, K. L. (2004). Edema and brain trauma. *Neuroscience*, 129(4), 1021–1029. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.046>
36. Baracaldo-Santamaría, D., Ariza-Salamanca, D. F., Corrales-Hernández, M. G., Pachón-Londoño, M. J., Hernandez-Duarte, I., & Calderon-Ospina, C. A. (2022). Revisiting Excitotoxicity in Traumatic Brain Injury: From Bench to Bedside. *Pharmaceutics*, 14(1), 152. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010152>
37. Marmarou, A., Fatouros, P. P., Barzó, P., Portella, G., Yoshihara, M., Tsuji, O., Yamamoto, T., Laine, F., Signoretti, S., Ward, J. D., Bullock, M. R., & Young, H. F. (2000). Contribution of edema and cerebral blood volume to traumatic brain swelling in head-injured patients. *Journal of neurosurgery*, 93(2), 183–193. <https://doi.org/10.3171/jns.2000.93.2.0183>
38. DeWitt, D. S., & Prough, D. S. (2003). Traumatic cerebral vascular injury: the effects of concussive brain injury on the cerebral vasculature. *Journal of neurotrauma*, 20(9), 795–825. <https://doi.org/10.1089/089771503322385755>
39. Werner, C., & Engelhard, K. (2007). Pathophysiology of traumatic brain injury. *British journal of anaesthesia*, 99(1), 4–9. <https://doi.org/10.1093/bja/aem131>
40. Ng, S. Y., & Lee, A. Y. W. (2019). Traumatic Brain Injuries: Pathophysiology and Potential Therapeutic Targets. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 528. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00528>
41. Singh, I. N., Sullivan, P. G., Deng, Y., Mbye, L. H., & Hall, E. D. (2006). Time course of post-traumatic mitochondrial oxidative damage and dysfunction in a mouse model of focal traumatic brain injury: implications for neuroprotective therapy. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 26(11), 1407–1418. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600297>
42. Dong, X. X., Wang, Y., & Qin, Z. H. (2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta pharmacologica Sinica*, 30(4), 379–387. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.24>
43. Gao, X., Deng-Bryant, Y., Cho, W., Carrico, K. M., Hall, E. D., & Chen, J. (2008). Selective death of newborn neurons in hippocampal dentate gyrus following moderate experimental traumatic brain injury. *Journal of neuroscience research*, 86(10), 2258–2270. <https://doi.org/10.1002/jnr.21677>
44. Zhou, H., Chen, L., Gao, X., Luo, B., & Chen, J. (2012). Moderate traumatic brain injury triggers rapid necrotic death of immature neurons in the hippocampus. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 71(4), 348–359. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31824ea078>

45. Zhao, Y. L., Xiang, Q., Shi, Q. Y., Li, S. Y., Tan, L., Wang, J. T., Jin, X. G., & Luo, A. L. (2011). GABAergic excitotoxicity injury of the immature hippocampal pyramidal neurons' exposure to isoflurane. *Anesthesia and analgesia*, 113(5), 1152–1160. <https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e318230b3fd>
46. Wang, T., Huang, X. J., Van, K. C., Went, G. T., Nguyen, J. T., & Lyeth, B. G. (2014). Amantadine improves cognitive outcome and increases neuronal survival after fluid percussion traumatic brain injury in rats. *Journal of neurotrauma*, 31(4), 370–377. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.2917>
47. Bayir, H., Kagan, V. E., Borisenko, G. G., Tyurina, Y. Y., Janesko, K. L., Vagni, V. A., Billiar, T. R., Williams, D. L., & Kochanek, P. M. (2005). Enhanced oxidative stress in iNOS-deficient mice after traumatic brain injury: support for a neuroprotective role of iNOS. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 25(6), 673–684. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600068>
48. Shao, C., Roberts, K. N., Markesbery, W. R., Scheff, S. W., & Lovell, M. A. (2006). Oxidative stress in head trauma in aging. *Free radical biology & medicine*, 41(1), 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.03.007>
49. Nilsson, B., & Nordström, C. H. (1977). Rate of cerebral energy consumption in concussive head injury in the rat. *Journal of neurosurgery*, 47(2), 274–281. <https://doi.org/10.3171/jns.1977.47.2.0274>
50. Inao, S., Marmarou, A., Clarke, G. D., Andersen, B. J., Fatouros, P. P., & Young, H. F. (1988). Production and clearance of lactate from brain tissue, cerebrospinal fluid, and serum following experimental brain injury. *Journal of neurosurgery*, 69(5), 736–744. <https://doi.org/10.3171/jns.1988.69.5.0736>
51. Zhang, Z., Artelt, M., Burnet, M., Trautmann, K., & Schluesener, H. J. (2006). Early infiltration of CD8+ macrophages/microglia to lesions of rat traumatic brain injury. *Neuroscience*, 141(2), 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.027>
52. Schmidt, E. A., Czosnyka, M., Steiner, L. A., Balestreri, M., Smielewski, P., Piechnik, S. K., Matta, B. F., & Pickard, J. D. (2003). Asymmetry of pressure autoregulation after traumatic brain injury. *Journal of neurosurgery*, 99(6), 991–998. <https://doi.org/10.3171/jns.2003.99.6.0991>
53. Lang, E. W., Czosnyka, M., & Mehdorn, H. M. (2003). Tissue oxygen reactivity and cerebral autoregulation after severe traumatic brain injury. *Critical care medicine*, 31(1), 267–271. <https://doi.org/10.1097/00003246-200301000-00042>
54. Enevoldsen, E. M., & Jensen, F. T. (1978). Autoregulation and CO₂ responses of cerebral blood flow in patients with acute severe head injury. *Journal of neurosurgery*, 48(5), 689–703. <https://doi.org/10.3171/jns.1978.48.5.0689>

55. Lee, J. H., Kelly, D. F., Oertel, M., McArthur, D. L., Glenn, T. C., Vespa, P., Boscardin, W. J., & Martin, N. A. (2001). Carbon dioxide reactivity, pressure autoregulation, and metabolic suppression reactivity after head injury: a transcranial Doppler study. *Journal of neurosurgery*, 95(2), 222–232. <https://doi.org/10.3171/jns.2001.95.2.0222>
56. Kushner D. (1998). Mild traumatic brain injury: toward understanding manifestations and treatment. *Archives of internal medicine*, 158(15), 1617–1624. <https://doi.org/10.1001/archinte.158.15.1617>
57. Synnot, A., Chau, M., Pitt, V., O'Connor, D., Gruen, R. L., Wasiak, J., Clavisi, O., Pattuwage, L., & Phillips, K. (2017). Interventions for managing skeletal muscle spasticity following traumatic brain injury. *The Cochrane database of systematic reviews*, 11(11), CD008929. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008929.pub2>
58. Moon D. (2022). Disorders of Movement due to Acquired and Traumatic Brain Injury. *Current physical medicine and rehabilitation reports*, 10(4), 311–323. <https://doi.org/10.1007/s40141-022-00368-1>
59. Costanzo R.M., Zasler N.D. Epidemiology and pathophysiology of olfactory and gustatory dysfunction in head trauma. *J Head Trauma Rehabil.* 1992;7:15–24
60. McInnes, K., Friesen, C. L., MacKenzie, D. E., Westwood, D. A., & Boe, S. G. (2017). Mild Traumatic Brain Injury (mTBI) and chronic cognitive impairment: A scoping review. *PloS one*, 12(4), e0174847. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174847>
61. Permenter, C. M., Fernández-de Thomas, R. J., & Sherman, A. L. (2022). Postconcussive Syndrome. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
62. Melamed, E., Robinson, D., Halperin, N., Wallach, N., Keren, O., & Groswasser, Z. (2002). Brain injury-related heterotopic bone formation: treatment strategy and results. *American journal of physical medicine & rehabilitation*, 81(9), 670–674. <https://doi.org/10.1097/00002060-200209000-00006>
63. Kumar, R. G., Gao, S., Juengst, S. B., Wagner, A. K., & Fabio, A. (2018). The effects of post-traumatic depression on cognition, pain, fatigue, and headache after moderate-to-severe traumatic brain injury: a thematic review. *Brain injury*, 32(4), 383–394. <https://doi.org/10.1080/02699052.2018.1427888>
64. Grauwmeijer, E., Heijenbrok-Kal, M. H., Peppel, L. D., Hartjes, C. J., Haitsma, I. K., de Koning, I., & Ribbers, G. M. (2018). Cognition, Health-Related Quality of Life, and Depression Ten Years after Moderate to Severe Traumatic Brain Injury: A Prospective Cohort Study. *Journal of neurotrauma*, 35(13), 1543–1551. <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5404>
65. Stein, T. D., Alvarez, V. E., & McKee, A. C. (2014). Chronic traumatic encephalopathy: a spectrum of neuropathological changes following repetitive brain trauma in athletes and military personnel. *Alzheimer's research & therapy*, 6(1), 4. <https://doi.org/10.1186/alzrt234>

66. Maroon, J. C., Winkelman, R., Bost, J., Amos, A., Mathyssek, C., & Miele, V. (2015). Chronic traumatic encephalopathy in contact sports: a systematic review of all reported pathological cases. *PloS one*, 10(2), e0117338. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117338>
67. Asken, B. M., Sullan, M. J., DeKosky, S. T., Jaffee, M. S., & Bauer, R. M. (2017). Research Gaps and Controversies in Chronic Traumatic Encephalopathy: A Review. *JAMA neurology*, 74(10), 1255–1262. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.2396>
68. Pitkänen, A., & McIntosh, T. K. (2006). Animal models of post-traumatic epilepsy. *Journal of neurotrauma*, 23(2), 241–261. <https://doi.org/10.1089/neu.2006.23.241>
69. Verellen, R. M., & Cavazos, J. E. (2010). Post-traumatic epilepsy: an overview. *Therapy* (London, England : 2004), 7(5), 527–531. <https://doi.org/10.2217/THY.10.57>
70. Ferguson, P. L., Smith, G. M., Wannamaker, B. B., Thurman, D. J., Pickelsimer, E. E., & Selassie, A. W. (2010). A population-based study of risk of epilepsy after hospitalization for traumatic brain injury. *Epilepsia*, 51(5), 891–898. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02384.x>
71. Temkin N. R. (2003). Risk factors for posttraumatic seizures in adults. *Epilepsia*, 44(s10), 18–20. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.44.s10.6.x>
72. Piccenna, L., Shears, G., & O'Brien, T. J. (2017). Management of post-traumatic epilepsy: An evidence review over the last 5 years and future directions. *Epilepsia open*, 2(2), 123–144. <https://doi.org/10.1002/epi4.12049>
73. Vella, M. A., Crandall, M. L., & Patel, M. B. (2017). Acute Management of Traumatic Brain Injury. *The Surgical clinics of North America*, 97(5), 1015–1030. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2017.06.003>
74. Sharma, R., Leung, W. L., Zamani, A., O'Brien, T. J., Casillas Espinosa, P. M., & Semple, B. D. (2019). Neuroinflammation in Post-Traumatic Epilepsy: Pathophysiology and Tractable Therapeutic Targets. *Brain sciences*, 9(11), 318. <https://doi.org/10.3390/brainsci9110318>
75. Wiles M. D. (2022). Management of traumatic brain injury: a narrative review of current evidence. *Anaesthesia*, 77 Suppl 1, 102–112. <https://doi.org/10.1111/anae.15608>
76. CRASH-3 trial collaborators (2019). Effects of tranexamic acid on death, disability, vascular occlusive events and other morbidities in patients with acute traumatic brain injury (CRASH-3): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England), 394(10210), 1713–1723. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32233-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32233-0)
77. Lawati, K. A., Sharif, S., Maqbali, S. A., Rimawi, H. A., Petrosoniak, A., Belley-Cote, E. P., Sharma, S. V., Morgenstern, J., Fernando, S. M., Owen, J. J., Zeller, M., Quinlan, D., Alhazzani, W., & Rochwerf, B. (2021). Efficacy and safety of tranexamic acid in acute traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Intensive care medicine*, 47(1), 14–27. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06279-w>

