
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

ORTA DÜZEY BİLİŞSEL BOZUKLUKTA FARKLI TİP KETOJENİK DİYET MODELLERİNİN BAĞIRSAK MİKROBİYOMU İLE İLİŞKİSİ

Şerife AYTEN

DOKTORA TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KASIM 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Şerife AYTEN

../../2024

ORTA DÜZEY BİLİŞSEL BOZUKLUKTA FARKLI TİP KETOJENİK DİYET MODELLERİNİN BAĞIRSAK MİKROBİYOMU İLE İLİŞKİSİ

(Doktora Tezi)

Şerife AYTEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2024

ÖZET

Orta Düzey Bilişsel Bozukluk (OBB), beyinde bozulmuş glikoz metabolizmasıyla karakterize edilen bir durumdur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ketojenik diyetin bağırsak mikrobiyota modülasyonu aracılığıyla bilişsel fonksiyon üzerine olumlu etkiler sağlayabileceği öne sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı, OBB oluşturulan ratlarda farklı ketojenik diyet modellerinin bağırsak mikrobiyotası ve bilişsel fonksiyon ile ilişkisini incelemektir. Çalışmaya 8 haftalık erkek Wistar albino rat (n=28) dahil edilmiş ve dört gruba ayrılmıştır. Bilişsel olarak normal Kontrol grubu (KN) ve skopolamin ile bilişsel bozukluk modeli oluşturulan Skopolamin grubu (SKOP), standart kemirgen yemi ile; diğer iki grupta ise skopolamin ile bilişsel bozukluk oluşturulmuş olup, biri Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet (AUKD) ve diğeri klasik ketojenik diyet (KD) ile beslenmiştir. Her grup için diyet müdahalesi 9 hafta sürmüştür. AUKD modeli %60 yağ (%76,29'u zeytinyağı), %30 protein, %10 karbonhidrat ve resveratrol (75,8 mg/100 mg yem); KD ise %84 yağ (%47,63'si tereyağ ve %47,63'ü domuz yağı) ve %16 protein içeriğine sahiptir. Diyet müdahalesi öncesi ve sonrasında mekânsal hafıza ve öğrenme davranışını değerlendirmek için Morris Su Labirenti (MWM) ve görsel hafızayı değerlendirmek için Yeni Nesne Tanıma Testi (NORT) uygulanmıştır. Müdahale sonunda toplanan dışkı örnekleri ile bağırsak mikrobiyota kompozisyonu 16S rRNA dizileme yöntemi ile analiz edilmiştir. Günlük vücut ağırlığı başına ortalama enerji alımının KD grubunda, KN ve SKOP gruplarına göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Ayrıca, AUKD grubunda protein, omega-9 ve omega-3 yağ asidi alımlarının diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). MWM testinde, AUKD grubunda diğer gruplara göre platforma ulaşma süresinin daha kısa olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). AUKD grubunun, Chao1 ve Gözlemlenen türler indekslerine göre α çeşitliliğinin KD grubuna kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Shannon indeksine göre ise tüm gruplar arasında α çeşitliliğin farklı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Bray-Curtis, Jaccard ve ağırlıksız unifrac mesafe matrisine dayalı PCoA'e göre, AUKD ve KD grupları arasında bağırsak mikrobiyata kompozisyonunda anlamlı bir fark olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). *Lactobacillus* AUKD grubunun, *Roseburia* KD grubunun, *[Ruminococcus]_torques_group*, *[Eubacterium]_coprostanoligenes_group* ve *Dorea* ise SKOP grubunun karakteristik bakterileri olarak tanımlanmıştır. AUKD grubunda, diğer gruplara göre *Bacteroides* bolluğu daha düşük, *Prevotellaceae_UCG-001*, *Lachnospiraceae_NK4A136-group* ve *Akkermansia* bolluğu ise daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuç olarak OBB'de, AUKD modelinin KD modeline kıyasla bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde destekleyerek bilişsel fonksiyon üzerinde yarar sağlayacağı ve bu nedenle özellikle Alzheimer hastalığının gelişimini önleme veya geciktirme potansiyeline sahip olabileceği düşünülmektedir.

Bilim Kodu :1007
Anahtar Kelimeler :Orta Düzey Bilişsel Bozukluk, Klasik Ketojenik Diyet, Bağırsak Mikrobiyotası, Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet
Sayfa Adedi :119
Danışman :Prof. Dr. Saniye BİLİCİ

THE RELATIONSHIP BETWEEN DIFFERENT KETOGENIC DIET MODELS AND GUT MCROBIOTA IN MILD COGNITIVE IMPAIRMENT

(Ph. D. Thesis)

Şerife AYTEN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

November 2024

ABSTRACT

Mild Cognitive Impairment (MCI) is a condition characterized by impaired glucose metabolism in the brain. Recent studies suggest that the ketogenic diet may provide positive effects on cognitive function through gut microbiota modulation. The aim of this study is to investigate the relationship between different ketogenic diet models, gut microbiota, and cognitive function in rats with MCI. Eight-week-old male Wistar albino rats (n=28) were included in the study and divided into four groups. Cognitively normal Control group (CN) and Scopolamine group (SCOP) with cognitive impairment model induced by scopolamine were fed with standard rodent feed; the other two groups had cognitive impairment induced by scopolamine, with one fed Mediterranean-Compatible Ketogenic Diet (MMKD) and the other classic ketogenic diet (KD). Dietary intervention lasted 9 weeks for each group. The MMKD model contains 60% fat (76.29% olive oil), 30% protein, 10 % carbohydrate, and resveratrol (75.8 mg/100 mg feed); KD contains 84% fat (47.63% butter and 47.63% lard) and 16% protein. Morris Water Maze (MWM) was used to evaluate spatial memory and learning behavior, and Novel Object Recognition Test (NORT) was used to evaluate visual memory before and after dietary intervention. Gut microbiota composition was analyzed using 16S rRNA sequencing method with fecal samples collected at the end of the intervention. The average daily energy intake per body weight in the KD group was found to be lower compared to the KN and SKOP groups ($p<0,05$). Additionally, protein, omega-9, and omega-3 fatty acid intakes were determined to be higher in the MMKD group compared to other groups ($p<0,05$). In the MWM test, the MMKD group showed shorter platform reaching time compared to other groups ($p<0,05$). According to Chao1 and Observed species indices, α diversity of the MMKD group was determined to be higher compared to the KD group ($p<0,05$). According to the Shannon index, α diversity was found to be different among all groups ($p<0,05$). Based on Bray-Curtis, Jaccard, and unweighted unifrac distance matrix PCoA, a significant difference in gut microbial composition was shown between MMKD and KD groups ($p<0,05$). *Lactobacillus* was identified as characteristic bacteria of the MMKD group, *Roseburia* of the KD group, and *[Ruminococcus]_torques_group*, *[Eubacterium]_coprostanoligenes_group*, and *Dorea* of the SCOP group. In the MMKD group, *Bacteroides* abundance was lower, while *Prevotellaceae_UCG-001*, *Lachnospiraceae_NK4A136-group*, and *Akkermansia* abundance was higher compared to other groups ($p<0,05$). In conclusion, in MCI, the MMKD model is thought to provide benefits on cognitive function by positively supporting gut microbiota compared to the KD model, and therefore may have the potential to prevent or delay the development of Alzheimer's disease.

Science Code : 1007
Keywords : Cognitive Impairment, Ketogenic Diet, Gut Microbiota, Meditarranean Modified Ketogenic Diet
Page Number : 119
Supervisor : Prof. Dr. Saniye BİLİCİ

TEŞEKKÜR

Çalışmamın bütün aşamalarında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösterip yardımcı olan çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. Saniye BİLİCİ'ye,

Tez İzleme Komitesi'nde yer alan ve süreç boyunca çalışmama değerli katkılarını sunan, Prof. Dr. Hilal YILDIRAN ve Prof. Dr. Aslı AKYOL MUTLU'ya,

Çalışmanın planlanmasında ve bilişsel fonksiyon testlerinin yapılmasında çok değerli akademik katkıları için Prof. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM'a,

Doktora eğitimim boyunca desteklerini üzerimden esirgemeyen Toplum Beslenmesi Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. Eda KÖKSAL ve Prof. Dr. Nilüfer ACAR TEK'e,

Tezimin hayvan deneylerinin ve bilişsel fonksiyon testlerinin yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Burak KAYABAŞI'na,

Davranış testlerinin analizini ANYMAZE sistemi ile gerçekleştirme olanağı sağlayan Nörobilim ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne,

2211-A Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında, doktora eğitimim süresince yapmış olduğu destekten dolayı TÜBİTAK'a,

TDK-2023-8505 nolu proje kapsamındaki desteklerinden dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Bu süreçte bana manevi olarak destek olan canım arkadaşlarım Dr. Teslime Özge ŞAHİN, Dr. Nazlıcan ERDOĞAN GÖVEZ, Dr. Neslihan ARSLAN, Dr. M. Esra ÇITAR DAZIROĞLU, Arş. Gör. Şerife AKPINAR ŞENTÜRE, Dr. Hatice BÖLÜKBAŞI, Dr. Menşure Nur ÇELİK'e,

Tezimin biyoinformatik analizlerinin yapılmasında programlama bilgisi ile bana yol gösteren ve bu süreçte her zaman destek olan Mirhan ÜRKMEZ'e,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

RESİMLERİN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1. Orta Düzey Bilişsel Bozukluklar 5

2.1.1. Orta düzey bilişsel bozukluk tanımı ve prevelansı 5

2.1.2. Orta düzey bilişsel bozukluk tanı kriterleri 5

2.1.3. Orta düzey bilişsel bozukluk risk faktörleri 6

2.2. Bilişsel Bozukluk, Bağırsak-Beyin Aksı ve Beslenme İlişkisi 8

2.3. Orta Düzey Bilişsel Bozuklukta Güncel Diyet Yaklaşımları 10

2.3.1. Akdeniz diyeti 11

2.3.2. Hipertansiyonu durdurmak için beslenme yaklaşımları (DASH) diyeti . 12

2.3.3. Nörodejeneratif gecikme için akdeniz-DASH müdahalesi (MIND diyeti) 12

2.3.4. Ketojenik diyet 13

3. GEREÇ VE YÖNTEM 21

3.1. Hayvanların Seçimi, Temini ve Bakımı 21

3.2. Araştırma Genel Planı 21

3.3. Bilişsel Bozukluk Oluşturulması ve Davranış Testlerinin Yapılması 22

Sayfa

3.4. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü 26
3.5. Diyet Müdahaleleri ve Besin Tüketimlerinin İzlenmesi 26
3.6. Fekal Örneklerin Alınması 27
3.7. Anestezi, Doku Alma ve Ötenazi 27
3.8. Fekal Örneklerden Mikrobiyata Analizi 28
3.8.1. Fekal örneklerden DNA izolasyonu 28
3.8.2. 16S amplikon sıralaması 28
3.8.3. Bioinformatik analizler 29
3.9. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi 29
4. BULGULAR 31
4.1. Vücut Ağırlığı, Ağırlık Kazanımı ve Beyin Ağırlığına İlişkin Bulgular 31
4.2. Yem Tüketimleri, Enerji ve Besin Ögesi Alımlarına İlişkin Bulgular 34
4.3. Davranış Testlerine İlişkin Bulgular 37
4.4. Bağırsak Mikrobiyata Analizlerine İlişkin Bulgular 43
4.5. Mikrobiyal Bollukları ile Davranış Testleri ve Antropometrik Ölçümler Arasındaki Korelasyonlar 71
5. TARTIŞMA 81
5.1. Vücut ve Organ Ağırlıkları, Yem Tüketimleri ve Enerji ve Besin Öğesi Alımlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi 81
5.2. Davranış Testlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi 83
5.3. Bağırsak Mikrobiyata Analizlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi 85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 97
6.1. Sonuçlar 97
6.2. Öneriler 98
KAYNAKÇA 101
EKLER 115
EK-1. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı 116

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ 118

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.1. Diyetlerin besin ögesi örüntüsü 27

Çizelge 4.1. Deney gruplarının çalışma başlangıcı ve sonundaki ortalama vücut ağırlıklarının karşılaştırılması 31

Çizelge 4.2. Deney gruplarının ortalama vücut ağırlıkları ve haftalık ortalama ağırlık kazanımları 32

Çizelge 4.3. Deney gruplarının ortalama beyin ağırlıklarının karşılaştırılması 34

Çizelge 4.4. Ratların gruplara göre yem tüketimi, enerji ve besin ögesi alımları 35

Çizelge 4.5. Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi ve sonrası platforma ulaşma sürelerinin karşılaştırılması 39

Çizelge 4.6. Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda geçirdikleri sürelerin (sn) karşılaştırılması 41

Çizelge 4.7. Deney gruplarının yeni nesne testine ait paremetrelerinin karşılaştırılması 42

Çizelge 4.8. Grupların farklı indekslere göre α çeşitlilik değerleri farklılıkları 57

Çizelge 4.9. Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testi çıktıları arasındaki korelasyon 73

Çizelge 4.10. Ratların mikrobiyal bollukları ile antropometrik ölçümleri arasındaki korelasyon 78