78. Hutchinson, P. J., Adams, H., Mohan, M., Devi, B. I., Uff, C., Hasan, S., Mee, H., Wilson, M. H., Gupta, D. K., Bulters, D., Zolnourian, A., McMahon, C. J., Stovell, M. G., Al-Tamimi, Y. Z., Tewari, M. K., Tripathi, M., Thomson, S., Viaroli, E., Belli, A., King, A. T., ... RESCUE-ASDH Trial Collaborators (2023). Decompressive Craniectomy versus Craniotomy for Acute Subdural Hematoma. *The New England journal of medicine*, 388(24), 2219–2229. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2214172>
79. Hutchinson, P. J., Kolias, A. G., Tajsic, T., Adeleye, A., Aklilu, A. T., Apriawan, T., Bajamal, A. H., Barthélemy, E. J., Devi, B. I., Bhat, D., Bulters, D., Chesnut, R., Citerio, G., Cooper, D. J., Czosnyka, M., Edem, I., El-Ghandour, N. M. F., Figaji, A., Fountas, K. N., Gallagher, C., ... Servadei, F. (2019). Consensus statement from the International Consensus Meeting on the Role of Decompressive Craniectomy in the Management of Traumatic Brain Injury : Consensus statement. *Acta neurochirurgica*, 161(7), 1261–1274. <https://doi.org/10.1007/s00701-019-03936-y>
80. Galgano, M., Toshkezi, G., Qiu, X., Russell, T., Chin, L., & Zhao, L. R. (2017). Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors. *Cell transplantation*, 26(7), 1118–1130. <https://doi.org/10.1177/0963689717714102>
81. Bullock, M. R., Chesnut, R., Ghajar, J., Gordon, D., Hartl, R., Newell, D. W., Servadei, F., Walters, B. C., Wilberger, J. E., & Surgical Management of Traumatic Brain Injury Author Group (2006). Surgical management of acute subdural hematomas. *Neurosurgery*, 58(3 Suppl), S16–iv.
82. Carney, N., Totten, A. M., O'Reilly, C., Ullman, J. S., Hawryluk, G. W., Bell, M. J., ... & Ghajar, J. (2017). Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. *Neurosurgery*, 80(1), 6-15.
83. Roquilly, A., Moyer, J. D., Huet, O., Lasocki, S., Cohen, B., Dahyot-Fizelier, C., Chalard, K., Seguin, P., Jeantrelle, C., Vermeersch, V., Gaillard, T., Cinotti, R., Demeure Dit Latte, D., Mahe, P. J., Vourc'h, M., Martin, F. P., Chopin, A., Lerebourg, C., Flet, L., Chiffolleau, A., ... Atlanrea Study Group and the Société Française d'Anesthésie Réanimation (SFAR) Research Network (2021). Effect of Continuous Infusion of Hypertonic Saline vs Standard Care on 6-Month Neurological Outcomes in Patients With Traumatic Brain Injury: The COBI Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 325(20), 2056–2066. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.5561>
84. Tenny, S., Patel, R., & Thorell, W. (2022). Mannitol. In StatPearls. StatPearls Publishing.
85. Bayir, H., Adelson, P. D., Wisniewski, S. R., Shore, P., Lai, Y., Brown, D., Janesko-Feldman, K. L., Kagan, V. E., & Kochanek, P. M. (2009). Therapeutic hypothermia preserves antioxidant defenses after severe traumatic brain injury in infants and children. *Critical care medicine*, 37(2), 689–695. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318194abf2>

86. Sandestig, A., Romner, B., & Grände, P. O. (2014). Therapeutic Hypothermia in Children and Adults with Severe Traumatic Brain Injury. *Therapeutic hypothermia and temperature management*, 4(1), 10–20. <https://doi.org/10.1089/ther.2013.0024>
87. Matsushima, K., Leichtle, S. W., Wild, J., Young, K., Chang, G., Demetriades, D., & EAST ACT-TBI Multicenter Study Group (2021). Anticoagulation therapy in patients with traumatic brain injury: An Eastern Association for the Surgery of Trauma multicenter prospective study. *Surgery*, 169(2), 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2020.07.040>
88. Eisenberg, H. M., Frankowski, R. F., Contant, C. F., Marshall, L. F., & Walker, M. D. (1988). High-dose barbiturate control of elevated intracranial pressure in patients with severe head injury. *Journal of neurosurgery*, 69(1), 15–23. <https://doi.org/10.3171/jns.1988.69.1.0015>
89. Xu, J. C., Shen, J., Shao, W. Z., Tang, L. J., Sun, Y. Z., Zhai, X. F., Qi, L., Li, J., & Zheng, J. Y. (2016). The safety and efficacy of levetiracetam versus phenytoin for seizure prophylaxis after traumatic brain injury: A systematic review and meta-analysis. *Brain injury*, 30(9), 1054–1061. <https://doi.org/10.3109/02699052.2016.1170882>
90. DJohn, J., Ibrahim, R., Patel, P., DeHoff, K., & Kolbe, N. (2020). Administration of Levetiracetam in Traumatic Brain Injury: Is it Warranted?. *Cureus*, 12(7), e9117. <https://doi.org/10.7759/cureus.9117>
91. Xiong, Y., Mahmood, A., & Chopp, M. (2013). Animal models of traumatic brain injury. *Nature reviews. Neuroscience*, 14(2), 128–142. <https://doi.org/10.1038/nrn3407>
92. Dai, J. X., Ma, Y. B., Le, N. Y., Cao, J., & Wang, Y. (2018). Large animal models of traumatic brain injury. *The International journal of neuroscience*, 128(3), 243–254. <https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1380008>
93. Ma, X., Aravind, A., Pfister, B. J., Chandra, N., & Haorah, J. (2019). Animal Models of Traumatic Brain Injury and Assessment of Injury Severity. *Molecular neurobiology*, 56(8), 5332–5345. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1454-5>
94. West, M., Parkinson, D., & Havlicek, V. (1982). Spectral analysis of the electroencephalographic response in experimental concussion in the rat. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 53(2), 192–200. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(82\)90023-2](https://doi.org/10.1016/0013-4694(82)90023-2)
95. Shreiber, D. I., Bain, A. C., Ross, D. T., Smith, D. H., Gennarelli, T. A., McIntosh, T. K., & Meaney, D. F. (1999). Experimental investigation of cerebral contusion: histopathological and immunohistochemical evaluation of dynamic cortical deformation. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 58(2), 153–164. <https://doi.org/10.1097/00005072-199902000-00005>
96. Thompson, H. J., Lifshitz, J., Marklund, N., Grady, M. S., Graham, D. I., Hovda, D. A., & McIntosh, T. K. (2005). Lateral fluid percussion brain injury: a 15-year review and evaluation. *Journal of neurotrauma*, 22(1), 42–75. <https://doi.org/10.1089/neu.2005.22.42>

97. Ziebell, J. M., Rowe, R. K., Harrison, J. L., Eakin, K. C., Colburn, T., Willyerd, F. A., & Lifshitz, J. (2016). Experimental diffuse brain injury results in regional alteration of gross vascular morphology independent of neuropathology. *Brain injury*, 30(2), 217–224. <https://doi.org/10.3109/02699052.2015.1090012>
98. McIntosh, T. K., Vink, R., Noble, L., Yamakami, I., Fernyak, S., Soares, H., & Faden, A. L. (1989). Traumatic brain injury in the rat: characterization of a lateral fluid-percussion model. *Neuroscience*, 28(1), 233–244. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90247-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90247-9)
99. Witcher, K. G., Dziabis, J. E., Bray, C. E., Gordillo, A. J., Kumar, J. E., Eiferman, D. S., Godbout, J. P., & Kokiko-Cochran, O. N. (2020). Comparison between midline and lateral fluid percussion injury in mice reveals prolonged but divergent cortical neuroinflammation. *Brain research*, 1746, 146987. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146987>
100. Hamm R. J. (2001). Neurobehavioral assessment of outcome following traumatic brain injury in rats: an evaluation of selected measures. *Journal of neurotrauma*, 18(11), 1207–1216. <https://doi.org/10.1089/089771501317095241>
101. Lighthall J. W. (1988). Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model. *Journal of neurotrauma*, 5(1), 1–15. <https://doi.org/10.1089/neu.1988.5.1>
102. Dixon, C. E., Clifton, G. L., Lighthall, J. W., Yaghmai, A. A., & Hayes, R. L. (1991). A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 39(3), 253–262. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(91\)90104-8](https://doi.org/10.1016/0165-0270(91)90104-8)
103. Smith, D. H., Soares, H. D., Pierce, J. S., Perlman, K. G., Saatman, K. E., Meaney, D. F., Dixon, C. E., & McIntosh, T. K. (1995). A model of parasagittal controlled cortical impact in the mouse: cognitive and histopathologic effects. *Journal of neurotrauma*, 12(2), 169–178. <https://doi.org/10.1089/neu.1995.12.169>
104. Manley, G. T., Rosenthal, G., Lam, M., Morabito, D., Yan, D., Derugin, N., Bollen, A., Knudson, M. M., & Panter, S. S. (2006). Controlled cortical impact in swine: pathophysiology and biomechanics. *Journal of neurotrauma*, 23(2), 128–139. <https://doi.org/10.1089/neu.2006.23.128>
105. King, C., Robinson, T., Dixon, C. E., Rao, G. R., Larnard, D., & Nemoto, C. E. (2010). Brain temperature profiles during epidural cooling with the ChillerPad in a monkey model of traumatic brain injury. *Journal of neurotrauma*, 27(10), 1895–1903. <https://doi.org/10.1089/neu.2009.1178>
106. Shapira, Y., Shohami, E., Sidi, A., Soffer, D., Freeman, S., & Cotev, S. (1988). Experimental closed head injury in rats: mechanical, pathophysiologic, and neurologic properties. *Critical care medicine*, 16(3), 258–265. <https://doi.org/10.1097/00003246-198803000-00010>
107. Foda, M. A., & Marmarou, A. (1994). A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. *Journal of neurosurgery*, 80(2), 301–313. <https://doi.org/10.3171/jns.1994.80.2.0301>

108. Feeney, D. M., Boyeson, M. G., Linn, R. T., Murray, H. M., & Dail, W. G. (1981). Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain research*, 211(1), 67–77. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90067-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90067-6)
109. Marmarou, A., Foda, M. A., van den Brink, W., Campbell, J., Kita, H., & Demetriadou, K. (1994). A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *Journal of neurosurgery*, 80(2), 291–300. <https://doi.org/10.3171/jns.1994.80.2.0291>
110. Hsieh, T. H., Kang, J. W., Lai, J. H., Huang, Y. Z., Rotenberg, A., Chen, K. Y., Wang, J. Y., Chan, S. Y., Chen, S. C., Chiang, Y. H., & Peng, C. W. (2017). Relationship of mechanical impact magnitude to neurologic dysfunction severity in a rat traumatic brain injury model. *PloS one*, 12(5), e0178186. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178186>
111. Kilbourne, M., Kuehn, R., Tosun, C., Caridi, J., Keledjian, K., Bochicchio, G., Scalea, T., Gerzanich, V., & Simard, J. M. (2009). Novel model of frontal impact closed head injury in the rat. *Journal of neurotrauma*, 26(12), 2233–2243. <https://doi.org/10.1089/neu.2009.0968>
112. Chen, Y., Constantini, S., Trembovler, V., Weinstock, M., & Shohami, E. (1996). An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *Journal of neurotrauma*, 13(10), 557–568. <https://doi.org/10.1089/neu.1996.13.557>
113. Kane, M. J., Angoa-Pérez, M., Briggs, D. I., Viano, D. C., Kreipke, C. W., & Kuhn, D. M. (2012). A mouse model of human repetitive mild traumatic brain injury. *Journal of neuroscience methods*, 203(1), 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2011.09.003>
114. Shultz, S. R., Bao, F., Omana, V., Chiu, C., Brown, A., & Cain, D. P. (2012). Repeated mild lateral fluid percussion brain injury in the rat causes cumulative long-term behavioral impairments, neuroinflammation, and cortical loss in an animal model of repeated concussion. *Journal of neurotrauma*, 29(2), 281–294. <https://doi.org/10.1089/neu.2011.2123>
115. Shah, E. J., Gurdziel, K., & Ruden, D. M. (2019). Mammalian Models of Traumatic Brain Injury and a Place for *Drosophila* in TBI Research. *Frontiers in neuroscience*, 13, 409. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00409>
116. Reneer, D. V., Hisel, R. D., Hoffman, J. M., Kryscio, R. J., Lusk, B. T., & Geddes, J. W. (2011). A multi-mode shock tube for investigation of blast-induced traumatic brain injury. *Journal of neurotrauma*, 28(1), 95–104. <https://doi.org/10.1089/neu.2010.1513>
117. Elder, G. A., & Cristian, A. (2009). Blast-related mild traumatic brain injury: mechanisms of injury and impact on clinical care. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 76(2), 111–118. <https://doi.org/10.1002/msj.20098>
118. Sundaramurthy, A., Alai, A., Ganpule, S., Holmberg, A., Plougonven, E., & Chandra, N. (2012). Blast-induced biomechanical loading of the rat: an experimental and anatomically accurate computational blast injury model. *Journal of neurotrauma*, 29(13), 2352–2364. <https://doi.org/10.1089/neu.2012.2413>

119. Williams, A. J., Hartings, J. A., Lu, X. C., Rolli, M. L., Dave, J. R., & Tortella, F. C. (2005). Characterization of a new rat model of penetrating ballistic brain injury. *Journal of neurotrauma*, 22(2), 313–331. <https://doi.org/10.1089/neu.2005.22.313>
120. Magiorkinis, E., Sidiropoulou, K., & Diamantis, A. (2010). Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. *Epilepsy & behavior : E&B*, 17(1), 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.10.023>
121. Blair R. D. (2012). Temporal lobe epilepsy semiology. *Epilepsy research and treatment*, 2012, 751510. <https://doi.org/10.1155/2012/751510>
122. Patel, P., & Moshé, S. L. (2020). The evolution of the concepts of seizures and epilepsy: What's in a name?. *Epilepsia open*, 5(1), 22–35. <https://doi.org/10.1002/epi4.12375>
123. Wilson, J. V., & Reynolds, E. H. (1990). Texts and documents. Translation and analysis of a cuneiform text forming part of a Babylonian treatise on epilepsy. *Medical history*, 34(2), 185–198. <https://doi.org/10.1017/s0025727300050651>
124. Kaculini, C. M., Tate-Looney, A. J., & Seifi, A. (2021). The History of Epilepsy: From Ancient Mystery to Modern Misconception. *Cureus*, 13(3), e13953. <https://doi.org/10.7759/cureus.13953>
125. Pirkner E. H. (1929). Epilepsy in the Light of History. *Annals of medical history*, 1(4), 453–480.
126. Falco-Walter, J. J., Scheffer, I. E., & Fisher, R. S. (2018). The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy research*, 139, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.11.015>
127. Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., & Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 522–530. <https://doi.org/10.1111/epi.13670>
128. Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., & Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512–521. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>
129. Hildebrand, M. S., Dahl, H. H., Damiano, J. A., Smith, R. J., Scheffer, I. E., & Berkovic, S. F. (2013). Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *Journal of medical genetics*, 50(5), 271–279. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101448>
130. McTague, A., Howell, K. B., Cross, J. H., Kurian, M. A., & Scheffer, I. E. (2016). The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *The Lancet. Neurology*, 15(3), 304–316. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00250-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00250-1)

131. Vezzani, A., Fujinami, R. S., White, H. S., Preux, P. M., Blümcke, I., Sander, J. W., & Löscher, W. (2016). Infections, inflammation and epilepsy. *Acta neuropathologica*, 131(2), 211–234. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1481-5>
132. Lin Lin Lee, V., Kar Meng Choo, B., Chung, Y. S., P Kundap, U., Kumari, Y., & Shaikh, M. F. (2018). Treatment, Therapy and Management of Metabolic Epilepsy: A Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, 19(3), 871. <https://doi.org/10.3390/ijms19030871>
133. Correll C. M. (2013). Antibodies in epilepsy. *Current neurology and neuroscience reports*, 13(5), 348. <https://doi.org/10.1007/s11910-013-0348-1>
134. Fiest, K. M., Sauro, K. M., Wiebe, S., Patten, S. B., Kwon, C. S., Dykeman, J., Pringsheim, T., Lorenzetti, D. L., & Jetté, N. (2017). Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*, 88(3), 296–303. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003509>
135. Beghi E. (2020). The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*, 54(2), 185–191. <https://doi.org/10.1159/000503831>
136. Fisher, R. S., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J., Jr (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470–472. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>
137. van van Hugte, E. J. H., Schubert, D., & Nadif Kasri, N. (2023). Excitatory/inhibitory balance in epilepsies and neurodevelopmental disorders: Depolarizing γ -aminobutyric acid as a common mechanism. *Epilepsia*, 64(8), 1975–1990. <https://doi.org/10.1111/epi.17651>
138. Cope, D. W., Di Giovanni, G., Fyson, S. J., Orbán, G., Errington, A. C., Lorincz, M. L., Gould, T. M., Carter, D. A., & Crunelli, V. (2009). Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nature medicine*, 15(12), 1392–1398. <https://doi.org/10.1038/nm.2058>
139. Kobow, K., Auvin, S., Jensen, F., Löscher, W., Mody, I., Potschka, H., Prince, D., Sierra, A., Simonato, M., Pitkänen, A., Nehlig, A., & Rho, J. M. (2012). Finding a better drug for epilepsy: antiepileptogenesis targets. *Epilepsia*, 53(11), 1868–1876. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03716.x>
140. Ravizza, T., Balosso, S., & Vezzani, A. (2011). Inflammation and prevention of epileptogenesis. *Neuroscience letters*, 497(3), 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.02.040>
141. Devinsky, O., Vezzani, A., Najjar, S., De Lanerolle, N. C., & Rogawski, M. A. (2013). Glia and epilepsy: excitability and inflammation. *Trends in neurosciences*, 36(3), 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.11.008>
142. Brignole, M., Moya, A., de Lange, F. J., Deharo, J. C., Elliott, P. M., Fanciulli, A., Fedorowski, A., Furlan, R., Kenny, R. A., Martín, A., Probst, V., Reed, M. J., Rice, C. P., Sutton, R., Ungar, A., van Dijk, J. G., & ESC Scientific Document Group (2018). 2018 ESC Guidelines for the