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.	Orta düzey bilişsel bozukluk tanı kriterleri ve etiyolojisi	6
Şekil 2.2.	Orta düzey bilişsel bozukluk risk faktörleri	8
Şekil 2.3.	Beslenme, bağırsak-beyin aksı ve bilişsel bozukluk ilişkisi	9
Şekil 2.4.	Farklı ketojenik diyet modellerinin makro besin öğesi oranları	15
Şekil 2.5.	Ketojenik diyetin nörolojik korumadaki etkileri	18
Şekil 2.6.	KKD ve AUKD'nin bağırsak mikrobiyata modülasyonu aracılığıyla bilişsel bozukluk ile ilişkisi	19
Şekil 3.1.	Araştırma Planı	22
Şekil 3.2.	Yeni nesne tanıma testi prosedürü	25
Şekil 4.1.	Deney gruplarının ortalama vücut ağırlıkları	32
Şekil 4.2.	Deney gruplarının ortalama vücut ağırlığı kazanımları	33
Şekil 4.3.	Deney gruplarının haftalara göre günlük ortalama yem tüketimleri	36
Şekil 4.4.	Deney gruplarının haftalara göre günlük ortalama enerji alımları	37
Şekil 4.5.	Diyet müdahalesi öncesi ortalama platforma ulaşma süresi	40
Şekil 4.6.	Diyet müdahalesi sonrası ortalama platforma ulaşma süresi	40
Şekil 4.7.	Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda geçirdikleri süre	41
Şekil 4.8.	Deney gruplarının yeni ve eski nesne ile geçirdikleri süreler	42
Şekil 4.9.	Deney gruplarının yeni nesne tanıma testinde ayırt edicilik indeksi katsayılarının karşılaştırılması	43
Şekil 4.10.	Deney gruplarına göre filum düzeyinde göreceli bollukları	44
Şekil 4.11.	Filum düzeyinde göreceli bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması	45
Şekil 4.12.	Gruplara göre aile düzeyinde göreceli bollukları	47
Şekil 4.13.	Aile düzeyinde göreceli bollukların (%) gruplar arasında karşılaştırılması	47
Şekil 4.14.	Gruplara göre cins düzeyinde göreceli bollukları	52

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.15. Cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması .. 53

Şekil 4.16. Gözlemlenen türler kutu grafiği 58

Şekil 4.17. Chao1 indeksi kutu grafiği 59

Şekil 4.18. Shannon indeksi kutu grafiği..... 59

Şekil 4.19. Simpson indeksi kutu grafiği..... 59

Şekil 4.20. Gruplar arasındaki farklılıklar 60

Şekil 4.21. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Bray-Curtis 2 boyutlu gösterimi..... 61

Şekil 4.22. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Bray-Curtis 3 boyutlu gösterimi..... 62

Şekil 4.23. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Jaccard 2 boyutlu gösterimi..... 63

Şekil 4.24. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Jaccard 3 boyutlu gösterimi..... 64

Şekil 4.25. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıksız Unifrac uzaklıkları 2boyutlu gösterimi 65

Şekil 4.26. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıksız Unifrac uzaklıkları 3 boyutlu gösterimi 66

Şekil 4.27. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıklı Unifrac uzaklıkları 2 boyutlu gösterimi..... 67

Şekil 4.28. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıklı Unifrac uzaklıkları 3 boyutlu gösterimi..... 68

Şekil 4.29. Tüm gruplara ait LEfSe analizi 69

Şekil 4.30. Ketojenik Diyet gruplarına ait LEfSe analizi 70

Şekil 4.31. Kontrol ve Skopolamin gruplarına ait LEfSe analizi 71

Şekil 4.32. Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testi çıktıları arasındaki korelasyon 76

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 3.1. Morris Su Testine ait görseller..... 23

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	**Açıklamalar**
%	Yüzde
°C	Derece Santigrat
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
kkal	Kilokalori
mg	Miligram
mL	Mililitre
p	Anlamlılık Düzeyi
r	Korelasyon Katsayısı
sn	Saniye
ss	Standart Sapma
x̄	Ortalama
µl	Mikrolitre
Kısaltmalar	**Açıklamalar**
AH	Alzheimer Hastalığı
APOE ε4	Apolipoprotein E
APP	Amiloid Prekürsör Protein
ASV	Amplicon Sequence Variants
ATP	Adenozin trifosfat
AUKD	Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet
Aβ	Amiloid-β
CCL2	C-C Motif Kemokin Ligandı 2
DASH	Hipertansiyonu Önlemek İçin Beslenme Yaklaşımları
DLC	Lewy Cisimcikleri ile Demans

Kısaltmalar	Açıklamalar
BB	Bilişsel Bozukluk
ETC	Elektron Taşıma Zinciri (Electron Transport Chain)
DHA	Dokozahekzaenoik Asit
FTD	Frontotemporal Demans
GABA	Gama Aminobutirik Asit
GLUT	Spesifik Glikoz Taşıyıcıları
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi
OBB	Hafif Bilişsel Bozukluk
HCA2	Hidroksikarboksilik Asit Reseptörü 2
HDAC	Histon Deasetilazlar
HPA	Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksı
IL-1	İnterlökin-1
KBB	Kan Beyin Bariyeri
KC	Keton Cisimcikleri
KD	Ketojenik Diyet
KZYA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
LEfSe	Doğrusal ayırıcı analiz etki boyutu
LPS	Lipopolisakkarit
MCT	Orta Zincirli Trigliserit
MIND	Akdeniz-DASH Nörodejeneratif Gecikme İçin Müdahale (Mediterranean-DASH Diet Intervention for Neurodegenerative Delay)
MTHFR	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NF-kB	Nükleer Faktör Kappa B
NORT	Yeni Nesne Tanıma Testi (Novel Object Recognition Test)
MWM	Morris Su Testi (Morris Water Maze)
NRF2	Nükleer Faktör Eritroid 2 İlişkili Faktör 2
NLRP3	NLR Ailesi Pirin Alanı İçeren 3

Kısaltmalar	Açıklamalar
NU-AGE	Avrupa'da Sağlıklı Yaşlanma için Yaşlı Yetişkin Popülasyonunun Özel İhtiyaçlarını Ele Alan Beslenme Stratejileri
PCoA	Temel Koordinat Analizi (Principle Coordinates Analysis)
PPARy	Peroksizom Proliferatör ile Etkinleştirilen Reseptör y
RONS	Reaktif Oksijen Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RSV	Resveratrol
TLR4	Toll-like Reseptörler 4
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör--α
UCP	Ayırma Proteini (Uncoupling Protein)
VBB	Vasküler Bilişsel Bozukluk

1. GİRİŞ

Orta Düzey Bilişsel Bozukluk (OBB), normal yaşlanma ile demansın başlangıcı arasındaki ara bir aşamayı temsil etmektedir. Demansın potansiyel bir öncüsü olarak kabul edilmektedir. Demans yaşlanma ile karşılaşılan en önemli hastalıklardan biri olup, ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada olmasına karşın bakım gerektiren hastalıkların başında gelir [1]. Semptomlarının kolay fark edilememesi nedeniyle tanı konulması zor olan OBB'ye sahip bireylerin yaklaşık %15'inde iki yıl sonra demans geliştiği gösterilmiştir [2]. Demans tablosunun en sık nedeni olan kronik nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer Hastalığı (AH) tanısı konulmadan önce bireylerin OBB'ye sahip olduğu belirtilmektedir. Dünya çapında 50 milyon insanda demans görüldüğü ve bu vakaların %60-80'inin AH olan bireylerin oluşturduğunu bildirmiştir [3]. Dünya çapında prevelansı giderek artan bir nörodejeneratif hastalık olan AH, senil plaklarda hücre dışı Amiloid-β-peptitlerin (Aβ) ve hücre içi tau proteinlerinin birikimi sonucu nörofibriler yumak oluşumu ile karakterize hafıza ve bilişsel işlevi etkileyen ilerleyici bir hastalıktır [4]. Ulusal Yaşlanma Enstitüsü'ne göre, AH olan kişilerin yüzdesi, 65 yaşından sonra her beş yılda bir ikiye katlanmaktadır [1]. Demans tanısı alan birey sayısında en fazla artışın görüldüğü ülkenin 1990-2016 yılları arasında 148 ülke arasında Türkiye olduğu belirtilmektedir [5].

Çalışmalar, AH'da oluşan beyin amiloid plak birikiminin, merkezi ve periferik sinir sisteminde yıllarca süren kronik inflamasyonun bir sonucu olduğunu ve klinik belirtiler oluşmadan yaklaşık 10-20 yıl önce meydana geldiğini göstermektedir [6, 7]. Bu nedenle AH'nin klinik belirtileri ortaya çıkmadan önceki bilişsel bozukluk evresinde etkili yaşam tarzı müdahaleleri ile hastalığın oluşumunun geciktirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bilişsel davranış da dahil olmak üzere mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseni aracılığıyla konak beyin fonksiyonu ve davranışını modüle edebileceği, bağırsaklarda gelişen disbiyosiz tablosunun bağırsak ve kan-beyin bariyerinin artan geçirgenliğine neden olarak nörodejenerasyon bozukluklarının insidansını artırabileceği bildirilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası ve beyin; enterik sinir sistemi, hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksı ve immün sistemdeki çeşitli yolaklar aracılığıyla karşılıklı etkileşim halindedir [8]. Bağırsak mikrobiyatasının ve mikrobiyal metabolitlerin beyin-bağırsak aksı ile bazı nörotrofik faktörlerin ve nörotransmitterlerin sentez ve salınımını etkileyerek bilişsel bozukluk ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir [9, 10].

Bağırsak mikrobiyotasının kişiselleştirilmiş diyet veya faydalı mikrobiyota müdahalesi yoluyla modülasyonunun AH için umut vaat edici bir tedavi yöntemi olacağı belirtilmektedir. Özellikle AH klinik belirtileri ortaya çıkmadan, bilişsel bozukluk (BB) evresinde etkili yaşam tarzı müdahaleleri ile hastalığın oluşumunun geciktirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu hastalığın tedavisine özgü spesifik bir diyet türü bulunmamakla birlikte, literatürde sınırlı sayıda çalışmada ketojenik diyet (KD) yaklaşımının AH patofizyolojik mekanizmasıyla ilgili olduğu öne sürülmektedir [11, 12]. Bozulmuş glukoz metabolizması AH ve BB'de yaygın olarak görülmektedir. Beyinde glukoz alımında azalma ile beyin dokusunda gelişen hipometabolizma, başta hipokampüs olmak üzere beyinde kronik enerji yoksunluğu nöronal fonksiyonun ve bilişsel performansın bozulmasına neden olarak BB ve AH nöropatolojisinde rol oynamaktadır. Bu nedenle KD uygulamasının, beyin için alternatif metabolik substrat olarak keton sağlayarak bozulmuş glukoz metabolizmasının etkilerini azaltabileceği bildirilmektedir. Ayrıca, KD uygulamasının anti-inflamatuar özelliğinden dolayı birçok nörodejeneratif hastalık üzerinde olumlu etkisi olduğu belirtilmektedir. İnflamatuar sitokinleri, reaktif oksijen türlerini ve inflamasyonla ilişkili NLRP3 (NLR ailesi pirin alanı içeren 3)'ü azaltması, insülin duyarlılığını düzenleyen PPARy (Peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör y)'yı artırması ve bağırsak mikrobiyota modülasyonu, KD'nin nörodejeneratif hastalıklardaki anti-inflamatuar özelliklerindendir [13]. Ancak KD'nin vücut ağırlığı kaybı, lipit emiliminde bozulmalar gibi bazı yan etkileri ve sürdürülebilirliğinin az olması dezavantaj olarak değerlendirilmektedir. Modifiye Atkins Diyetleri gibi daha düşük oranlı ketojenik diyet modellerinin diyetin esnekliğini ve tüketilebilirliğini artırmak ve diyete uyumu kolaylaştırması bakımından AH' da daha iyi bir alternatif olabileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte son yıllarda Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet (AUKD) modelinin; zeytinyağı ve balık içermesi, sebze ve meyve, tam tahıllar ve kuru baklagillerin tüketimi için diğer alternatiflere göre daha yüksek karbonhidrat alımına olanak sağlaması ve sürdürülebilir özelliği nedeniyle BB evresinde koruyucu ve önleyici en etkili diyet müdahalesi olabileceği öne sürülmektedir [14]. KD'nin uzun süreli olumsuz etkileri arasında disbiyosiz gelişim riski olmasına karşın AUKD'nin öbiyosiz korunumunda da daha etkili olduğu düşünülmektedir [15].

Literatür incelendiğinde AUKD modelinin klasik ketojenik diyete göre bağırsak mikrobiyotası ve bazı bilişsel fonksiyonlar ile ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, OBB'de farklı tip KD modellerinin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisini değerlendirmek amacıyla planlanıp yürütülmüştür.

Çalışmanın hipotezleri aşağıdaki gibidir.