- diagnosis and management of syncope. *European heart journal*, 39(21), 1883–1948.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy037>
143. Koutroumanidis, M., Arzimanoglou, A., Caraballo, R., Goyal, S., Kaminska, A., Laoprasert, P., Oguni, H., Rubboli, G., Tatum, W., Thomas, P., Trinka, E., Vignatelli, L., & Moshé, S. L. (2017). The role of EEG in the diagnosis and classification of the epilepsy syndromes: a tool for clinical practice by the ILAE Neurophysiology Task Force (Part 1). *Epileptic disorders : international epilepsy journal with videotape*, 19(3), 233–298.
<https://doi.org/10.1684/epd.2017.0935>
 144. Wang, J., & Zhao, J. (2021). MicroRNA Dysregulation in Epilepsy: From Pathogenetic Involvement to Diagnostic Biomarker and Therapeutic Agent Development. *Frontiers in molecular neuroscience*, 14, 650372. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.650372>
 145. Perucca, E., & Tomson, T. (2011). The pharmacological treatment of epilepsy in adults. *The Lancet. Neurology*, 10(5), 446–456. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70047-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70047-3)
 146. Perucca, P., Scheffer, I. E., & Kiley, M. (2018). The management of epilepsy in children and adults. *The Medical journal of Australia*, 208(5), 226–233.
<https://doi.org/10.5694/mja17.00951>
 147. Brodie, M. J., Barry, S. J., Bamagous, G. A., Norrie, J. D., & Kwan, P. (2012). Patterns of treatment response in newly diagnosed epilepsy. *Neurology*, 78(20), 1548–1554.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182563b19>
 148. Ryvlin, P., Cross, J. H., & Rheims, S. (2014). Epilepsy surgery in children and adults. *The Lancet. Neurology*, 13(11), 1114–1126. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70156-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70156-5)
 149. DeGiorgio, C. M., & Krah, S. E. (2013). Neurostimulation for drug-resistant epilepsy. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 19(3 Epilepsy), 743–755.
<https://doi.org/10.1212/01.CON.0000431397.61970.2b>
 150. Fisher, R., Salanova, V., Witt, T., Worth, R., Henry, T., Gross, R., Oommen, K., Osorio, I., Nazzaro, J., Labar, D., Kaplitt, M., Sperling, M., Sandok, E., Neal, J., Handforth, A., Stern, J., DeSalles, A., Chung, S., Shetter, A., Bergen, D., ... SANTE Study Group (2010). Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia*, 51(5), 899–908. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02536.x>
 151. Winesett, S. P., Bessone, S. K., & Kossoff, E. H. (2015). The ketogenic diet in pharmaco-resistant childhood epilepsy. *Expert review of neurotherapeutics*, 15(6), 621–628.
<https://doi.org/10.1586/14737175.2015.1044982>
 152. Perucca, P., Scheffer, I. E., Harvey, A. S., James, P. A., Lunke, S., Thorne, N., Gaff, C., Regan, B. M., Damiano, J. A., Hildebrand, M. S., Berkovic, S. F., O'Brien, T. J., & Kwan, P. (2017). Real-world utility of whole exome sequencing with targeted gene analysis for focal epilepsy. *Epilepsy research*, 131, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2017.02.001>

153. Gawel, K., Langlois, M., Martins, T., van der Ent, W., Tiraboschi, E., Jacmin, M., Crawford, A. D., & Esguerra, C. V. (2020). Seizing the moment: Zebrafish epilepsy models. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 116, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.06.010>
154. Gonzalez-Sulser A. (2020). Rodent genetic models of neurodevelopmental disorders and epilepsy. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*, 24, 66–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2019.12.012>
155. Jansen, N. A., Perez, C., Schenke, M., van Beurden, A. W., Dehghani, A., Voskuyl, R. A., Thijs, R. D., Ullah, G., van den Maagdenberg, A. M. J. M., & Tolner, E. A. (2021). Impaired θ - γ Coupling Indicates Inhibitory Dysfunction and Seizure Risk in a Dravet Syndrome Mouse Model. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 41(3), 524–537. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2132-20.2020>
156. Wither, R. G., Colic, S., Bardakjian, B. L., Snead, O. C., 3rd, Zhang, L., & Eubanks, J. H. (2018). Electrographic and pharmacological characterization of a progressive epilepsy phenotype in female MeCP2-deficient mice. *Epilepsy research*, 140, 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.01.015>
157. Kearney, J. A., Wiste, A. K., Stephani, U., Trudeau, M. M., Siegel, A., RamachandranNair, R., Elterman, R. D., Muhle, H., Reinsdorf, J., Shields, W. D., Meisler, M. H., & Escayg, A. (2006). Recurrent de novo mutations of SCN1A in severe myoclonic epilepsy of infancy. *Pediatric neurology*, 34(2), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2005.07.009>
158. Griffin, A., Hamling, K. R., Hong, S., Anvar, M., Lee, L. P., & Baraban, S. C. (2018). Preclinical Animal Models for Dravet Syndrome: Seizure Phenotypes, Comorbidities and Drug Screening. *Frontiers in pharmacology*, 9, 573. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00573>
159. Ross, K. C., & Coleman, J. R. (2000). Developmental and genetic audiogenic seizure models: behavior and biological substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 24(6), 639–653. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(00\)00029-4](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(00)00029-4)
160. Faingold C. L. (1999). Neuronal networks in the genetically epilepsy-prone rat. *Advances in neurology*, 79, 311–321.
161. Zhao, S. G., Jiang, Y. W., Luo, Q., & Wu, X. R. (2003). *Zhonghua er ke za zhi* = Chinese journal of pediatrics, 41(1), 21–24.
162. Sarkisova, K. Y., & Kulikov, M. A. (2006). Behavioral characteristics of WAG/Rij rats susceptible and non-susceptible to audiogenic seizures. *Behavioural brain research*, 166(1), 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.07.024>
163. Coenen, A. M., & Van Luijckelaar, E. L. (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior genetics*, 33(6), 635–655. <https://doi.org/10.1023/a:1026179013847>

164. Sarkisova, K., & van Luijtelaar, G. (2011). The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression [corrected]. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 35(4), 854–876. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.11.010>
165. Avoli M. (2012). A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia*, 53(5), 779–789. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03421.x>
166. Jones, N. C., O'Brien, T. J., & Powell, K. L. (2011). Morphometric changes and molecular mechanisms in rat models of idiopathic generalized epilepsy with absence seizures. *Neuroscience letters*, 497(3), 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.02.039>
167. Sharma, A. K., Reams, R. Y., Jordan, W. H., Miller, M. A., Thacker, H. L., & Snyder, P. W. (2007). Mesial temporal lobe epilepsy: pathogenesis, induced rodent models and lesions. *Toxicologic pathology*, 35(7), 984–999. <https://doi.org/10.1080/01926230701748305>
168. Kandratavicius, L., Balista, P. A., Lopes-Aguiar, C., Ruggiero, R. N., Umeoka, E. H., Garcia-Cairasco, N., Bueno-Junior, L. S., & Leite, J. P. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 10, 1693–1705. <https://doi.org/10.2147/NDT.S50371>
169. Furtado, M.deA., Braga, G. K., Oliveira, J. A., Del Vecchio, F., & Garcia-Cairasco, N. (2002). Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine. *Epilepsia*, 43 Suppl 5, 37–39. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.43.s.5.41.x>
170. Curia, G., Longo, D., Biagini, G., Jones, R. S., & Avoli, M. (2008). The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Journal of neuroscience methods*, 172(2), 143–157. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.04.019>
171. Leite, J. P., Bortolotto, Z. A., & Cavalheiro, E. A. (1990). Spontaneous recurrent seizures in rats: an experimental model of partial epilepsy. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 14(4), 511–517. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(05\)80076-4](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(05)80076-4)
172. Leite, J. P., & Cavalheiro, E. A. (1995). Effects of conventional antiepileptic drugs in a model of spontaneous recurrent seizures in rats. *Epilepsy research*, 20(2), 93–104. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(94\)00070-d](https://doi.org/10.1016/0920-1211(94)00070-d)
173. Hamilton, S. E., Loose, M. D., Qi, M., Levey, A. I., Hille, B., McKnight, G. S., Idzerda, R. L., & Nathanson, N. M. (1997). Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 13311–13316. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.13311>
174. Squires, R. F., Saederup, E., Crawley, J. N., Skolnick, P., & Paul, S. M. (1984). Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with actions on GABA/benzodiazepine/picrotoxin

- receptor complexes in brain. *Life sciences*, 35(14), 1439–1444. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(84\)90159-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(84)90159-0)
175. Shimada, T., & Yamagata, K. (2018). Pentylenetetrazole-Induced Kindling Mouse Model. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (136), 56573. <https://doi.org/10.3791/56573>
 176. Schmidt J. (1987). Changes in seizure susceptibility in rats following chronic administration of pentylenetetrazol. *Biomedica biochimica acta*, 46(4), 267–270.
 177. De Deyn, P. P., D'Hooge, R., Marescau, B., & Pei, Y. Q. (1992). Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. *Epilepsy research*, 12(2), 87–110. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(92\)90030-w](https://doi.org/10.1016/0920-1211(92)90030-w)
 178. Löscher W. (2002). Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy research*, 50(1-2), 105–123. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(02\)00073-6](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(02)00073-6)
 179. Baram, T. Z., & Snead, O. C., 3rd (1990). Bicuculline induced seizures in infant rats: ontogeny of behavioral and electrocortical phenomena. *Brain research. Developmental brain research*, 57(2), 291–295. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(90\)90055-4](https://doi.org/10.1016/0165-3806(90)90055-4)
 180. Rossokhin, A. V., Sharonova, I. N., Bukanova, J. V., Kolbaev, S. N., & Skrebitsky, V. G. (2014). Block of GABA(A) receptor ion channel by penicillin: electrophysiological and modeling insights toward the mechanism. *Molecular and cellular neurosciences*, 63, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.10.001>
 181. Yılmaz, T., Akça, M., Turan, Y., Ocak, H., Kamaşak, K., & Yildirim, M. (2014). Efficacy of dexamethasone on penicillin-induced epileptiform activity in rats: an electrophysiological study. *Brain research*, 1554, 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.01.040>
 182. Hodgson E. (2012). Toxins and venoms. *Progress in molecular biology and translational science*, 112, 373–415. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415813-9.00014-3>
 183. Cavarsan, C. F., Matsuo, A., Blanco, M. M., & Mello, L. E. (2015). Maximal electroshock-induced seizures are able to induce Homer1a mRNA expression but not pentylenetetrazole-induced seizures. *Epilepsy & behavior : E&B*, 44, 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.12.034>
 184. Kalamangalam, G. P., Tandon, N., & Slater, J. D. (2014). Dynamic mechanisms underlying afterdischarge: a human subdural recording study. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 125(7), 1324–1338. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2013.11.027>
 185. Velisek, L., & Mares, P. (2004). Hippocampal afterdischarges in rats. I. Effects of antiepileptics. *Physiological research*, 53(4), 453–461.

186. Goddard, G. V., McIntyre, D. C., & Leech, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental neurology*, 25(3), 295–330. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(69\)90128-9](https://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90128-9)
187. Beheshti, S., Ershadi, S., Zamani, F., Azimzadeh, M., & Wesal, M. W. (2023). Differential impact of a ghrelin receptor antagonist or inverse agonist in the electrical kindling model of epilepsy. *Epilepsy research*, 197, 107234. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2023.107234>
188. Bertram E. (2007). The relevance of kindling for human epilepsy. *Epilepsia*, 48 Suppl 2, 65–74. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01068.x>
189. D'Ambrosio, R., Fairbanks, J. P., Fender, J. S., Born, D. E., Doyle, D. L., & Miller, J. W. (2004). Post-traumatic epilepsy following fluid percussion injury in the rat. *Brain : a journal of neurology*, 127(Pt 2), 304–314. <https://doi.org/10.1093/brain/awh038>
190. Rodgers, K. M., Dudek, F. E., & Barth, D. S. (2015). Progressive, Seizure-Like, Spike-Wave Discharges Are Common in Both Injured and Uninjured Sprague-Dawley Rats: Implications for the Fluid Percussion Injury Model of Post-Traumatic Epilepsy. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(24), 9194–9204. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0919-15.2015>
191. Ostergard, T., Sweet, J., Kusyk, D., Herring, E., & Miller, J. (2016). Animal models of post-traumatic epilepsy. *Journal of neuroscience methods*, 272, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2016.03.023>
192. Kharatishvili, I., Nissinen, J. P., McIntosh, T. K., & Pitkänen, A. (2006). A model of posttraumatic epilepsy induced by lateral fluid-percussion brain injury in rats. *Neuroscience*, 140(2), 685–697. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.03.012>
193. Golub, V. M., & Reddy, D. S. (2022b). Contusion brain damage in mice for modelling of post-traumatic epilepsy with contralateral hippocampus sclerosis: Comprehensive and longitudinal characterization of spontaneous seizures, neuropathology, and neuropsychiatric comorbidities. *Experimental neurology*, 348, 113946. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113946>
194. Chrzaszcz, M., Venkatesan, C., Dragisic, T., Watterson, D. M., & Wainwright, M. S. (2010). Minoxac treatment prevents increased seizure susceptibility in a mouse "two-hit" model of closed skull traumatic brain injury and electroconvulsive shock-induced seizures. *Journal of neurotrauma*, 27(7), 1283–1295. <https://doi.org/10.1089/neu.2009.1227>
195. Efendioglu, M., Basaran, R., Akca, M., Ceman, D., Demirtas, C., & Yildirim, M. (2020). Combination Therapy of Gabapentin and N-Acetylcysteine Against Posttraumatic Epilepsy in Rats. *Neurochemical research*, 45(8), 1802–1812. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03042-x>
196. Keith, K. A., & Huang, J. H. (2019). Animal Models of Post-Traumatic Epilepsy. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10010004>

197. Santana-Gomez, C. E., Medel-Matus, J. S., & Rundle, B. K. (2021). Animal models of post-traumatic epilepsy and their neurobehavioral comorbidities. *Seizure*, 90, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2021.05.008>
198. Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J., & Chen, Z. S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 135. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
199. NIH HMP Working Group, Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., Bonazzi, V., McEwen, J. E., Wetterstrand, K. A., Deal, C., Baker, C. C., Di Francesco, V., Howcroft, T. K., Karp, R. W., Lunsford, R. D., Wellington, C. R., Belachew, T., Wright, M., Giblin, C., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
200. Grice, E. A., & Segre, J. A. (2012). The human microbiome: our second genome. *Annual review of genomics and human genetics*, 13, 151–170. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-090711-163814>
201. Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
202. Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220–230. <https://doi.org/10.1038/nature11550>
203. Cryan, J. F., O'Riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cusotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. V., Guzzetta, K. E., Jaggar, M., Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., O'Connor, R., ... Dinan, T. G. (2019). The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiological reviews*, 99(4), 1877–2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
204. Shreiner, A. B., Kao, J. Y., & Young, V. B. (2015). The gut microbiome in health and in disease. *Current opinion in gastroenterology*, 31(1), 69–75. <https://doi.org/10.1097/MOG.000000000000139>
205. Hillman, E. T., Lu, H., Yao, T., & Nakatsu, C. H. (2017). Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract. *Microbes and environments*, 32(4), 300–313. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17017>
206. Goma E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(12), 2019–2040. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>

207. Mima, K., Ogino, S., Nakagawa, S., Sawayama, H., Kinoshita, K., Krashima, R., Ishimoto, T., Imai, K., Iwatsuki, M., Hashimoto, D., Baba, Y., Sakamoto, Y., Yamashita, Y. I., Yoshida, N., Chikamoto, A., Ishiko, T., & Baba, H. (2017). The role of intestinal bacteria in the development and progression of gastrointestinal tract neoplasms. *Surgical oncology*, 26(4), 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2017.07.011>
208. Gilbert, J. A., Blaser, M. J., Caporaso, J. G., Jansson, J. K., Lynch, S. V., & Knight, R. (2018). Current understanding of the human microbiome. *Nature medicine*, 24(4), 392–400. <https://doi.org/10.1038/nm.4517>
209. Shapira M. (2016). Gut Microbiotas and Host Evolution: Scaling Up Symbiosis. *Trends in ecology & evolution*, 31(7), 539–549. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.03.006>
210. Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., & Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 9(10), 577–589. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.156>
211. Auchtung, T. A., Fofanova, T. Y., Stewart, C. J., Nash, A. K., Wong, M. C., Gesell, J. R., Auchtung, J. M., Ajami, N. J., & Petrosino, J. F. (2018). Investigating Colonization of the Healthy Adult Gastrointestinal Tract by Fungi. *mSphere*, 3(2), e00092-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00092-18>
212. Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A., & Brown, P. O. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS biology*, 5(7), e177. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>
213. Walker, R. W., Clemente, J. C., Peter, I., & Loos, R. J. F. (2017). The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero?. *Pediatric obesity*, 12 Suppl 1(Suppl 1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ijpo.12217>
214. Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971–11975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
215. Yatsunencko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R. N., Anokhin, A. P., Heath, A. C., Warner, B., Reeder, J., Kuczynski, J., Caporaso, J. G., Lozupone, C. A., Lauber, C., Clemente, J. C., Knights, D., Knight, R., ... Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222–227. <https://doi.org/10.1038/nature11053>
216. Guigoz, Y., Doré, J., & Schiffrin, E. J. (2008). The inflammatory status of old age can be nurtured from the intestinal environment. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 11(1), 13–20. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282f2bdfd>

217. Larsbrink, J., Rogers, T. E., Hemsworth, G. R., McKee, L. S., Tauzin, A. S., Spadiut, O., Klintner, S., Pudlo, N. A., Urs, K., Koropatkin, N. M., Creagh, A. L., Haynes, C. A., Kelly, A. G., Cederholm, S. N., Davies, G. J., Martens, E. C., & Brumer, H. (2014). A discrete genetic locus confers xyloglucan metabolism in select human gut Bacteroidetes. *Nature*, 506(7489), 498–502. <https://doi.org/10.1038/nature12907>
218. Roberfroid, M. B., Bornet, F., Bouley, C., & Cummings, J. H. (1995). Colonic microflora: nutrition and health. Summary and conclusions of an International Life Sciences Institute (ILSI) [Europe] workshop held in Barcelona, Spain. *Nutrition reviews*, 53(5), 127–130. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1995.tb01535.x>
219. LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current opinion in biotechnology*, 24(2), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>
220. Louis, P., & Flint, H. J. (2017). Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental microbiology*, 19(1), 29–41. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13589>
221. Louis, P., Hold, G. L., & Flint, H. J. (2014). The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nature reviews. Microbiology*, 12(10), 661–672. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3344>
222. Schären, O. P., & Hapfelmeier, S. (2021). Robust microbe immune recognition in the intestinal mucosa. *Genes and immunity*, 22(5-6), 268–275. <https://doi.org/10.1038/s41435-021-00131-x>
223. Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., Taniguchi, T., Takeda, K., Hori, S., Ivanov, I. I., Umesaki, Y., Itoh, K., & Honda, K. (2011). Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science (New York, N.Y.)*, 331(6015), 337–341. <https://doi.org/10.1126/science.1198469>
224. Ohnmacht, C., Park, J. H., Cording, S., Wing, J. B., Atarashi, K., Obata, Y., Gaboriau-Routhiau, V., Marques, R., Dulauroy, S., Fedoseeva, M., Busslinger, M., Cerf-Bensussan, N., Boneca, I. G., Voehringer, D., Hase, K., Honda, K., Sakaguchi, S., & Eberl, G. (2015). MUCOSAL IMMUNOLOGY. The microbiota regulates type 2 immunity through ROR γ ⁺ T cells. *Science (New York, N.Y.)*, 349(6251), 989–993. <https://doi.org/10.1126/science.aac4263>
225. Diaz Heijtz, R., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M. L., Forssberg, H., & Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(7), 3047–3052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>

226. Strandwitz P. (2018). Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain research*, 1693(Pt B), 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.03.015>
227. Beaumont W. (1977). *Nutrition Classics. Experiments and observations on the gastric juice and the physiology of digestion.* By William Beaumont. Plattsburgh. Printed by F. P. Allen. 1833. *Nutrition reviews*, 35(6), 144–145. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1977.tb06570.x>
228. Rhee, S. H., Pothoulakis, C., & Mayer, E. A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 6(5), 306–314. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2009.35>
229. Sorboni, S. G., Moghaddam, H. S., Jafarzadeh-Esfehani, R., & Soleimanpour, S. (2022). A Comprehensive Review on the Role of the Gut Microbiome in Human Neurological Disorders. *Clinical microbiology reviews*, 35(1), e0033820. <https://doi.org/10.1128/CMR.00338-20>
230. Kaelberer, M. M., Buchanan, K. L., Klein, M. E., Barth, B. B., Montoya, M. M., Shen, X., & Bohórquez, D. V. (2018). A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science (New York, N.Y.)*, 361(6408), eaat5236. <https://doi.org/10.1126/science.aat5236>
231. WHITLOCK F. A. (1961). Some psychiatric consequences of gastrectomy. *British medical journal*, 1(5239), 1560–1564. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5239.1560>
232. Itoh, S., Katsuura, G., & Hirota, R. (1981). Diminished circadian rhythm of locomotor activity after vagotomy in rats. *The Japanese journal of physiology*, 31(6), 957–961. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.31.957>
233. O'Leary, O. F., O'bonnaya, E. S., Felice, D., Levone, B. R., C Conroy, L., Fitzgerald, P., Bravo, J. A., Forsythe, P., Bienenstock, J., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2018). The vagus nerve modulates BDNF expression and neurogenesis in the hippocampus. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 28(2), 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.12.004>
234. Breit, S., Kupferberg, A., Rogler, G., & Hasler, G. (2018). Vagus Nerve as Modulator of the Brain-Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Frontiers in psychiatry*, 9, 44. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00044>
235. Penry, J. K., & Dean, J. C. (1990). Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans: preliminary results. *Epilepsia*, 31 Suppl 2, S40–S43. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1990.tb05848.x>
236. Lyte M. (2013). Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS pathogens*, 9(11), e1003726. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003726>
237. Pokusaeva, K., Johnson, C., Luk, B., Uribe, G., Fu, Y., Oezguen, N., Matsunami, R. K., Lugo, M., Major, A., Mori-Akiyama, Y., Hollister, E. B., Dann, S. M., Shi, X. Z., Engler, D. A., Savidge, T., & Versalovic, J. (2017). GABA-producing *Bifidobacterium dentium* modulates