1. AUKD grubunda bağırsak mikrobiyota çeşitliliği ve bolluğu KD grubuna göre daha yüksektir.
2. Müdahale sonrası öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı davranışlar AUKD grubunda KD ve SKOP gruplarına göre daha iyidir.
3. Müdahale sonrası bilişsel bozukluğu olan grupta (SKOP) bağırsak mikrobiyata çeşitliliği ve bolluğu sağlıklı olanlara (KN) göre farklılık gösterir.
4. Müdahale sonrası öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı davranışlar sağlıklı olan grupta (KN) bilişsel bozukluğu olan gruba (SKOP) göre daha iyidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Orta Düzey Bilişsel Bozukluklar

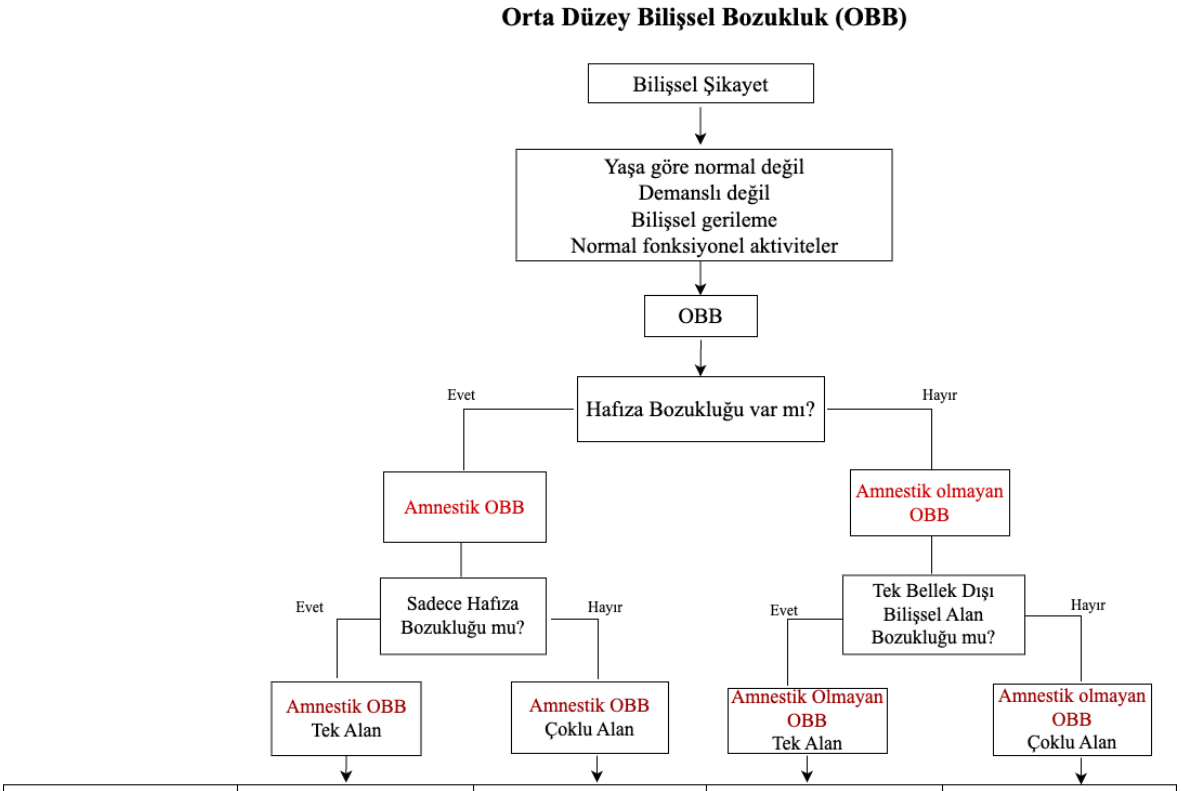
2.1.1. Orta düzey bilişsel bozukluk tanımı ve prevelansı

Bilişsel işlevler, dış dünyaya ait uyaranların duyu organlarımız ile algılanması, bilginin işlenmesi ve anlaşılması işlevlerinin tümü olarak ifade edilmektedir. Hafif bilişsel bozukluk (OBB) kişinin yaşı ve kültürel çevresine göre beklenenden daha az kapasitede bilişsel fonksiyon gösterdiği klinik bir tablodur [16]. Bilişsel gerilemenin başlangıcını işaret eden klinik ve nöropsikolojik bir sendrom olan OBB, normal yaşlanma ile demansın başlangıcı arasındaki ara bir aşamayı temsil etmekte ve demansın potansiyel bir öncüsü olarak kabul edilmektedir [1–3,16]. Yapılan bir 60 yaş ve üstü kişilerde prevalansının %15 ile %20 arasında olduğu gösterilmiştir [17]. Yapılan bir meta-analiz ve sistematik derlemede ise huzurevindeki yaşlılarda OBB görülme sıklığı % 21.2 olarak belirlenmiştir [18]. Normal bilişsel yaşlanma ile karşılaştırıldığında, OBB genellikle klinik demansa göre hızlı bir şekilde ilerlemektedir ve demansın erken veya öncü belirtisi olarak kabul edilmektedir. Yapılan bir çalışmada, OBB olan bireylerin %10-15'inin ileride demansa sahip olacağı tahmin edilmiş [19], başka çalışmada ise OBB olan bireylerin 6 yıllık takip sonrası %60-65'inde demans geliştiği belirlenmiştir [20]. Bu nedenle, OBB'nin erken teşhisi ve tedavisinin demans gelişimini yavaşlatabileceği hatta önleyebileceği, bu dönemin demansı önlemek için "altın dönem" olduğu vurgulanmaktadır [21].

2.1.2. Orta düzey bilişsel bozukluk tanı kriterleri

Günlük işlevlerin ciddi bir şekilde etkilenmeden demans olmaksızın yaşa uygun olmayan bilişsel gerilemeyi ifade eden OBB'nin dört klinik alt tipi bulunmaktadır. Eğer OBB tanısı alan hastada bellek bozukluğu varsa amnestik OBB, bellek bozukluğu yoksa amnestik olmayan OBB olarak adlandırılır. Amnestik OBB, sadece bellekle sınırlı bir bozulma gösteriyorsa tek alan amnestik OBB, bellekle birlikte başka alanlarda da bozulma mevcutsa çoklu alan amnestik OBB olarak isimlendirilir. Amnestik olmayan OBB'de ise bozulma tek bir alanda ise tek alan amnestik olmayan OBB, birden fazla alanda bozulma varsa çoklu alan amnestik olmayan OBB olarak sınıflandırılır [22]. Amnestik OBB, AH'a bağlı demansın tipik prodromal aşamasıdır. Tanı anında var olabilecek depresyon ve anksiyete gibi

psikolojik bozukluklar OBB ile birlikte bulunabilir. Ayrıca davranışlarda farklılıklar, uyku sorunları ve duyarsızlık görülebilir [1]. Şekil 2.1'de OBB tanı kriterleri ve etiyolojisi gösterilmiştir.



ETİYOLOJİ				
Dejeneratif	AH	AH	FTD AH	DLC AH
Vasküler		VBB		VBB
Psikiyatrik	Depresyon	Depresyon		

OBB: Orta Düzey Bilişsel Bozukluk; AH: Alzheimer Hastalığı; VBB: Vasküler Bilişsel Bozukluk; FTD: Frontotemporal Demans; DLC: Lewy Cisimcikleri ile Demans

Şekil 2.1. Orta düzey bilişsel bozukluk tanı kriterleri ve etiyolojisi [16, 17]

2.1.3. Orta düzey bilişsel bozukluk risk faktörleri

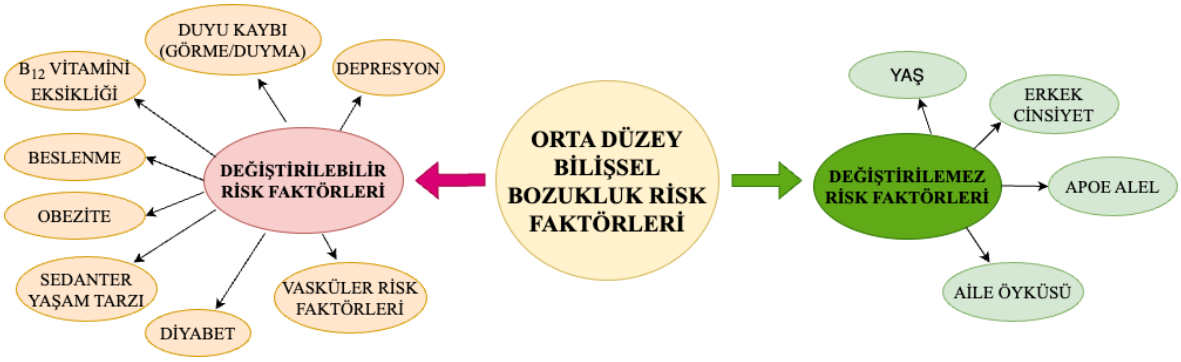
Yaş, erkek cinsiyet, aile öyküsü ve genetik OBB için değiştirilemez risk faktörleridir. Yaş, OBB için en önemli risk faktörüdür [23]. Yapılan 4 yıllık bir kohort çalışmasında cinsiyet ve eğitim düzeyi farketmeksizin OBB insidansının yaşla birlikte arttığı [24], bir meta analiz

çalışmasında ise 70-74 yaş, 75-79 yaş ve 80-84 yaş gruplarında OBB bozukluk prevalansının sırasıyla %18,2, %15,0 ve %21,7 olduğu belirlenmiştir [18].

Genetik OBB için bir diğer risk faktörüdür. Apolipoprotein E (APOE ε4) polimorfizmi ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) TT genotipi, OBB ve demans için iyi bilinen genetik risk faktörleridir. APOE ε4 durumu, amiloid birikimi yoluyla OBB gelişimine sebep olurken, MTHFR TT genotipi homosistein ve vitamin B_{12} ile folat konsantrasyonları üzerine etkili olarak OBB oluşumuna yol açmaktadır [25, 26].

Depresyon, B_{12} vitamin eksikliği, duyu kaybı ve diyabet, hipertansiyon, inme, obezite, beslenme gibi vasküler risk faktörleri OBB için değiştirilebilir risk faktörleri arasındadır. Yapılan 4 yıllık bir kohort çalışmasında kardiyovasküler risk faktörlerinin OBB oluşum riskini arttırdığı, vasküler risklerin kontrol altına alınmasının OBB riskini de azaltabileceği belirtilmektedir [24]. Sedanter yaşam tarzı OBB için bir diğer değiştirilebilir risk faktörüdür. Son yıllarda yapılan bir meta-analiz çalışmasında yaşlı bireylerde sedanter yaşam tarzının bilişsel gerileme ve OBB riskini artırdığı gösterilmiştir. Yaşlı bireylerin sağlıklı bilişsel yaşlanma için sedanter geçirilen süreyi azaltmaları ve fiziksel aktivite düzeylerini artırmaları önerilmektedir [27]. Benzer yaşta sağlıklı yetişkinlere göre OBB olan bireylerde depresif belirtilere sahip olma olasılığı yaklaşık iki kat daha fazladır ve daha ciddi bilişsel bozulma düzeylerinde ise depresif semptomların ciddiyeti artmaktadır [28].

Son yıllarda, beslenmenin bilişsel fonksiyonu etkileyen önemli bir faktör olduğu üzerinde durulmaktadır ve sağlıklı beslenme modellerinin OBB ve AH riskini azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir [29]. Beslenme, BB ve demans riskini azaltmada önemli bir yaşam tarzı faktörüdür. Bazı besin öğelerinin (folat, flavonoidler, D vitamini ve omega-3) ve besin gruplarının (deniz ürünleri, sebzeler ve meyveler) yaşlı bireylerde bilişsel fonksiyon için koruyucu bir etkisi olabileceği gösterilmiştir [30]. Diğer taraftan, sağlıksız beslenme tarzı ise BB riskini artırabilmektedir. Yüksek yağ, hayvansal proteinler ve rafine edilmiş karbonhidratlar ile karakterize Batı tarzı diyet modelinin, nöroinflamasyonun başlangıcı ve dolayısıyla nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde rol oynadığı belirtilmektedir [31]. Değiştirilebilir ve değiştirilemez OBB risk faktörleri şekil 2.2.'de özetlenmiştir.



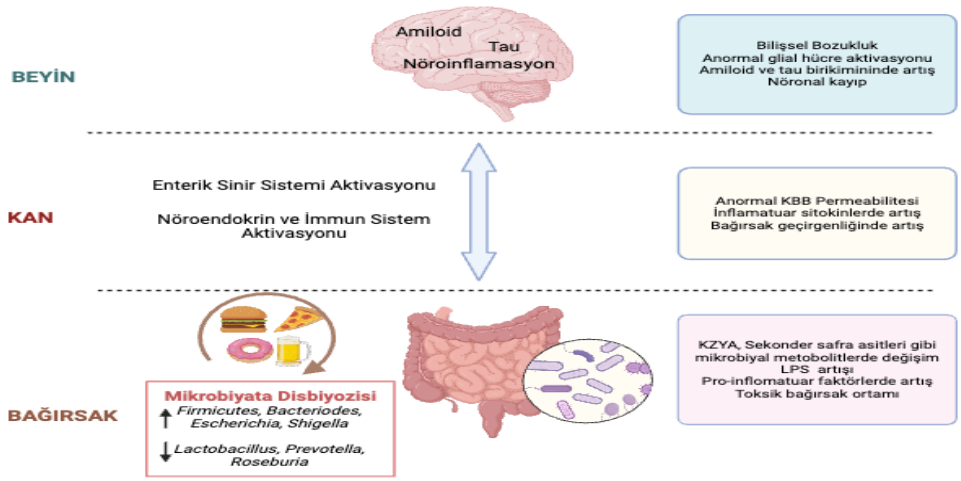
Şekil 2.2. Orta düzey bilişsel bozukluk risk faktörleri [Kaynaklardan derlenerek yazar tarafından çizilmiştir]

2.2. Bilişsel Bozukluk, Bağırsak-Beyin Aksı ve Beslenme İlişkisi

Bağırsak mikrobiyatası ve beyin; hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksı (vagus siniri), enterik sinir sistemi, immün sistem, kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) gibi mikrobiyal metabolizma ürünleri, lipopolisakkarit (LPS), peptidoglikanlar ve mikrobiyal membran kesecikleri gibi mikrobiyal yapısal bileşenler gibi farklı kanallar aracılığıyla karşılıklı etkileşim halindedir [32, 33]. Kısa zincirli yağ asitleri, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi nörotrofik faktörleri artırarak nöronal sağlığı ve sinaptik plastisiteyi destekleyen nöroprotektif özellikler gösterir. Ayrıca, mikroglial aktivasyonu engelleyip proinflamatuar sitokinleri azaltarak nöroinflamasyonu düzenlemektedir. Bunun yanı sıra, KZYA'ler, kan-beyin bariyerinin (BBB) bütünlüğünü korumaya yardımcı olarak nörotoksik maddelerin beyne girişini engellemektedir. Bu özellikleri ile KZYA'ların Alzheimer hastalığının temel biyobelirteçi olan amiloid-beta (Aβ) birikimini ve tau fosforilasyonunu da etkileyebileceği belirtilmektedir. Bütiratın, Aβ1–40 ve Aβ1–42 peptitlerinin bir araya gelmesini engelleyerek nörotoksik amiloid-beta agregatlarının oluşumunu azalttığı gösterilmiştir [34].

Mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseni boyunca bariyerlerin varlığı (bağırsak bariyeri, kan-beyin bariyeri, kan-serebrospinal sıvı bariyeri) bir diğer iletişim yolu olarak düşünülmektedir. Bariyerler, bağırsaktaki mikroorganizmaların (hem kommensal hem de patojenik mikroorganizmalar) tutulmasını ve mikrobiyal ürünlerin bağırsak ve beyin bariyerlerinden geçişini dengeleyerek mikrobiyal metabolitlerin eksen boyunca çeşitli bariyer fonksiyonlarını modüle etmesini sağlamaktadır [32]. Yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyatasının beyin-bağırsak aksı ile nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde önemli

bir rol oynadığı belirtilmiştir [10, 35]. Bağırsak mikrobiyotasının bilişsel bozukluk, demans ve Parkinson hastalığı olan bireylerde önemli ölçüde değiştiği gösterilmiştir [36, 37]. Bağırsak mikrobiyotasının homeostazı, patojenik mikroorganizmaların artışı, kommensal mikroorganizmaların azalması ile bozulmakta, bu durum disbiyozis olarak tanımlanmaktadır. Bağırsak-beyin ekseni arasındaki etkileşim disbiyozisden etkilenmekte ve bu durum nörolojik ve nöroimmün anormalliklere neden olmaktadır [32]. Beslenme, bağırsak-beyin aksı ve bilişsel bozukluk ilişkisi Şekil 2.3'te verilmiştir.



KZYA: Kısa Zincirli Yağ Asitleri, LPS: Lipopolisakkarit, KBB: Kan Beyin Bariyeri

Şekil 2.3. Beslenme, bağırsak-beyin aksı ve bilişsel bozukluk ilişkisi [37, 38]

Disbiyosiz, sıklıkla bozulmuş bağırsak epiteli ve artmış bağırsak geçirgenliği ile ilişkilendirilmektedir. Bağırsak epitel bütünlüğünün bozulması, bakteriyel translokasyon ve interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) seviyelerinin artması ile sistemik inflamasyona neden olur. Sistemik inflamasyon, kan-beyin bariyerinde nöroinflamasyona yol açar. Nöroinflamasyon, nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde en önemli faktördür [38, 39].

Bağırsak mikrobiyota disbiyozunun, bilişsel bozukluk ve demans ile ilişkili beyin türevli bazı nörotrofik faktörlerin ve asetilkolin gibi nörotransmitterlerin sentezini ve salgılanmasını etkileyebileceği saptanmıştır [9, 10]. Mikrobiyota, merkezi sinir sistemi işlevlerinde önemli bir rol oynayan serotonin öncüsü triptofanın metabolizmasını etkilemektedir. İnflamatuar durumlarda triptofan, LPS ve pro-inflamatuar sitokinlerin indolamin 2,3-dioksijenaz ve triptofan 2,3-dioksijenaz enzimlerini aktive etmesiyle kinürenin yoluna yönlendirilir ve

serotonin üretimi azalır. Bu süreçte triptofan, nörodejenerasyon ve bilişsel bozukluk ile ilişkili kinolinik asit ve kynurenik asit gibi bileşiklere dönüşür. Kynurenik asit nöroprotektif etkilere sahipken, kinolinik asit aşırı sinaptik uyarıya neden olarak nöronal hasara yol açmaktadır [40]. Bağırsak mikrobiyotası ayrıca glutamat, Gamma-aminobütirik asit (GABA), serotonin ve dopamin gibi nörotransmitterlerin üretim ve metabolizmasını etkilemektedir. GABA, bağırsaktaki bazı bakteriler tarafından üretilir ve lokal olarak etki gösterir [41]. Bağırsak bakterileri aynı zamanda, lokal anti-inflamatuar özelliklere sahip adenozin ve bağırsak geçişini yavaşlatan norepinefrin üretir. Bu yolaklar aracılığıyla bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık yanıtı ve bilişsel işlev üzerinde geniş bir etkiye sahiptir [42].

Konakçı ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki sağlıklı dengeyi korumak, nörodejeneratif hastalıklar ve nöroinflamasyon önlenmesi için esastır. Diyet, bağırsak mikrobiyota modülasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Bazı diyet modellerinin bağırsak mikrobiyota modülasyonu ile nörodejeneratif hastalıkların patogenezi ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir [11, 14, 43, 44]. Sağlıklı bir diyet tarzının benimsenmesi, *Prevotella, Bacteroidetes* ve *Lactobacillus* gibi yararlı mikrobiyal türlerin artışına katkıda bulunurken, Firmicutes, *Escherichia coli* ve *Ruminococcus* gibi türlerin azalmasıyla olumlu bilişsel sonuçlar doğurabileceği belirtilmiştir. Öte yandan, yüksek doymuş yağ ve şeker tüketimi ile karakterize edilen batı tipi diyetin, Firmicutes, Bacteroides filumlarının ve *Escherichia, Shigella* ve *Klebsiella* gibi cinslerin artışına ve *Lactobacillus, Roseburia* ve *Bacteroides* gibi yararlı cinslerin azalmasıyla olumsuz bilişsel sonuçlara yol açtığı gösterilmiştir [45].

2.3. Orta Düzey Bilişsel Bozuklukta Güncel Diyet Yaklaşımları

Bağırsak mikrobiyotasını modüle eden bazı diyet modelleri ve besin öğelerinin BB ve AH gelişimini önlemede veya geciktirilmesinde etkili bir yöntem olabileceği, bağırsak mikrobiyota modülasyonu yoluyla özellikle amiloid proteinlerinin üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir [46, 47]. Gözlemsel çalışmalardan elde edilen bulgular, bazı diyet modellerinin bilişsel bozulmaya karşı koruyucu etki gösterebileceğini öne sürmektedir, ancak klinik çalışmalardan elde edilen veriler oldukça sınırlıdır [48-50]. Demans, BB veya AH ile ilişkili olarak sıkça incelenen üç diyet tipi Akdeniz diyeti (AD) [48], Hipertansiyonu Önlemek için Beslenme Yaklaşımları (DASH) diyeti (10) ve Akdeniz-DASH Nörodejeneratif Gecikme için Müdahale (MIND) diyetidir [49]. Bunun yanı sıra, son

zamanlarda sınırlı sayıda çalışmada BB ve AH'nın patofizyolojik mekanizmasıyla ilgili olarak KD ve AUKD öne sürülmüştür [11, 14].

2.3.1. Akdeniz diyeti

Akdeniz diyeti, genel sağlık ve sağlıklı bilişsel yaşlanma için faydalı olarak bilinen besin ve besin öğelerinin tüketimini teşvik etmektedir [51]. Düşük C-reaktif protein ve interleukin seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilen AD'nin nörokoruyucu etkilerinin, inflamasyon ve oksidatif stresi azaltma yeteneğinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir [52]. Bir diğer önemli koruyucu etkisi ise obezite, diyabet, hipertansiyon, dislipidemi gibi BB için en önemli risk faktörü olan kardiyovasküler hastalık oluşumunu önlemede etkili olmasıdır [53]. Kan basıncı [54], mitokondriyal yapı ve fonksiyon [55], beyaz madde mikroyapısının korunması [56], serebral kan akımının indüksiyonu [55], kortikal kalınlık ve beyaz madde hiperintensitelerinin birikimi [57] üzerindeki olumlu etkileri aracılığıyla AD'nin BB ve AH riskini azaltmada potansiyel bir diyet yaklaşımı olduğu öne sürülmektedir. Nöroprotektif diğer olası mekanizmaları arasında, nörotransmisyon, sinaptik plastisite ile ilişkili nörotrofik faktörlerin artışı ve beyinden β-amiloid eliminasyonu bulunmaktadır. Üç yıllık PREDIMED (Akdeniz Diyeti ile Kardiyovasküler Hastalıkların Birincil Önlenmesi) alt çalışmasından elde edilen sonuca göre, Akdeniz diyeti ve yağlı tohum müdahalesinin nöroplastisite ile ilişkili beyin kaynaklı nörotrofik faktör seviyesini arttırdığı gösterilmiştir [58].

Yüksek omega-3 yağ asitleri, posa, fitosteroller, polifenoller, folik asit ve diğer biyoaktif bileşikleri içermesi ve fermente yoğurt ve süt ürünlerinden sağlanan probiyotik bakterilerle AD'nin bilişsel fonksiyon üzerine olumlu etkileri olabileceği belirtilmektedir. Yaşam boyu baskın omega-6 yağ asidi alımı, yaşa bağlı desaturaz enzimlerinin fonksiyonunun bozulması ve artan lipid peroksidasyonu sonucu yaşlanma ile birlikte Alzheimer hastalarında frontal beyin korteksindeki fosfolipitlerde bulunan Dokozahekzaenoik asit (DHA) konsantrasyonun azalmasına neden olmaktadır [59]. Özellikle OBB evresinde omega-3 yağ asit takviyesinin yaşa bağlı bilişsel azalma ve AH'ı önlemede etkili olabileceği belirtilmektedir [60]. Ayrıca, AD'nin yüksek flavonoid içeriği ise serbest radikallerin temizlenmesi ve anti-inflamatuar etkileri ile Aβ nörotoksisitesine karşı nöro koruma sağlamaktadır [61].

Avrupa'da sağlıklı yaşlanma için yaşlı yetişkin popülasyonunun özel ihtiyaçlarını ele alan beslenme stratejileri (NU-AGE), diyet müdahalesi ile hem bağırsak mikrobiyotası hem de

bilişsel fonksiyon hakkında rapor veren insan çalışmasıdır. Bu kapsamda yapılan çalışmada, 1200 yaşlı yetişkinden (65-79 yaş arası) oluşan bir popülasyon 12 ay boyunca AD veya kontrol diyeti müdahalesi için randomize edilmiştir [62]. Akdeniz diyetine yüksek bağlılık gösteren bireylerde, bilişsel işlev ve epizodik hafıza önemli gelişmeler göstermiştir. Gruplar arasında mikrobiyota çeşitliliği açısından anlamlı bir fark olmaksızın AD'ye daha fazla uyum ile, mikrobiyal çeşitlilik ve KZYA düzeylerinde artma ve inflamasyonda azalma gösterilmiştir [63].

2.3.2. Hipertansiyonu durdurmak için beslenme yaklaşımları (DASH) diyeti

Hipertansiyonu önlemeyi ve tedavi etmeyi, kardiyovasküler sağlığı iyileştirmeyi hedefleyen bir diyet modeli olan DASH diyetinin [64], AD ile bazı ortak noktaları bulunmaktadır. Her iki diyet modelinde de bitkisel besinlerin yüksek alımı önerilmektedir. Bununla birlikte, DASH diyeti düşük sodyum alımını, eklenmiş şeker içeren içeceklerin ve kırmızı et tüketimini sınırlamayı vurgulamakta ve alkol tüketimini önermemektedir [12]. Bu diyet modelinin özellikle BB ve AH gelişimi için risk faktörü olan yüksek kan basıncı ve dislipidemiyi önlediği, ayrıca oksidatif stresi, inflamasyonu ve insülin direncini modüle ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle DASH diyetine uzun süreli uyum, daha iyi bilişsel fonksiyonla ilişkilendirilmektedir [65].

2.3.3. Nörodejeneratif gecikme için akdeniz-DASH müdahalesi (MIND diyeti)

Akdeniz ve DASH diyetinin bir kombinasyonu olan MIND diyeti, özellikle nörokoruyucu etkilere sahip besin ögelerine odaklanan bir diyettir. Yüksek meyve tüketimi yerine böğürtlen ve yeşil yapraklı sebzelerin tüketiminin ön planda olduğu MIND diyetinde AD'den farklı olarak yeşil yapraklı sebzeler ve böğürtlenler için ve kek ve pastalar için ayrı kategoriler bulunmaktadır. Diğer farklılıklar ise, MIND diyetinde meyve dahil edilmemiştir. Ayrıca haftada 2-3 kez balık tüketmenin nörokoruyucu etkiler için yeterli olduğu görüşüyle günlük olarak balık tüketilmesi önerilmemektedir [49]. Morris ve arkadaşları tarafından yapılan ortalama 4.7 yıl süren gözlemsel bir çalışmada, MIND diyetine yüksek uyumun, daha düşük bilişsel gerileme ile ilişkilendirildiği ve böylece MIND diyetinin bilişsel gerileme hızını yavaşlatabileceği gösterilmiştir [49]. Yapılan bir başka çalışmada 12 yıllık takibin ardından MIND diyetine uyum, klinik olarak tanı konmuş OBB gelişme riskinde %19 azalma ile ilişkilendirilmiş ve MIND diyetine en yüksek uyumun OBB oluşma riskini

%53 azalttığı belirlenmiştir [66]. Başka bir çalışmada, bilişsel olarak normal ve OBB olan bireylerin beslenme alışkanlıkları ve besin alımı karşılaştırılmıştır. Çalışmada yüksek MIND diyeti puanına sahip olan bireylerin OBB için daha düşük riske sahip oldukları gösterilmiştir. Özellikle düşük doymuş yağ ve yüksek n-3 çoklu doymamış yağ asitleri içeren bir diyetin, OBB oluşumunu önlemede etkili olabileceği belirtilmiştir [67].