- visceral sensitivity in the intestine. *Neurogastroenterology and motility*, 29(1), e12904. <https://doi.org/10.1111/nmo.12904>
238. Guthrie, G. D., & Nicholson-Guthrie, C. S. (1989). gamma-Aminobutyric acid uptake by a bacterial system with neurotransmitter binding characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(19), 7378–7381. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.19.7378>
 239. Jaglin, M., Rhimi, M., Philippe, C., Pons, N., Bruneau, A., Goustard, B., Daugé, V., Maguin, E., Naudon, L., & Rabot, S. (2018). Indole, a Signaling Molecule Produced by the Gut Microbiota, Negatively Impacts Emotional Behaviors in Rats. *Frontiers in neuroscience*, 12, 216. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00216>
 240. De Vadder, F., Grasset, E., Mannerås Holm, L., Karsenty, G., Macpherson, A. J., Olofsson, L. E., & Bäckhed, F. (2018). Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(25), 6458–6463. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720017115>
 241. Rolig, A. S., Mittge, E. K., Ganz, J., Troll, J. V., Melancon, E., Wiles, T. J., Alligood, K., Stephens, W. Z., Eisen, J. S., & Guillemin, K. (2017). The enteric nervous system promotes intestinal health by constraining microbiota composition. *PLoS biology*, 15(2), e2000689. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000689>
 242. Krautkramer, K. A., Fan, J., & Bäckhed, F. (2021). Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates. *Nature reviews. Microbiology*, 19(2), 77–94. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0438-4>
 243. Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X. N., Kubo, C., & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of physiology*, 558(Pt 1), 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>
 244. Neufeld, K. M., Kang, N., Bienenstock, J., & Foster, J. A. (2011). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterology and motility*, 23(3), 255–e119. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2010.01620.x>
 245. Braniste, V., Al-Asmakh, M., Kowal, C., Anuar, F., Abbaspour, A., Tóth, M., Korecka, A., Bakocevic, N., Ng, L. G., Kundu, P., Gulyás, B., Halldin, C., Hultenby, K., Nilsson, H., Hebert, H., Volpe, B. T., Diamond, B., & Pettersson, S. (2014). The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science translational medicine*, 6(263), 263ra158. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009759>
 246. Keshavarzian, A., Green, S. J., Engen, P. A., Voigt, R. M., Naqib, A., Forsyth, C. B., Mutlu, E., & Shannon, K. M. (2015). Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 30(10), 1351–1360. <https://doi.org/10.1002/mds.26307>

247. Vogt, N. M., Kerby, R. L., Dill-McFarland, K. A., Harding, S. J., Merluzzi, A. P., Johnson, S. C., Carlsson, C. M., Asthana, S., Zetterberg, H., Blennow, K., Bendlin, B. B., & Rey, F. E. (2017). Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientific reports*, 7(1), 13537. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13601-y>
248. Zhuang, Z. Q., Shen, L. L., Li, W. W., Fu, X., Zeng, F., Gui, L., Lü, Y., Cai, M., Zhu, C., Tan, Y. L., Zheng, P., Li, H. Y., Zhu, J., Zhou, H. D., Bu, X. L., & Wang, Y. J. (2018). Gut Microbiota is Altered in Patients with Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 63(4), 1337–1346. <https://doi.org/10.3233/JAD-180176>
249. Kang, D. W., Park, J. G., Ilhan, Z. E., Wallstrom, G., Labaer, J., Adams, J. B., & Krajmalnik-Brown, R. (2013). Reduced incidence of Prevotella and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PloS one*, 8(7), e68322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068322>
250. Cersosimo, M. G., & Benarroch, E. E. (2012). Pathological correlates of gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, 46(3), 559–564. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.10.014>
251. Braak, H., de Vos, R. A., Bohl, J., & Del Tredici, K. (2006). Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neuroscience letters*, 396(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.11.012>
252. Fitzgerald, E., Murphy, S., & Martinson, H. A. (2019). Alpha-Synuclein Pathology and the Role of the Microbiota in Parkinson's Disease. *Frontiers in neuroscience*, 13, 369. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00369>
253. Takiishi, T., Fenero, C. I. M., & Câmara, N. O. S. (2017). Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue barriers*, 5(4), e1373208. <https://doi.org/10.1080/21688370.2017.1373208>
254. Clairembault, T., Leclair-Visonneau, L., Coron, E., Bourreille, A., Le Dily, S., Vavasseur, F., Heymann, M. F., Neunlist, M., & Derkinderen, P. (2015). Structural alterations of the intestinal epithelial barrier in Parkinson's disease. *Acta neuropathologica communications*, 3, 12. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0196-0>
255. Berer, K., Gerdes, L. A., Cekanaviciute, E., Jia, X., Xiao, L., Xia, Z., Liu, C., Klotz, L., Stauffer, U., Baranzini, S. E., Kümpfel, T., Hohlfeld, R., Krishnamoorthy, G., & Wekerle, H. (2017). Gut microbiota from multiple sclerosis patients enables spontaneous autoimmune encephalomyelitis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(40), 10719–10724. <https://doi.org/10.1073/pnas.1711233114>
256. Tremlett, H., Fadrosh, D. W., Faruqi, A. A., Zhu, F., Hart, J., Roalstad, S., Graves, J., Lynch, S., Waubant, E., & US Network of Pediatric MS Centers (2016). Gut microbiota in early

- pediatric multiple sclerosis: a case-control study. *European journal of neurology*, 23(8), 1308–1321. <https://doi.org/10.1111/ene.13026>
257. Tankou, S. K., Regev, K., Healy, B. C., Tjon, E., Laghi, L., Cox, L. M., Kivisäkk, P., Pierre, I. V., Hrishikesh, L., Gandhi, R., Cook, S., Glanz, B., Stankiewicz, J., & Weiner, H. L. (2018). A probiotic modulates the microbiome and immunity in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 83(6), 1147–1161. <https://doi.org/10.1002/ana.25244>
 258. Tang, W. H., Wang, Z., Levison, B. S., Koeth, R. A., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., & Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *The New England journal of medicine*, 368(17), 1575–1584. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1109400>
 259. Biagi, E., Nylund, L., Candela, M., Ostan, R., Bucci, L., Pini, E., Nikkila, J., Monti, D., Satokari, R., Franceschi, C., Brigidi, P., & De Vos, W. (2010). Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PloS one*, 5(5), e10667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010667>
 260. D'Amato, A., Mannelli, L. D. C., Lucarini, E., Man, A. L., Gall, G. L., Branca, J. J. V., Ghelardini, C., Amedei, A., Bertelli, E., Regoli, M., Pacini, A., Luciani, G., Gallina, P., Altera, A., Narbad, A., Gulisano, M., Hoyles, L., Vauzour, D., Nicoletti, C. (2020). Faecal microbiota transplant from aged donor mice affects spatial learning and memory via modulating hippocampal synaptic plasticity- and neurotransmission-related proteins in young recipients. *Microbiome* 8, 140. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00914-w>
 261. Peng, A., Qiu, X., Lai, W., Li, W., Zhang, L., Zhu, X., He, S., Duan, J., & Chen, L. (2018). Altered composition of the gut microbiome in patients with drug-resistant epilepsy. *Epilepsy research*, 147, 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.09.013>
 262. Ding, M., Lang, Y., Shu, H., Shao, J., & Cui, L. (2021). Microbiota-Gut-Brain Axis and Epilepsy: A Review on Mechanisms and Potential Therapeutics. *Frontiers in immunology*, 12, 742449. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.742449>
 263. Paoli, A., Mancin, L., Bianco, A., Thomas, E., Mota, J. F., & Piccini, F. (2019). Ketogenic Diet and Microbiota: Friends or Enemies?. *Genes*, 10(7), 534. <https://doi.org/10.3390/genes10070534>
 264. Gong, X., Liu, X., Chen, C., Lin, J., Li, A., Guo, K., An, D., Zhou, D., & Hong, Z. (2020). Alteration of Gut Microbiota in Patients With Epilepsy and the Potential Index as a Biomarker. *Frontiers in microbiology*, 11, 517797. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.517797>
 265. Eor, J. Y., Son, Y. J., Kim, J. Y., Kang, H. C., Youn, S. E., Kim, J. H., & Kim, S. H. (2021). Neuroprotective effect of both synbiotics and ketogenic diet in a pentylenetetrazol-induced acute seizure murine model. *Epilepsy research*, 174, 106668. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2021.106668>

266. Citraro, R., Lembo, F., De Caro, C., Tallarico, M., Coretti, L., Iannone, L. F., Leo, A., Palumbo, D., Cuomo, M., Buommino, E., Nesci, V., Marascio, N., Iannone, M., Quirino, A., Russo, R., Calignano, A., Constanti, A., Russo, E., & De Sarro, G. (2021). First evidence of altered microbiota and intestinal damage and their link to absence epilepsy in a genetic animal model, the WAG/Rij rat. *Epilepsia*, 62(2), 529–541. <https://doi.org/10.1111/epi.16813>
267. Smith, K., McCoy, K. D., & Macpherson, A. J. (2007). Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Seminars in immunology*, 19(2), 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2006.10.002>
268. Xie, G., Zhou, Q., Qiu, C. Z., Dai, W. K., Wang, H. P., Li, Y. H., Liao, J. X., Lu, X. G., Lin, S. F., Ye, J. H., Ma, Z. Y., & Wang, W. J. (2017). Ketogenic diet poses a significant effect on imbalanced gut microbiota in infants with refractory epilepsy. *World journal of gastroenterology*, 23(33), 6164–6171. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i33.6164>
269. Thion, M. S., Low, D., Silvin, A., Chen, J., Grisel, P., Schulte-Schrepping, J., Blecher, R., Ulas, T., Squarzone, P., Hoeffel, G., Couplier, F., Siopi, E., David, F. S., Scholz, C., Shihui, F., Lum, J., Amoyo, A. A., Larbi, A., Poidinger, M., Buttgeriet, A., ... Garel, S. (2018). Microbiome Influences Prenatal and Adult Microglia in a Sex-Specific Manner. *Cell*, 172(3), 500–516.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.042>
270. Erny, D., Hrabě de Angelis, A. L., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., de, E., Keren-Shaul, H., Mahlakovic, T., Jakobshagen, K., Buch, T., Schwierzeck, V., Utermöhlen, O., Chun, E., Garrett, W. S., McCoy, K. D., Diefenbach, A., Staeheli, P., Stecher, B., Amit, I., & Prinz, M. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature neuroscience*, 18(7), 965–977. <https://doi.org/10.1038/nn.4030>
271. Logsdon, A. F., Erickson, M. A., Rhea, E. M., Salameh, T. S., & Banks, W. A. (2018). Gut reactions: How the blood-brain barrier connects the microbiome and the brain. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 243(2), 159–165. <https://doi.org/10.1177/1535370217743766>
272. Welton M. O. (2019). Gut Microbiota Disorder, Gut Epithelial and Blood-Brain Barrier Dysfunctions in Etiopathogenesis of Dementia: Molecular Mechanisms and Signaling Pathways. *Neuromolecular medicine*, 21(3), 205–226. <https://doi.org/10.1007/s12017-019-08547-5>
273. De Caro, C., Leo, A., Nesci, V., Ghelardini, C., di Cesare Mannelli, L., Striano, P., Avagliano, C., Calignano, A., Mainardi, P., Constanti, A., Citraro, R., De Sarro, G., & Russo, E. (2019). Intestinal inflammation increases convulsant activity and reduces antiepileptic drug efficacy in a mouse model of epilepsy. *Scientific reports*, 9(1), 13983. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50542-0>
274. Werner, F. M., & Coveñas, R. (2017). Classical neurotransmitters and neuropeptides involved in generalized epilepsy in a multi-neurotransmitter system: How to improve the antiepileptic