2.3.4. Ketojenik diyet

İlk kez 1920'lerde Johns Hopkins Tıp Merkezi'nde çalışan araştırmacılar tarafından epilepsi hastalarının tedavisinde uygulanan KD çok düşük karbonhidrat ve yüksek yağ içeriğine sahip bir diyet modelidir [68]. Temel olarak, karbonhidrat içeriği yüksek besinlerden alınan glukozun çok büyük bir kısmının kesin bir şekilde diyetten çıkarılması yoluyla, vücutta açlık durumu metabolizmasının taklit edilmesini hedefleyen KD, 1990'lardan sonra diyabet, kanser, obezite, Alzheimer, Parkinson ve hiperlipidemi gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır [69, 70].

Yaygın olarak bozulmuş glukoz metabolizması görülen AH'da, beyinde glukoz alımında azalma beyin dokusundaki hipometabolizmaya, başta hipokampüs olmak üzere beyinde kronik enerji yoksunluğuna, nöronal fonksiyonun ve bilişsel performansın bozulmasıyla birlikte gelişen BB ve AH'daki nöropatolojiye neden olmaktadır. Ketojenik diyet, beyin için alternatif metabolik substrat olarak keton sağlayarak bozulmuş glukoz metabolizmasının etkilerini azaltmaktadır. Ayrıca, KD'nin mitokondriyel fonksiyonu iyileştirmesi ve antiinflamatuar özelliğinden dolayı birçok nörodejeneratif hastalık üzerinde olumlu etkisi olduğu belirtilmektedir [13].

Ketojenik diyet türleri

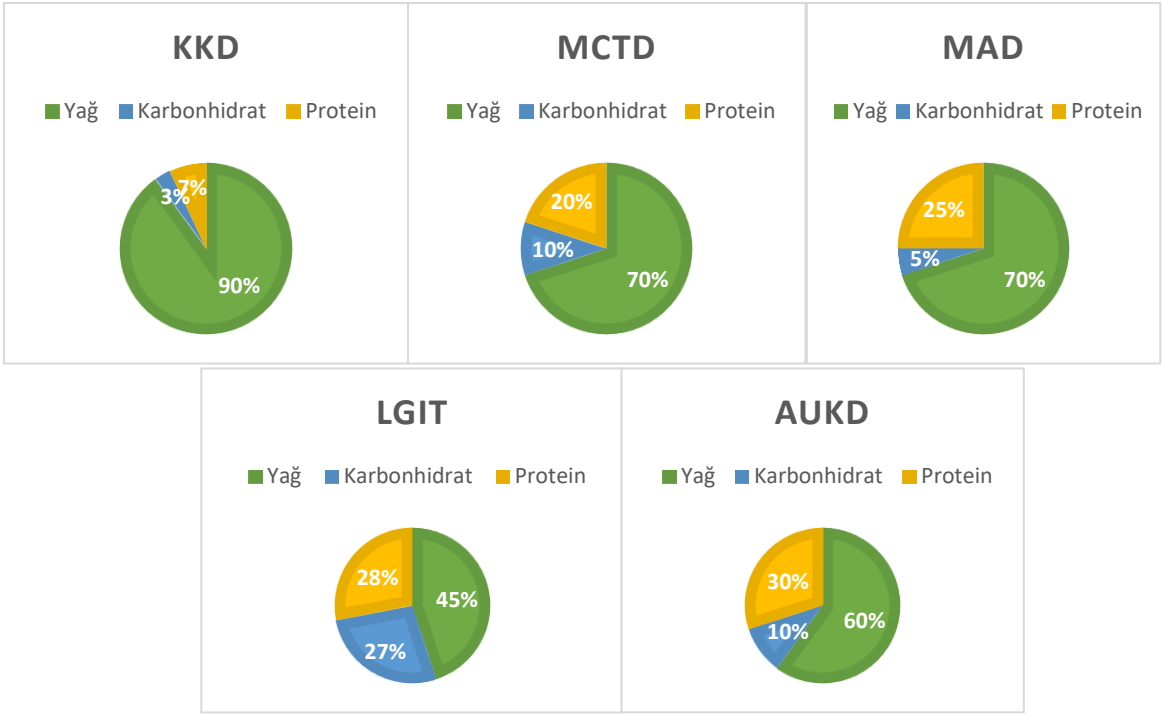
Klasik KD, gram olarak yağın protein ve karbonhidratlara olan sabit bir oranı olarak belirlenmektedir. En yaygın oran 4:1[yağ/(protein+karbonhidrat)]'dir, bu da enerjinin %90'ının yağdan, %6'sının proteinlerden ve % 4'ünün karbonhidratlardan elde edildiği anlamına gelmektedir. Bu sabit oran, keton seviyelerindeki değişkenliğin minimal olmasını sağlamaktadır. Orta düzeyde protein alımı, amino asitler ile sağlanan glukoneogenezi önlemekte ve keton cisimcikleri (KC) oluşumunu teşvik etmektedir. Sonuç olarak, metabolik profil kan glukoz konsantrasyonunun azalması ile artan KC ile karakterizedir.

Beyin enerji üretmek için KC'ni kullanmaya başlayarak açlık durumunu taklit etmektedir. Tüm KD çeşitleri klasik KD'nin bir varyasyonudur ve temel fark makro besin ögesi oranıdır. Farklı ketojenik diyet modellerinin makro besin öğesi oranları Şekil 2.4'te gösterilmiştir.

Bilişsel fonksiyonda yaygın olarak kullanılan ketojenik diyet türleri; klasik KD, modifiye Atkins diyeti ve orta zincirli trigliserit (MCT) ketojenik diyetidir [70]; Modifiye Ketojenik Diyet (2:1–1:1), Modifiye Atkins Diyeti (MAD; 1:1), MCT ketojenik diyet (1.9:1) [71]. Modifiye Atkins Diyeti, klasik KD'e göre daha az kısıtlayıcıdır. Bu diyette toplam enerjinin yaklaşık %65'i yağlardan sağlanırken, %25'i proteinlerden ve %10'u karbonhidratlardan gelmektedir. Orta zincirli trigliserit diyetinde, orta zincirli trigliserit yağı diyetin enerjisinin yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır. Çoğu KD tipinde yağ genellikle uzun zincirli trigliseritlerden sağlanmaktadır. Uzun zincirli trigliseritler birim enerji başına daha az keton üretme kapasitesine sahiptirler. Bu nedenle, MCT diyetinde daha düşük yağ yüzdesi ile daha yüksek keton seviyelerine ulaşılmaktadır. Böylece proteinlerin ve karbonhidratların daha büyük oranlarda tüketilmesine olanak sağlanmaktadır. Enerjinin yaklaşık %60'ı MCT'den, %10'u uzun zincirli trigliseritlerden, %10'u proteinlerden ve %20'si karbonhidratlardan gelmektedir [70].

Klasik KD, uzun vadede sürdürülmesi zor olan beslenme alışkanlıkları gerektirir. Uygulama sürecinde olası yan etkilerin ortaya çıkma potansiyeli önemli bir konudur. Yan etkilerin görülme sıklığı ise, uygulanan KD modeli ile ilişkilidir; klasik KD (4:1 oran), 3:1 oran KD veya MAD ile karşılaştırıldığında daha düşük bir toleransa sahiptir ve belirli besin takviyelerinin kullanılmasını gerektirmektedir. En sık görülen yan etkiler, kusma, konstipasyon ve diyare gibi gastrointestinal semptomlar, vücut ağırlığı kaybı ve hiperlipidemidir. Bunun yanı sıra, dehidratasyon, elektrolit değişikliği, aritmi nadir görülen yan etkileridir. Ketojenik diyet uygulamasının başlangıcından sonraki ilk birkaç gün veya bir hafta baş ağrısı, yorgunluk gibi hafif yan etkiler görülebilir [72]. Alzheimer Hastalığı'nda KD uygulamasının yan etkilerinin değerlendirilmesi ise, mevcut klinik denemelerin azlığı ve uygulanan KD modelinin heterojenliği nedeniyle zordur [73]. Bu nedenle, Alzheimer hastalarında Modifiye Atkins Diyetleri, MCT diyeti gibi daha düşük oranlı KD modellerinin sürdürülebilirliği, esnekliği ve tüketilebilirliği artırmak ve diyete uyumu kolaylaştırmak için daha iyi bir seçim olabileceği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra AD'nin bilişsel bozukluk önlemedeki olumlu etkileri ve KD'in BB ve AH patofizyolojisiyle ilişkisi göz önünde bulundurularak Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet (AUKD) modeli

geliştirilmiştir. Zeytinyağı ve balık gibi sağlıklı kaynaklardan elde edilen yağ ve proteinleri vurgularken, sebze ve meyve, tam tahıllar ve kurubaklagillerin tüketimi için biraz daha yüksek karbonhidrat alımına olanak sağlayan AUKD modeli OBB ve AH'da yeni bir diyet yaklaşımı olarak öne sürülmüştür. Zeytinyağı ve balık yağı baskın olmak üzere diyetin %60'ı yağlardan, %30'u proteinlerden, %10'u karbonhidratlardan sağlanmaktadır [14].



KKD: Klasik Ketojenik Diyet, MCTD: Orta Zincirli Trigliserit Ketojenik Diyeti, LGIT: Düşük Glisemik İndeks Diyeti, AUKD: Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet

Şekil 2.4. Farklı ketojenik diyet modellerinin makro besin öğesi oranları [15, 65]

Keton cisimciklerinin etki mekanizması

Karaciğer glikojen rezervlerinin çoğu 24 saatten uzun süren açlıkta kullanılmaktadır ve adenozin trifosfat (ATP) üretmek için temel olarak endojen glukoz sentezi ve yağ asidi oksidasyonu gerçekleşmektedir. Benzer metabolik süreç, çok düşük karbonhidrat içeren diyetler ve yüksek oranda enerji alımının yağ asitlerinden sağlandığı ketojenik diyetler ile de sağlanmaktadır.

Düşük miktarda karbonhidrat alımında (<20 g/gün veya günlük toplam enerji alımının %5'i), merkezi sinir sistemi için gereken enerji karşılanamamakta ve yağ asitleri birincil enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır [65]. Ancak, yağ asitleri beyin bariyerini geçemediği için

beyin tarafından kullanılamaz ve enerji karaciğer tarafından sağlanır. Glukozun mevcut olmadığı durumlarda, yetişkin bir bireyin karaciğeri kan dolaşımına günlük olarak yaklaşık 300 g kadar üretmektedir, bunun çoğu iskelet kasları, kalp ve beyin gibi yüksek enerji gereksinimi olan dokular tarafından kullanılmaktadır [74]. Keton cisimcikleri, hidroksibütirat, asetat ve asetoasetat olarak adlandırılan bileşiklerdir ve karaciğerde ketogenezis ile üretilmektedir. Ketogenezis karaciğer hücrelerinin mitokondrisinde gerçekleşmektedir. Burada yağ asitleri, karnitin palmitoil transferaz aracılığıyla mitokondriye ulaşmakta ve asetil CoA üretilmektedir. Tiolaz enzimi (Asetil koenzim A asetiltransferaz) iki molekül asetil-CoA'yı asetoasetil-CoA'ya dönüştürmektedir. Daha sonra asetoasetil-CoA'dan HMG-CoA sentaz enzimi ile HMG-CoA üretilmektedir. Son olarak, HMG-CoA liaz enzimi ile HMG-CoA asetoasetata dönüştürülmektedir, bu da aseton içinde dekarboksile edilebilir veya β-hidroksibütirat haline dönüştürülebilir. Düşük karbonhidratlı ve ketojenik diyette aseton daha az bulunan KC iken, hidroksibütirat başlıca enerji kaynağı olan KC'dir [66].

Beyinde, nöron hücrelerinin mitokondrileri asetoasetik asidi ve β-hidroksibütirik asidi oksitleyerek asetil-CoA üretmekte ve bu şekilde Krebs döngüsü aracılığıyla ATP üretimini desteklemektedir. Bu süreç, nöronal hücreler glukoneogenezi gerçekleştiremediği için glukoz eksikliği durumunda esastır. Keton cisimcikleri ATP üretmek için doğrudan Krebs döngüsüne girebilirken, glukozun ilk önce glikoliz yoluyla metabolize edilmesi gerekir. Bu nedenle BB ve AH'da KC önemli bir rol oynamaktadır. Çünkü BB ve AH'da, kan beyin bariyerinde (KBB) bazı membran taşıyıcılarının özellikle glikoz taşıyıcılarının ekspresyonu azalmaktadır [75].

Ketojenik diyetin nöroprotektif etki mekanizmaları

Bilişsel bozukluk ve AH'da, KBB'inin bozulması glukoz taşıyıcı proteinlerin aşağı regülasyonuna yol açmaktadır. Beynin birincil enerji kaynağı olan glukozu, nöronların sentezleyememesi veya depolayamaması nedeniyle kandan alınması ve spesifik glikoz taşıyıcıları (GLUT1) tarafından KBB boyunca taşınması gerekmektedir. BB ve AH'da, bu nedenle beyinde glukoz kullanılamamaktadır ve bu durum beyinde hipometabolizmaya neden olmaktadır [75]. Glukoz metabolizmasındaki bozulma, mitokondriyal fonksiyon ve solunum zinciri işlevlerindeki defektler, Amiloid Prekürsör Protein (APP) üretimine ve nörotoksik amiloid ß birikimine neden olmaktadır [76]. Bununla birlikte, AH'da KBB'de

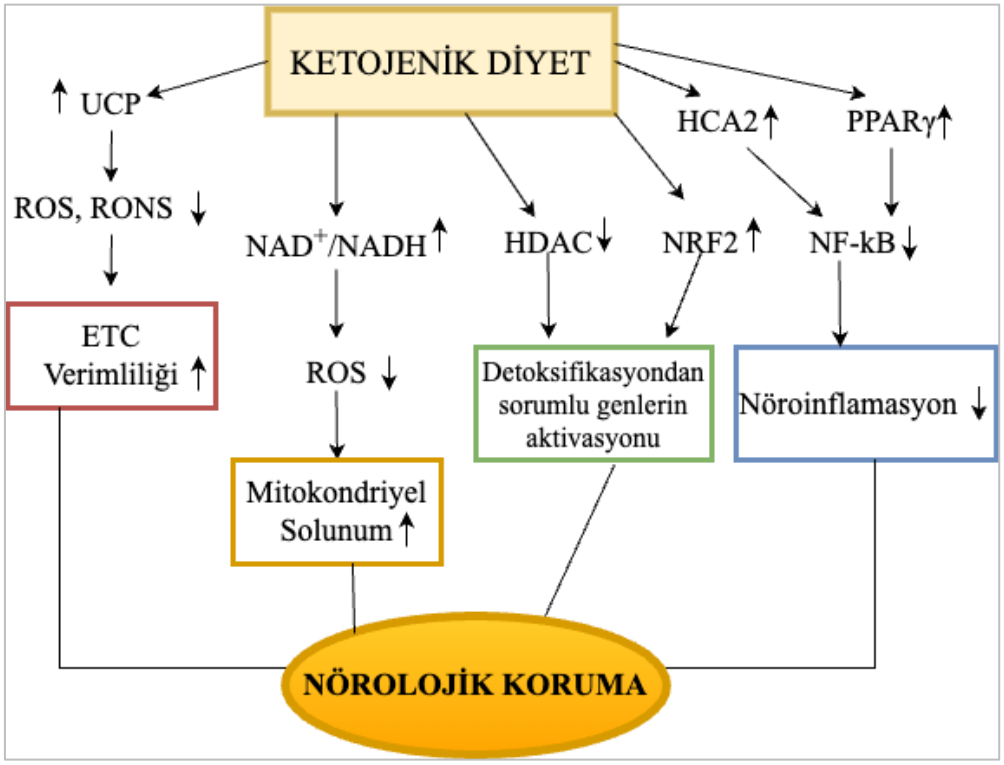
KC taşıyıcı proteinlerin regülasyonunda herhangi bir değişiklik olmamakta, glukoz taşıyıcılarının ekspresyonunda azalma olduğunda KC'ler KBB'yi geçme yetenekleri nedeniyle beyin için glukoza alternatif enerji kaynağı haline gelmektedir. Bu nedenle KD, beyin için alternatif metabolik substrat olarak keton sağlayarak bozulmuş glukoz metabolizmasının nörotoksik etkilerini azaltmaktadır [77].

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve oksidatif stres nörodejenerasyonun temel nedenleri olarak gösterilmektedir. Ketojenik diyetin ana nöroprotektif aktivitesi ise, mitokondriyal fonksiyonun iyileştirilmesi ve oksidatif stresin azalması ile ilişkilendirilmektedir [75]. Oksidatif stres ve kronik inflamasyon, hafıza ve bilişsel süreçlerden sorumlu beyin bölgelerinde nöronal kayba neden olduğu için, OBB ve AH'ın gelişimi ve ilerlemesinin altında yatan en önemli nörotoksik mekanizmalardır [78]. Antiinflamatuar ve antioksidan etkilerinden dolayı nörokoruyucu etki gösteren KC'lerden KD uygulaması ile kanda görülen başlıcası hidroksibütirattır. Endotel hücreleri özellikle hidroksibütirat taşıyıcılarını (MCT1) ekspresse ettiği için kan beyin bariyerini geçebilme yeteneğine sahiptir. Ancak, beyne ulaştığında, hidroksibütirat sadece beyin için enerji kaynağı olmanın yanı sıra; hidroksikarboksilik asit reseptörü 2'yi (HCA2) etkinleştirir ve Nükleer Faktör Kappa B (NF-kB) aktivasyonunu inhibe ederek nöroinflamasyonu azaltır [79, 80].

Ketojenik diyetin BB'da etkili olmasında rol oynayan bir başka mekanizma ise, kromatin yapısını ve erişilebilirliğini değiştirmede rol oynayan histon deasetilazların (HDAC) inhibisyonudur [21]. Beta-hidroksibütirat, in vitro olarak HDAC'leri 1, 3 ve 4'ü (sınıf I ve IIa) inhibe ederek, katalaz, mitokondriyel süperoksit dismutaz ve melatonin 2 detoksifikasyondan sorumlu genlerin aktivasyonuna aracılık etmektedir. Böylece bilişsel fonksiyonun ve sinaptik plastisitenin iyileşmesini sağlamaktadır [81]. Ayrıca KD, nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2 (NRF2) ile hücresel endojen antioksidan sistemini ve böylece detoksifikasyon genlerini aktive etmektedir. NRF2, endojen antioksidan maddelerin aktif formunun yenilenmesinden sorumlu temel enzimler olan glutatyon redüktaz, peroksiredoxin ve tioredoksinin aktifleşmesini ve böylece oksidatif strese karşı nörokoruma sağlayan antioksidan bir protein olan heme oksijenaz-1 (HO-1) ekspresyonunu sağlamaktadır [82].

Ayrıca, mitokondriyal solunum zincirinde nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) oksidasyonunu artırarak ve mitokondriyal geçirgenlik geçişini inhibe ederek KC'ler mitokondriyal fonksiyonu iyileştirmektedir. Ketojenik diyet ile NAD+/NADH oranının

artırılması, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı korunmayı sağlayarak mitokondriyal biyogenezin ve mitokondriyal solunumu teşvik etmektedir. Bu durum, sinir hücreleri arasındaki iletişim için stabil bir işleyişi desteklemektedir [83]. Keton cisimcikleri, uncoupling protein (UCP) ifadesini artırarak elektron taşıma zincirinin (ETC) verimliliğini iyileştirmekte, mitokondriyal membran üzerindeki elektrik yükü azalarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif oksijen nitrojen türlerinin (RONS) üretimi azalmaktadır. Böylece KD mitokondriyal fonksiyonu artırarak hücreleri oksidatif hasara karşı korumakta ve nöroprotektif etki göstermektedir [84] (Şekil 2.5)



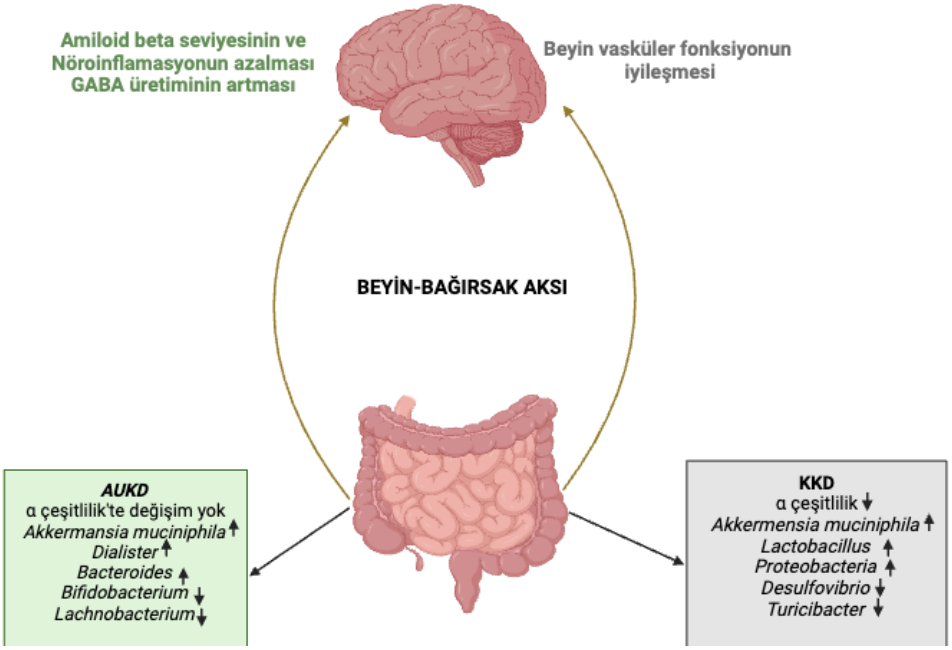
UCP: Uncoupling protein, ROS: Reaktif Oksijen Türleri, RONS: Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri, ETC: Elektron Transfer Zinciri, NAD^+: Nikotinamid adenin dinükleotid, HDAC: Histon deasetilaz, NRF2: nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2, HCA2: hidroksikarboksilik asit reseptörü 2,
NF-kB:Nükleer Faktör Kappa B, PPARγ: peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptörgamma

Şekil 2.5. Ketojenik diyetin nörolojik korumadaki etkileri [Kaynaklardan derlenerek yazar tarafından çizilmiştir]

Ketojenik diyetin mikrobiyata üzerine etkileri

Bağırsak mikrobiyatası üzerinde KD'nin etkileri hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve çalışma metodolojileri, uygulanan KD çeşidi ve müdahale süresindeki farklılıklar nedeniyle sonuçlar çelişkilidir [14, 85]. Ayrıca diyette kullanılan yağ türü de klinik sonuçlar açısından önem taşımaktadır [86]. Sınırlı sayıda çalışmada, bağırsak

mikroorganizmaları için temel enerji kaynağı olan kompleks karbonhidrat içeriğinin düşük olması nedeniyle KD müdahalesinin alfa (α) çeşitliliği azalttığı veya değişim olmadığı gösterilmiştir [11, 14, 87]. Ancak metabolik sağlık ve özellikle bilişsel fonksiyonla ilgili belirli taksonların ve mikrobiyal metabolitlerin artmasını sağlayarak spesifik hastalık durumlarında KD'nin olumlu etkiler gösterebileceği belirtilmiştir [11, 88]. Şekil 2.6'da KKD ve AUKD'nin bağırsak mikrobiyata modülasyonu aracılığıyla bilişsel bozukluk ile ilişkisi gösterilmiştir.



AUKD: Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet; KKD: Klasik Ketojenik Diyet; GABA: Gamma aminobütirik asit

Şekil 2.6. KKD ve AUKD'nin bağırsak mikrobiyata modülasyonu aracılığıyla bilişsel bozukluk ile ilişkisi [Kaynaklardan derlenerek yazar tarafından çizilmiştir]

Ang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, KD müdahalesinin *Bifidobacterium* bolluğunu azalttığı ancak KD ile ilişkilendirilen bağırsak mikrobiyota değişiminin T yardımcı hücresi 17 (Th17) aktivasyonunu azaltarak anti-inflamatuar bir etki gösterdiği saptanmıştır [88]. Olson ve arkadaşları tarafından farelerde yapılan bir çalışmada ise, KD'nin α çeşitliliğini azalttığı, ancak *Akkermansia muciniphila* gibi KZYA üretiminden sorumlu olan belirli taksonları artırdığını saptamışlardır [87]. Yapılan bir çalışmada 16 haftalık KD müdahalesi ile antiinflamatuar bağırsak mikrobiyota taksonlarının (*Akkermansia muciniphila ve Lactobacillus*) nispi bolluğunun arttığı, proinflamatuar taksonların (*Desulfovibrio ve Turicibacter*) bolluğunun azaldığı, α çeşitliliğin azaldığı belirlenmiştir. *Akkermansia muciniphila* ve *Lactobacillus*, KZYA üreten bağırsak bakteri

türleri olarak bilinmektedir. *Desulfovibrio*, hidrojen sülfür üreterek bağırsak mukozal bariyerini bozmaktadır. *Desulfovibrio* bolluğunda azalma, *Akkermansia muciniphila* ve *Lactobacillus* bolluğunda artış ile KBB ve nörovasküler fonksiyonda iyileşme sağlandığı gösterilmiştir [11].

Sebze ve meyve, tam tahıllar ve kurubaklagillerin tüketimi için biraz daha yüksek karbonhidrat alımına olanak sağlayan AUKD, bağırsak mikrobiyata modülasyonu aracılığıyla OBB ve AH'da yeni bir diyet yaklaşımı olarak öne sürülmüştür. 6 haftalık AUKD müdahalesi ile α çeşitliliğin değişmediği ancak *Akkermansia muciniphila, Dialister, Bacteroides* bolluğunun arttığı, *Bifidobacterium, Lachnobacterium* bolluğunun ise azaldığı gösterilmiştir [14]. Yapılan başka bir çalışmada ise AUKD müdahalesi ile metabolik sağlıkla ilişkilendirilen fekal laktat ve asetat seviyelerinin düştüğü, fekal propiyonat ve bütirat seviyelerinin ise arttığı saptanmıştır [43].