- effect?. *Epilepsy & behavior* : E&B, 71(Pt B), 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.01.038>
275. Sun, Y., Su, Y., & Zhu, W. (2016). Microbiome-Metabolome Responses in the Cecum and Colon of Pig to a High Resistant Starch Diet. *Frontiers in microbiology*, 7, 779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00779>
 276. Olson, C. A., Vuong, H. E., Yano, J. M., Liang, Q. Y., Nusbaum, D. J., & Hsiao, E. Y. (2018). The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. *Cell*, 173(7), 1728–1741.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.027>
 277. Kowiański, P., Lietzau, G., Czuba, E., Waśkow, M., Steliga, A., & Moryś, J. (2018). BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cellular and molecular neurobiology*, 38(3), 579–593. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0510-4>
 278. Boeri, L., Donnalaja, F., Campanile, M., Sardelli, L., Tunesi, M., Fusco, F., Giordano, C., & Albani, D. (2022). Using integrated meta-omics to appreciate the role of the gut microbiota in epilepsy. *Neurobiology of disease*, 164, 105614. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105614>
 279. Ułamek-Kozioł, M., Czuczwar, S. J., Januszewski, S., & Pluta, R. (2019). Ketogenic Diet and Epilepsy. *Nutrients*, 11(10), 2510. <https://doi.org/10.3390/nu11102510>
 280. Zhang, Y., Zhou, S., Zhou, Y., Yu, L., Zhang, L., & Wang, Y. (2018). Altered gut microbiome composition in children with refractory epilepsy after ketogenic diet. *Epilepsy research*, 145, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.06.015>
 281. Lindefeldt, M., Eng, A., Darban, H., Bjerkner, A., Zetterström, C. K., Allander, T., Andersson, B., Borenstein, E., Dahlin, M., & Prast-Nielsen, S. (2019). The ketogenic diet influences taxonomic and functional composition of the gut microbiota in children with severe epilepsy. *NPJ biofilms and microbiomes*, 5(1), 5. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0073-2>
 282. Braakman, H. M. H., & van Ingen, J. (2018). Can epilepsy be treated by antibiotics?. *Journal of neurology*, 265(8), 1934–1936. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-8943-3>
 283. Sutter, R., Rüegg, S., & Tschudin-Sutter, S. (2015). Seizures as adverse events of antibiotic drugs: A systematic review. *Neurology*, 85(15), 1332–1341. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002023>
 284. Imani, S., Buscher, H., Marriott, D., Gentili, S., & Sandaradura, I. (2017). Too much of a good thing: a retrospective study of β -lactam concentration-toxicity relationships. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 72(10), 2891–2897. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx209>
 285. Morelli, L., & Capurso, L. (2012). FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later. *Journal of clinical gastroenterology*, 46 Suppl, S1–S2. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318269fdd5>
 286. Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the

- definition and scope of synbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 17(11), 687–701. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
287. Yan, F., & Polk, D. B. (2020). Probiotics and Probiotic-Derived Functional Factors-Mechanistic Insights Into Applications for Intestinal Homeostasis. *Frontiers in immunology*, 11, 1428. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01428>
 288. Gómez-Eguílaz, M., Ramón-Trapero, J. L., Pérez-Martínez, L., & Blanco, J. R. (2018). The beneficial effect of probiotics as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study. *Beneficial microbes*, 9(6), 875–881. <https://doi.org/10.3920/BM2018.0018>
 289. Wang, X., Yang, C., Yang, L., & Zhang, Y. (2022). Modulating the gut microbiota ameliorates spontaneous seizures and cognitive deficits in rats with kainic acid-induced status epilepticus by inhibiting inflammation and oxidative stress. *Frontiers in nutrition*, 9, 985841. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.985841>
 290. Stripling, J., & Rodriguez, M. (2018). Current Evidence in Delivery and Therapeutic Uses of Fecal Microbiota Transplantation in Human Diseases-Clostridium difficile Disease and Beyond. *The American journal of the medical sciences*, 356(5), 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2018.08.010>
 291. Wortelboer, K., Nieuwdorp, M., & Herrema, H. (2019). Fecal microbiota transplantation beyond Clostridioides difficile infections. *EBioMedicine*, 44, 716–729. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.05.066>
 292. van Nood, E., Vrieze, A., Nieuwdorp, M., Fuentes, S., Zoetendal, E. G., de Vos, W. M., Visser, C. E., Kuijper, E. J., Bartelsman, J. F., Tijssen, J. G., Speelman, P., Dijkgraaf, M. G., & Keller, J. J. (2013). Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *The New England journal of medicine*, 368(5), 407–415. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1205037>
 293. Costello, S. P., Soo, W., Bryant, R. V., Jairath, V., Hart, A. L., & Andrews, J. M. (2017). Systematic review with meta-analysis: faecal microbiota transplantation for the induction of remission for active ulcerative colitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 46(3), 213–224. <https://doi.org/10.1111/apt.14173>
 294. He, Z., Cui, B. T., Zhang, T., Li, P., Long, C. Y., Ji, G. Z., & Zhang, F. M. (2017). Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report. *World journal of gastroenterology*, 23(19), 3565–3568. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i19.3565>
 295. Gupta, A., & Khanna, S. (2017). Fecal Microbiota Transplantation. *JAMA*, 318(1), 102. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.6466>
 296. Pitkänen, A., Immonen, R. J., Gröhn, O. H., & Kharatishvili, I. (2009). From traumatic brain injury to posttraumatic epilepsy: what animal models tell us about the process and treatment options. *Epilepsia*, 50 Suppl 2, 21–29. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.02007.x>

297. Mychasiuk, R., Farran, A., Angoa-Perez, M., Briggs, D., Kuhn, D., & Esser, M. J. (2014). A novel model of mild traumatic brain injury for juvenile rats. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (94), 51820. <https://doi.org/10.3791/51820>
298. Paxinos, G., Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York.
299. Velioglu, S. K., Gedikli, O., Yildirim, M., & Ayar, A. (2018). Does pain sensitivity increase during ictal period? Evidence from absence epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy & behavior: E&B*, 87, 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.08.001>
300. Gedikli, Ö., Akca, M., & Yildirim, M. (2021). Electroencephalographic investigation of the effects of Ginkgo biloba on spike-wave discharges in rats with genetic absence epilepsy. *Epilepsy & behavior: E&B*, 122, 108165. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108165>
301. Yildirim, M., Aydin-Abidin, S., Abidin, I., Akca, M., Canpolat, S., & Cansu, A. (2013). Evaluation of the role of chronic daily melatonin administration and pinealectomy on penicillin-induced focal epileptiform activity and spectral analysis of ECoG in rats: an in vivo electrophysiological study. *Neurochemical research*, 38(8), 1672–1685. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1069-1>
302. Nagai, K., Ryuno, Y., Iwanami, Y., Omotani, S., Fukuno, S., Hatsuda, Y., Konishi, H., & Myotoku, M. (2021). Effects of concurrent and staggered dosing of semi-solid enteral nutrients on pharmacokinetic behavior of antiepileptic drugs after oral administration in rats. *PloS one*, 16(11), e0259400. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259400>
303. Cansu, A., Gurgen, S. G., Demirhan, Y. N., Ozkan Kart, P., Yildirim, M., Alver, A., Yeni Lmez, E., & Sönmez, F. M. (2022). Effects of treatment with clinically relevant valproate, carbamazepine, oxcarbazepine, topiramate, lamotrigine and levetiracetam on ovarian folliculogenesis in young rats. *Epilepsy research*, 184, 106966. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.106966>
304. Shishmanova-Doseva, M., Atanasova, D., Uzunova, Y., Yoanidu, L., Peychev, L., Marinov, P., & Tchekalarova, J. (2021). Effects of Lacosamide Treatment on Epileptogenesis, Neuronal Damage and Behavioral Comorbidities in a Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4667. <https://doi.org/10.3390/ijms22094667>
305. Çarçak, N., Karanfil, C., Akat, Ş., Akman, Ö., & Onat, F. (2022). The effect of chronic treatment with sodium channel blocker lacosamide on early development of absence seizures in genetic absence epilepsy rats. *Epilepsy research*, 182, 106896. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.106896>
306. Aygun, H., Akin, A. T., Kızılaslan, N., Sumbul, O., & Karabulut, D. (2022). Probiotic supplementation alleviates absence seizures and anxiety- and depression-like behavior in