Diğer taraftan yüksek yağlı diyetin bağırsak mikrobiyota disbiyozu ile bariyer fonksiyonunu bozarak geçirgenliği artırması nedeniyle KD'lerin bağırsak bariyer fonksiyonu üzerine etkisi önemli bir konudur. Çalışmalarda bir ile on beş hafta arasında değişen sürelerde yüksek yağlı diyete maruziyet ile bağırsak bariyer fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir [89, 90]. Ancak KD, metabolik etkileri açısından yüksek yağlı diyetten farklı bir beslenme yaklaşımıdır. KD'nin anti-inflamatuar KC'nden biri olan ve bağırsak hücreleri tarafından enerji kaynağı olarak kullanılan β-Hidroksibutirik asit seviyesini artırması [91], ayrıca bağırsak mikrobiyota modülasyonu aracılığıyla bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkileri olabileceği belirtilmiştir [11, 88]. Bunun yanı sıra, KD'nin epilepsi üzerindeki tedavi edici etkisinin de bağırsak mikrobiyotası etkileri aracılığıyla olabileceği düşünülmektedir [87]. Yapılan bir çalışmada AUKD müdahalesinin bağırsak geçirgenliğini düzenleyerek LPS difüzyonunu sınırlandırdığı gösterilmiştir [14]. Başka bir çalışmada ise sağlıklı erkek C57BL/6J fareleri ile yapılan bir çalışmada, süt yağından elde edilen doymuş yağ asitleri (DYA-KD) veya sebze kaynaklarından elde edilen çoklu doymamış linoleik asit (LA-KD) açısından zengin olan KD müdahalesinin bağırsak geçirgenliği ve inflamatuar sitokinler üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Yağ çeşidi fark etmeksizin KD grupları ve kontrol grubu arasında bağırsak geçirgenliği açısından fark görülmemiştir. Ayrıca DYA-KD ve LA-KD gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek plazma LPS seviyesi saptanmamıştır. Böylece KD'in plazma LPS üzerine etkisinin doymuş yağ asidi bakımından yüksek yağlı diyet ile benzer olmadığı belirtilmiştir [92].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (GÜ-HADYEK) tarafından 02.02.2023 tarihli toplantıda E.579070 karar numarası ile onaylanmıştır (EK-1). Araştırmanın tüm aşamaları GÜ-HADYEK yönergesine uygun şekilde yürütülmüştür. Araştırmanın bütçesi Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından sağlanmıştır (Proje kodu: TDK-2023-8505).

3.1. Hayvanların Seçimi, Temini ve Bakımı

Çalışmada 28 adet 8 haftalık Wistar albino türü erkek rat kullanılmıştır. Ratlar, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilmiştir. Çalışma, Bilişsel Bozukluk (BB) oluşturulmuş erkek Wistar türü albino rat ile yürütülmüştür. Kullanılması planlanan denek sayısını belirlemek için güç analizi yapılmış (α=0,05 ve β=%95) ve grup başına en az 6 hayvan olmak üzere toplam 28 hayvan çalışmaya dâhil edilmiştir [11]. Çalışmaya başlamadan bir hafta önce ratlar bireysel kafeslere alınmış ve alışma periyodu uygulanmıştır. Yem ve su ad libitum olarak sağlanmış ve standart bakım koşulları oluşturulmuştur. Ratlar için uygun olan oda sıcaklığı (22±2°C) ve nemi (%45-50) kontrol altında tutulmuştur. Ratlar nokturnal hayvanlardır. Bu yüzden 12 saat karanlık 12 saat aydınlık siklusu uygulanmıştır. Günlük besin gereksinmesi (10-20 g/gün, Ad libitum) ve su (50-90 ml/kg/gün taze çeşme suyu) uygun şeklinde verilmiştir. Alışma periyodunun bitiminde ratlar randomize olarak 4 gruba ayrılmış ve çalışma için başlangıç ağırlıkları 0.1 g'a duyarlı hassas terazi ile ölçülmüştür. Çalışma süresince hayvanlara ad libitum olarak yem ve su sağlanmış ve hayvanların vücut ağırlıkları ile yem tüketimleri 10 hafta boyunca haftalık olarak tartılarak kaydedilmiştir. Ratların bakımı, bizzat araştırmacı ve GÜDAM'daki uzmanlar tarafından yapılmıştır.

3.2. Araştırma Genel Planı

Toplam 10 hafta süren bu çalışmada ratlar 4 gruba ayrılmıştır.

1.grup: Kontrol grubu (KN) : Standart Diyet ve Distile su alanlar (n=6)

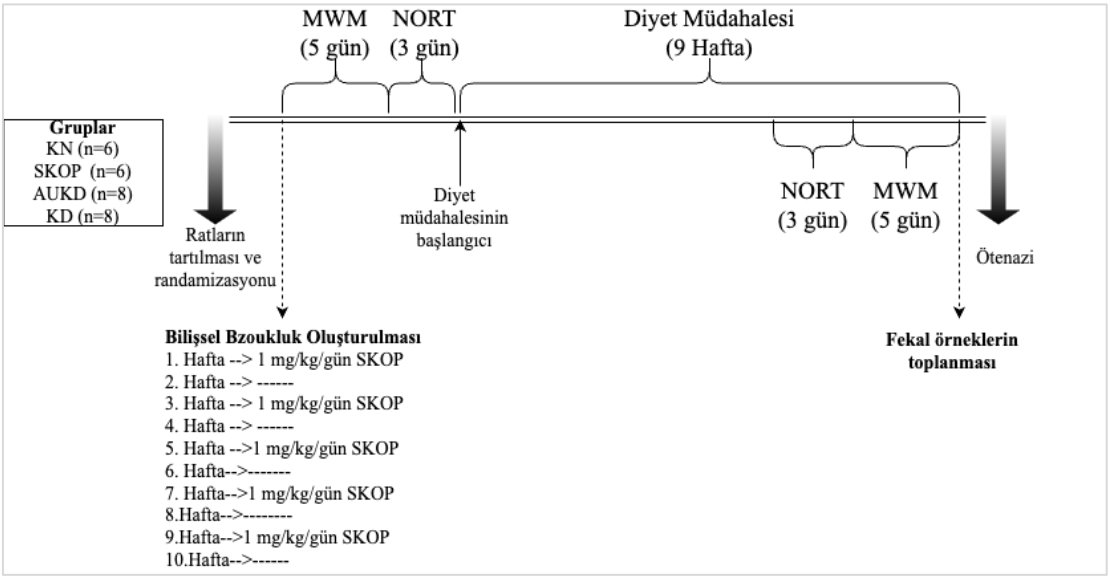
2. grup: Skopolamin Grubu (SKOP): Standart Diyet ve skopolamin uygulaması (n=6),

3. grup: Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet Grubu (AUKD): AUKD ve skopolamin uygulaması (n=8),

4. Grup: Klasik Ketojenik Diyet Grubu (KD) : KD ve skopolamin uygulaması (n=8)
Çalışma başlangıcında, kontrol grubu (n=6) hariç tüm ratlarda skopolamin ile BB oluşturulmuş, BB doğrulaması için Yeni Nesne Tanıma bilişsel fonksiyon testleri (NORT) ve Morris Su Labirent (MWM) testleri (Morris Su Labirent testi ve Morris Su Labirent Pekiştirme Testi) uygulanmıştır.

Çalışma süresince bilişsel bozukluğun sürdürülmesi için aralıklı olarak skopolamin uygulaması yapılmıştır. BB oluşturulan ratlara 9 hafta boyunca AUKD veya KD müdahalesi yapılmış, çalışma sonunda NORT ve MWM testleri tekrarlanmış ve fekal örnekleri alınmıştır. Çalışma süresince hayvanlara ad libitum olarak yem ve su sağlanmış ve hayvanların vücut ağırlıkları ile yem tüketimleri 10 hafta boyunca haftalık olarak 0.1 g'a duyarlı hassas terazi ile tartılarak kaydedilmiştir. Diyet müdahalesi sonunda ötenazi yapılarak beyin ağırlıkları ölçülmüştür.

Araştırma genel planı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



MWM: Morris Su Testi, NORT: Yeni Nesne Tanıma Testi

Şekil 3.1. Araştırma Planı

3.3. Bilişsel Bozukluk Oluşturulması ve Davranış Testlerinin Yapılması

Çalışma başlangıcında, kontrol grubu hariç tüm ratlarda bilişsel bozukluk oluşturulmuştur. Skopolamin, deney hayvanlarında yaşa ve demansa bağlı bilişsel bozuklukları indüklemek için kullanılan antikolinerjik bir ajandır [93] . Skopolamin, muskarinik ACh reseptörlerinin

bir inhibitörü olarak, oksidatif stresi indükleyerek hipokampal hacmi azaltmaktadır ve kolinerjik nöronal regülasyonun bozulmasına neden olmaktadır [94]. Ayrıca, skopolamin, hafıza süreçlerinde kritik bir rol oynayan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)/tirozin kinaz (TrkB) sinyal yolunun ifadesini de azaltmaktadır [95]. Böylece skopolamin ile indüklenen bilişsel bozukluğun öğrenme ve bellek üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir [94].

Bilişsel bozukluğu oluşturmak için skopolamin uygulaması intraperitoneal olarak (1 mg/kg) yapılmıştır. Skopolamin enjeksiyonundan sonra modeli doğrulamak için Morris Su Labirent ve Yeni Nesne Tanıma bilişsel fonksiyon testleri uygulanmıştır. Literatür, tekrarlanan dozlarda 7 gün boyunca skopolamin verildiği takdirde, son skopolamin enjeksiyonunu takip eden hafıza bozukluğunun 7 gün boyunca devam ettiğini göstermektedir [96, 97]. Bu nedenle, çalışma tasarımımıza göre bilişsel bozukluğu 9 hafta boyunca sürdürmek için aralıklı olarak skopolamin uygulaması yapılmıştır.

Skopolamin enjeksiyonu ile bilişsel bozukluk oluşturulduktan sonra modeli doğrulamak için MWM ve NORT bilişsel fonksiyon testleri uygulanmıştır. Mekansal hafıza ve öğrenme davranışının değerlendirilmesi için MWM, görsel tanıma belleğinin değerlendirilmesi için NORT prosedürlerine uygun şekilde yapılmıştır. Tüm davranış testleri GÜDAM'da bizzat araştırmacı tarafından izlenmiş ve gerçekleştirilmiştir (Resim 3.1).



Resim 3.1. Morris Su Testine ait görseller

Morris Su Labirent (MWM) testi:
Morris Su Labirent testi ratlara müdahale öncesi 5 gün ve 59- 63. (Müdahalenin son 5 günü) günleri arasında uygulanmıştır. Ortalama 60 cm yüksekliğinde, 150 cm çapında, 23±1 °C'de su ile 25 cm derinliğe kadar dolu olan büyük dairesel siyah bir havuzdan oluşur. Su tankı (havuzu), birbirini havuzun ortasında dik olarak kesen hayali çizgilerle dört eşit kadrana

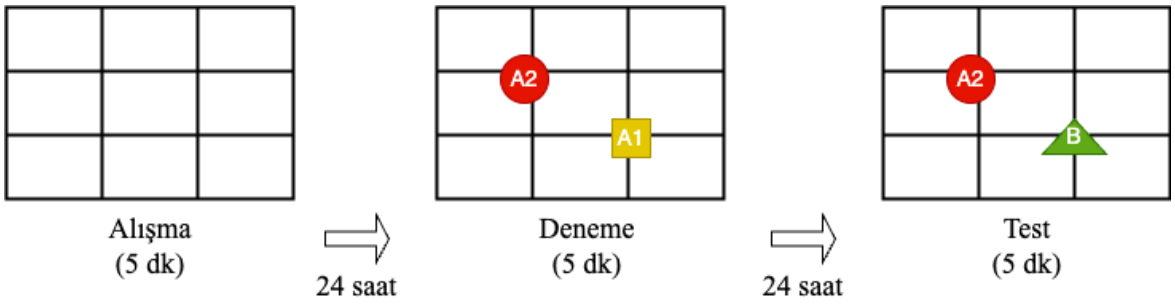
ayrılır [(Kuzey), (Doğu), (Güney) ve (Batı)]. On bir cm çapındaki pleksiglas platform, yüzme havuzunda NE kadranının ortasında sabit bir pozisyonda sıçanlar kolayca üzerine tırmanıp sudan kaçabilsin diye su yüzeyinin 1 cm altına yerleştirilir. Havuz içerisindeki su altı platformunun yerini gizlemek için, suya bir miktar toksik ve alerjik olmayan ve suda çözünebilen siyah boya eklenerek beyaz sıçanlar ile su arasında bir kontrast elde edilmesi sağlanır. Bu kontrast yardımıyla sıçanların hareketleri video sistemi ile kaydedilebilir. Her bir sıçan için deneme süresi 60 sn ve sıçanın platformu bulamaması durumunda platformda ilave kalma süresi 15 sn alınır. Her bir grup için test 30 dk aralıklar ile tekrarlanır [98]. Sıçanlar, günde 4 defa 4 gün boyunca eğitilmiştir. Platform konumu sabit olmak koşulu ile başlangıçta hayvanın bırakılacağı konum her denemede rastgele olarak değiştirilerek sıçanların saklı platformu bulması için gerekli kaçış zamanları belirlenmiştir. Eğer sıçan 60 sn içerisinde sudan kurtulamıyorsa, (platformu bulamıyorsa), platforma manuel olarak araştırmacı tarafından yerleştirilmiştir. Sudan kurtulan veya kurtulamayan sıçanlar 15 sn platform üzerinde tutularak diğer denemeye kadar havuzdan uzaklaştırılır. Sıçanların performansı, platforma ulaşmak için gerekli zaman (kaçış dönemi), platforma yüzme mesafesi, yüzme hızı, her kadranda geçirdiği süre ve mesafe ölçülecek ve video kamera sistemi ile kaydedilmiştir [99]. Deneyler, hep aynı saatler arasında (13:30-17:30) gerçekleştirilmiştir. Deney sonunda ratlar son yüzme seansından sonra, kafeslerine bırakılmadan önce altlarına kâğıt havlu yerleştirilerek elektrikli ısıtıcı karşısında hızlıca kurutularak kendi kafeslerine bırakılmıştır.