- WAG/Rij rat by increasing neurotrophic factors and decreasing proinflammatory cytokines. *Epilepsy & behavior: E&B*, 128, 108588. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108588>
307. Kızılaslan, N., Sumbul, O., & Aygun, H. (2022). The Beneficial Effect of Probiotics Supplementation on Penicillin-Induced Focal Seizure in Rats. *Neurochemical research*, 47(5), 1395–1404. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03539-7>
 308. Mousavi-Hasanzadeh, M., Rezaeian-Varmaziar, H., Shafaat, O., Jand, A., & Palizvan, M. R. (2019). The effect of co-administration of pentylenetetrazole with pilocarpine: New modified PTZ models of kindling and seizure. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 182, 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.04.010>
 309. Yılmaz, T., Gedikli, Ö., & Yildirim, M. (2015). Evaluation of spatial memory and locomotor activity during hypercortisolism induced by the administration of dexamethasone in adult male rats. *Brain research*, 1595, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.04.034>
 310. Arslan, F. C., Tiryaki, A., Yıldırım, M., Özkorumak, E., Alver, A., Altun, İ. K., İnce, İ., & Gedikli, Ö. (2016). The effects of edaravone in ketamine-induced model of mania in rats. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 76(3), 192–198. <https://doi.org/10.21307/ane-2017-019>
 311. Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 14(3), 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
 312. Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*, 2(2), 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
 313. Yildirim, M., & Marangoz, C. (2004). Effects of nitric oxide on passive avoidance learning in rats. *The International journal of neuroscience*, 114(5), 597–606. <https://doi.org/10.1080/00207450490430471>
 314. Keleş, A. İ., Yıldırım, M., Gedikli, Ö., Çolakoğlu, S., Kaya, H., Baş, O., Sönmez, O. F., & Odacı, E. (2018). The effects of a continuous 1-h a day 900-MHz electromagnetic field applied throughout early and mid-adolescence on hippocampus morphology and learning behavior in late adolescent male rats. *Journal of chemical neuroanatomy*, 94, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2018.08.006>
 315. Wang, J. Y., Gao, Y. H., Qiao, L. N., Zhang, J. L., Duan-Mu, C. L., Yan, Y. X., Chen, S. P., & Liu, J. L. (2018). Repeated electroacupuncture treatment attenuated hyperalgesia through suppression of spinal glial activation in chronic neuropathic pain rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2134-8>
 316. Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C., & Joris, J. (1988). A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32(1), 77–88. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90026-7](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90026-7)

317. Cohen, H., Matar, M. A., & Joseph, Z. (2013). Animal models of post-traumatic stress disorder. *Current protocols in neuroscience*, Chapter 9, .
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0945s64>
318. Tubi, M. A., Lutkenhoff, E., Blanco, M. B., McArthur, D., Villablanca, P., Ellingson, B., Diaz-Arrastia, R., Van Ness, P., Real, C., Shrestha, V., Engel, J., Jr, & Vespa, P. M. (2019). Early seizures and temporal lobe trauma predict post-traumatic epilepsy: A longitudinal study. *Neurobiology of disease*, 123, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.05.014>
319. Annegers, J. F., Hauser, W. A., Coan, S. P., & Rocca, W. A. (1998). A population-based study of seizures after traumatic brain injuries. *The New England journal of medicine*, 338(1), 20–24. <https://doi.org/10.1056/NEJM199801013380104>
320. Herman S. T. (2002). Epilepsy after brain insult: targeting epileptogenesis. *Neurology*, 59(9 Suppl 5), S21–S26. https://doi.org/10.1212/wnl.59.9_suppl_5.s21
321. Dulla, C. G., & Pitkänen, A. (2021). Novel Approaches to Prevent Epileptogenesis After Traumatic Brain Injury. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 18(3), 1582–1601. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01119-1>
322. Hernandez T. D. (1997). Preventing post-traumatic epilepsy after brain injury: weighing the costs and benefits of anticonvulsant prophylaxis. *Trends in pharmacological sciences*, 18(2), 59–62.
323. Kwon, S. J., Barletta, J. F., Hall, S. T., Mangram, A. J., Dzandu, J. K., Abdulhamid, M., & Zach, V. (2019). Lacosamide versus phenytoin for the prevention of early post traumatic seizures. *Journal of critical care*, 50, 50–53. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.11.010>
324. Huo, X., Xu, X., Li, M., Xiao, L., Wang, Y., Li, W., Wang, C., & Sun, T. (2022). Effectiveness of antiseizure medications therapy in preventing seizures in brain injury patients: A network meta-analysis. *Frontiers in pharmacology*, 13, 1001363. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1001363>
325. Medel-Matus, J. S., Simpson, C. A., Ahdoot, A. I., Shin, D., Sankar, R., Jacobs, J. P., & Mazarati, A. M. (2022b). Modification of post-traumatic epilepsy by fecal microbiota transfer. *Epilepsy & behavior : E&B*, 134, 108860. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108860>
326. Zhu, H., Wang, W., & Li, Y. (2024). The interplay between microbiota and brain-gut axis in epilepsy treatment. *Frontiers in pharmacology*, 15, 1276551. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1276551>
327. Bagheri, S., Heydari, A., Alinaghipour, A., & Salami, M. (2019). Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. *Epilepsy & behavior : E&B*, 95, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.03.038>
328. Tahmasebi, S., Oryan, S., Mohajerani, H. R., Akbari, N., & Palizvan, M. R. (2020). Probiotics and *Nigella sativa* extract supplementation improved behavioral and electrophysiological

- effects of PTZ-induced chemical kindling in rats. *Epilepsy & behavior : E&B*, 104(Pt A), 106897. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106897>
329. Kilinc, E., Ankarali, S., Ayhan, D., Ankarali, H., Torun, I. E., & Cetinkaya, A. (2021). Protective effects of long-term probiotic mixture supplementation against pentylenetetrazole-induced seizures, inflammation and oxidative stress in rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 98, 108830. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108830>
 330. Sabouri, S., Kangi, S., Najimi, S., & Rahimi, H. R. (2021). Effects of probiotics on pentylenetetrazol-induced convulsions in mice. *Epilepsy research*, 176, 106723. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2021.106723>
 331. Bonnet, U., Bingmann, D., Speckmann, E. J., & Wiemann, M. (2018). Small intraneuronal acidification via short-chain monocarboxylates: First evidence of an inhibitory action on over-excited human neocortical neurons. *Life sciences*, 204, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.05.005>
 332. Medel-Matus, J. S., Lagishetty, V., Santana-Gomez, C., Shin, D., Mowrey, W., Staba, R. J., Galanopoulou, A. S., Sankar, R., Jacobs, J. P., & Mazarati, A. M. (2022a). Susceptibility to epilepsy after traumatic brain injury is associated with preexistent gut microbiome profile. *Epilepsia*, 63(7), 1835–1848. <https://doi.org/10.1111/epi.17248>
 333. Lin, W. J., Harnod, T., Lin, C. L., & Kao, C. H. (2019). Mortality Risk and Risk Factors in Patients with Posttraumatic Epilepsy: A Population-Based Cohort Study. *International journal of environmental research and public health*, 16(4), 589. <https://doi.org/10.3390/ijerph16040589>
 334. Pingue, V., Mele, C., & Nardone, A. (2021). Post-traumatic seizures and antiepileptic therapy as predictors of the functional outcome in patients with traumatic brain injury. *Scientific reports*, 11(1), 4708. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84203-y>
 335. Mazzini, L., Cossa, F. M., Angelino, E., Campini, R., Pastore, I., & Monaco, F. (2003). Posttraumatic epilepsy: neuroradiologic and neuropsychological assessment of long-term outcome. *Epilepsia*, 44(4), 569–574. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.34902.x>
 336. Fenwick, T., & Anderson, V. (1999). Impairments of attention following childhood traumatic brain injury. *Child neuropsychology : a journal on normal and abnormal development in childhood and adolescence*, 5(4), 213–223. [https://doi.org/10.1076/0929-7049\(199912\)05:04;1-R;FT213](https://doi.org/10.1076/0929-7049(199912)05:04;1-R;FT213)
 337. Cazalis, F., Feydy, A., Valabrègue, R., Péligrini-Issac, M., Pierot, L., & Azouvi, P. (2006). fMRI study of problem-solving after severe traumatic brain injury. *Brain injury*, 20(10), 1019–1028. <https://doi.org/10.1080/02699050600664384>
 338. Vallat-Azouvi, C., Weber, T., Legrand, L., & Azouvi, P. (2007). Working memory after severe traumatic brain injury. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, 13(5), 770–780. <https://doi.org/10.1017/S1355617707070993>

339. Carron, S., Dezsi, G., Ozturk, E., Nithianantharajah, J., & Jones, N. C. (2019). Cognitive deficits in a rat model of temporal lobe epilepsy using touchscreen-based translational tools. *Epilepsia*, 60(8), 1650–1660. <https://doi.org/10.1111/epi.16291>
340. Scheff, S. W., Baldwin, S. A., Brown, R. W., & Kraemer, P. J. (1997). Morris water maze deficits in rats following traumatic brain injury: lateral controlled cortical impact. *Journal of neurotrauma*, 14(9), 615–627. <https://doi.org/10.1089/neu.1997.14.615>
341. Nissinen, J., Andrade, P., Natunen, T., Hiltunen, M., Malm, T., Kanninen, K., Soares, J. I., Shatillo, O., Sallinen, J., Nnode-Ekane, X. E., & Pitkänen, A. (2017). Disease-modifying effect of atipamezole in a model of post-traumatic epilepsy. *Epilepsy research*, 136, 18–34. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.07.005>
342. Barlow, D.H. (2004). *Anxiety and Its Disorders: The Nature and Treatment of Anxiety and Panic*. 2nd Edition. Guilford Press, New York.
343. Ponsford, J. (2017). Anxiety and depression following TBI, in *Neurobehavioural Disability and Social Handicap Following Traumatic Brain Injury* (McMillian TM, Wood RL, eds) p 167, Psychology Press, London.
344. Kim, J., Yoon, B. E., & Jeon, Y. K. (2020). Effect of Treadmill Exercise and Probiotic Ingestion on Motor Coordination and Brain Activity in Adolescent Mice. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 9(1), 7. <https://doi.org/10.3390/healthcare9010007>
345. Chao, L., Liu, C., Sutthawongwadee, S., Li, Y., Lv, W., Chen, W., Yu, L., Zhou, J., Guo, A., Li, Z., & Guo, S. (2020). Effects of Probiotics on Depressive or Anxiety Variables in Healthy Participants Under Stress Conditions or With a Depressive or Anxiety Diagnosis: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in neurology*, 11, 421. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00421>
346. Namer, B., Schmidt, D., Eberhardt, E., Maroni, M., Dorfmeister, E., Kleggetveit, I. P., Kaluza, L., Meents, J., Gerlach, A., Lin, Z., Winterpacht, A., Dragicevic, E., Kohl, Z., Schüttler, J., Kurth, I., Warncke, T., Jorum, E., Winner, B., & Lampert, A. (2019). Pain relief in a neuropathy patient by lacosamide: Proof of principle of clinical translation from patient-specific iPS cell-derived nociceptors. *EBioMedicine*, 39, 401–408. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.11.042>