Ratların kazanılan bilgiyi hatırlama ve pekiştirmesini test etmek amacıyla MWM'yi takiben 5. günde Morris Su Labirent Pekiştirme Testi uygulanmıştır. Bu testte platform havuzdan uzaklaştırılıp, sıçanlar yüzleri havuz duvarına bakacak şekilde suya bırakılmış ve sıçanların platformun bulunduğu kadrandaki vakit geçirme süreleri ölçülmüştür [100].

Yeni nesne tanıma testi (NORT):

Ratlarda, hem hafıza süreci hem de mekânsal algının test edilmesi amacıyla [101] diyet müdahalesi öncesi 3 gün ve diyet müdahalesi sonunda 3 gün şeklinde yapılmıştır.

Yeni Nesne Tanıma Testi:



$$\text{Ayırt Edicilik İndeksi} = \frac{\text{Yeni Nesne ile Geçirilen Süre (B)} - \text{Eski Nesne ile Geçirilen Süre (A2)}}{\text{Yeni Nesne ile Geçirilen Süre (B)} + \text{Eski Nesne ile Geçirilen Süre (A2)}}$$

Şekil 3.2. Yeni nesne tanıma testi prosedürü

Deney, rata daha önce tanıtılan bir objenin daha sonra değiştirilmesi ile gerçekleştirilir. Genellikle yuvarlak bir açık alan içerisinde konulan bir nesnenin hem kendi hem de konumu değiştirilerek gerçekleştirilir. Bu şekilde hem hafıza süreci hem de mekânsal algı test edilmiş olur [101]. Öncelikle test odası ses geçirmeyecek ve çok iyi aydınlatılmış olacak şekilde tasarlanır. Test alanı 80x80x30cm^3 büyüklüğünde bir alandır. Bu alanın tabanı 12 eşit dikdörtgene siyah çizgiler kullanılarak bölünür. Tüm gruplardaki sıçanlar teker teker test alanına alınıp 5 dakika alana alışması sağlanır. İkinci günde ise, deneklerin yanına 2 farklı nesne (A1 ve A2) her tarafını görecek, tanıyacak kadar alan bırakılarak yerleştirilir. Deneklerin nesneleri tanımaları için 5 dakika verilir. Her deneme testinden sonra nesneler %10 etanol ile temizlenir. Yirmi dört saat sonra yeni nesne tanıma testi uygulanır. Nesnelerden biri yeni nesneyle (B) değiştirilir. Deneme testinde yeni nesneyi tanıması için 5 dakika verilir (Resim 3.1). Kümülatif olarak deneğin her bir nesneyi tanıması için harcadığı süre saniye olarak kaydedilir. Tanıma indeks oranı TA2/(TA2+TB) hesaplaması yapılır (TA, A nesnesini tanıma süresi; TB, B yeni nesnesini tanıma süresi). Değerlendirme işlemi tanıma indeks oranı hesaplanarak yapılmaktadır. Tanıma olarak her bir deneğin aynı renk ve sertlikteki nesneyi koklaması, dokunması ve burnundan 1 cm'den kısa mesafeden nesneyi titreştirerek hareket ettirmesi sayılmaktadır [98]. NORT deneyleri, hep aynı saatler arasında (09:30-20:30) gerçekleştirilmiştir. Deney sonunda sıçanlar alandan çıkartılarak, kendi kafeslerine bırakılmıştır.

3.4. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Çalışma süresince ratların vücut ağırlıkları araştırmacı tarafından her hafta cuma günü saat 14:00-16:00 arasında 0.1 g'a duyarlı hassas terazi ile tartılarak kaydedilmiştir.

3.5. Diyet Müdahaleleri ve Besin Tüketimlerinin İzlenmesi

Çalışmada, KN ve SKOP grubuna standart diyet ve distile su ad libitum olarak 9 hafta boyunca günlük besin gereksinmesi (10-20 g/gün, Ad libitum) ve su (50-90 ml/kg/gün taze çeşme suyu) karşılanacak şekilde verilmiştir. KN ve SKOP grubuna GÜDAM'da kullanılan standart pellet yemler verilmiştir. Standart pellet yem % 67,7 karbonhidrat, % 24,6 protein ve %7,7 yağ içeriğine sahiptir. Klasik ketojenik diyet grubuna %16.0 protein, %84 yağ içerikli yem ile diyet müdahalesi yapılmıştır. Literatürden elde edilen bilgiye göre belirlenen makro besin öğesi yüzdeleri (%10 CHO, %60 yağ, %30 protein) baz alınarak yem firmasına Akdeniz diyetine özgü pelletlerin hazırlatılması sağlanmıştır [14]. AUKD'nin yağ kaynakları, toplam yağın %76,29'unun zeytinyağından, %8,55'inin balık yağından, %6,43'ünün palm yağından, %4,78'inin tereyağından ve %3,95'inin keten tohumu yağından sağlanmıştır. Akdeniz Diyetinin bileşenlerinden polifenol ve posa alımını karşılamak için diyete resveratrol (75,8 mg/100g yem) ve inulin (2,27 g/100 g yem) eklemesi yapılmıştır. KD'deki toplam yağın ise %47,63'ü tereyağından, %47,63'ü domuz yağından, %2,36'sı mısır yağından, % 2,36'sı ise ringa yağından karşılanmıştır.

Ratların yem tüketim miktarları, 9 hafta boyunca günlük olarak saat 16:00-17:00 arasında araştırmacı tarafından 0.1 g hassasiyete sahip bir terazi ile ölçülerek kaydedilmiştir. Yem takibi, her gün bir önceki günden kalan yem miktarının tartılması ve ardından yeni eklenen yem miktarının kaydedilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Diyetlerin besin öğesi örüntüsü Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan yem türlerinin içerikleri

	Diyet Müdahale Grupları		
	KN-SKOP	**AUKD**	**KD**
Enerji (kkal/g)	3,80	5,99	7,5
Karbonhidrat(%enerji)	67,7	10	0
Protein(%enerji)	24,6	30	16
Yağ (%enerji)	7,7	60	84
Karbonhidrat kaynağı (g/100 g yem)			
Buğday nişastası	29,53	12,06	0
Şeker	4,20	2,33	0
Selüloz	4,87	6,85	6,15
İnulin	0	2,27	2,05
Yağ kaynağı (g/100 g yem)			
Mısır yağı	1,62	0	1,31
Bypass yağı	1,62	0	0
Ringa yağı	0	2,79	1,31
Palm yağı	0	2,10	0
Tereyağı	0	1,56	26,41
Domuz yağı	0	0	26,41
Keten tohumu yağı	0	1,29	0
Zeytinyağı	0	24,91	0
Protein kaynağı (g/100 g yem)			
Sığır eti proteini	0	26,06	0
Kazein	18,95	18,52	26,24
Yumurta akı	0	3,78	0
Balık protein izolatı	0	11,36	0
L-Sistein	0,28	0,50	0,49
Resveratrol(mg/100g yem)	0	75,8	0

KN-SKOP: Standart kemirgen yemi, AUKD: Akdeniz uyumlu ketojenik diyet, KD: Klasik Ketojenik diyet

3.6. Fekal Örneklerin Alınması

Çalışmada 9 haftalık diyet müdahalesi sonrası; fekal örnekleri alınmıştır. Deney hayvanlarından taze dışkı örnekleri, diyet müdahalesinin sonunda dezenfekte edilmiş tüplere toplanıp derhal sıvı azot içerisinde dondurularak analizin gününe kadar −80°C'de saklanmıştır.

3.7. Anestezi, Doku Alma ve Ötenazi

Diyet müdahalesi sonunda davranış testleri prosedürünün tamamlanmasının ardından GÜDAM Laboratuvarı'nda ratlar intraperitoneal ketamin (75 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) ile anestezi altındayken ötenazi işlemi yapılmıştır. Daha sonra beyin ve karaciğerleri hızla

çıkarılarak diseksiyon işlemi yapılmıştır. Ratların beyin ve karaciğer dokuları 0,1 g hassasiyetle tartılarak ölçülmüş ve -80°C'de saklanmıştır.

3.8. Fekal Örneklerden Mikrobiyata Analizi

Bağırsak mikrobiyotası analizleri "Diagen Biyoteknolojik Sistemler Sağlık Hizmetleri ve Otomasyonu San. Tic. A.Ş." tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. Fekal örneklerden DNA izolasyonu

Dışkı numunelerinden DNA izolasyonu DiaRex® Stool Genomic DNA Extraction Kit (Kat No: SD-0323, Ankara) kullanılarak yapılmıştır. 25-50 mg dışkı numunesi üzerine 250µl Stool Lysis (SLD) solüsyonu eklenmiştir. Ardından üzerine 15 mg cam ve 10 adet zirkon boncuk eklenerek homojenizatör cihazında 4000 rpm 2 x 20 saniye uygulama yapılmıştır. Homojenizasyondan sonra üzerine 25µl Proteinaz K (PKD) solüsyonu eklenmiştir ve 56ºC' de 60 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda tüm içerik 5000 g' de 5 dakika santrifüj yapılarak süpernatant yeni tüpe aktarılmıştır. Süpernatant üzerine 200µl Lysis (LBD) solüsyonu eklenmiştir ve 70ºC' de 10 dakika inkübasyon yapılmıştır. İnkübasyonun ardından lizata 250 µl mutlak etanol eklenmiş ve tüm içerik kolona aktarılmıştır. Kolon 8000 g x 1 dakika santrifüj yapıldıktan sonra yeni tüpe aktarılmıştır. Ardından kit protokolüne göre yıkamalar yapıldıktan sonra 100µl Elüsyon (EBD) solüsyonu eklenmiştir ve 2 dakika inkübasyondan sonra 8000 g x 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edilmiştir.

3.8.2. 16S amplikon sıralaması

Ekstrakte edilen DNA, 16S V3-V4 primer setleri ile amplifiye edilmiştir. Kütüphane hazırlığı, Nextera XT DNA kütüphane hazırlama kiti ve indeksler (Illumina) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üreticinin protokolü (AMPure XP, Beckman Coulter) izlenerek belirli boyut seçimi ile temizlenen havuzlanmış kütüphaneler uygulanmıştır. Kütüphane hazırlığının ardından, dizileme işlemi MiSeq (Illumina) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.8.3. Bioinformatik analizler

Çift yönlü (2x250) Illimuna okumaları qiime2 sisteminde yüklenmiştir. Ilk olarak bütün numunelerin birbirine yakın 100X derinlik üzerinde oluduğu tespit edilmiştir ve bu aşamada hiçbir numune çalışma dışı bırakılmamıştır [102]. Kalite temizlemesi, kimera deteksiyonu qiime2 üzerinde DADA2 algoritması (via q2-dada2) kullanılarak gerçekleştirilmiştir [103]. Kalite skoru çoğunlukla 30'un altında olan kısımlar dışarıda bırakılarak ASV'ler (Amplicon Sequence Variants) oluşturulmuştur [104]. Elde edilen ASV'ler Silva 138 (https://www.arb-silva.de/documentation/release-138/) veritabanı ile haritalanarak taksonomik tablolar oluşturulmuştur [105]. Veri görselleştirme ve bioistatiksel analizler için qiime2 ile oluşturulan dosyalar R 4.1 programlama dili R studio kullanılarak işleme alınmıştır [106, 107]. Alfa (α) çeşitlilik, Beta çeşitlilik analizleri ile birlikte grup içi ve gruplar arası temel farklılıklar tespit edilmiştir [108, 109]. Gruplar arası p değerleri Kruskal-Wallis testi ile hesaplanmıştır [110]. Taxonomik olarak gruplar arasında farklı yoğunluklar DeSeq2 paketi kullanılarak tespit edildi [111]. LEfSe analizi ile gruplar arasındaki en temel farklılıklar LDA skoru 2'den fazla olacak şekilde tespit edilmiştir [112].

3.9. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen verilerin analizi ve görselleştirilmesinde R 4.1 programlama dili R studio kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi kullanılarak incelenmiştir. Veriler ortalama ($\bar{X}$) ve standart sapma (SS) veya median ve alt-üst değerler olarak ifade edilmiştir. Ratların ortalama vücut ağırlığı, haftalık ağırlık kazanımına, günlük ortalama besin tüketimi, enerji ve makro besin öğesi alımlarına ilişkin verilerin analizinde Tekrarlı Ölçümlerde İki Yönlü Varyans Analizi (Repeated Measures Two-way ANOVA) kullanılmıştır. Bu analizlerde Deney Grupları (D) (KN, SKOP, AUKD, KD) gruplar arası faktörü (Between-Subject Factor), Zaman (Z) (Ölçümlerin yapıldığı haftalar) ise grup içi faktörü (Within-Subject Factor) oluşturmuştur. Gruplar arasındaki çoklu karşılaştırmalarda uygun post-hoc testleri (Bonferroni, Tukey HSD ve Dunnett's C) kullanılmıştır.

Davranış testlerine ilişkin veriler, Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) veya Kruskall Wallis testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Karşılaştırmalarda anlamlı fark çıkan değişkenlerin çoklu karşılaştırmaları için uygun post-hoc testleri (Bonferroni, Tukey HSD ve Dunnett's C) kullanılmıştır. Yeni nesne tanıma testinde deney gruplarının eski nesne ve

yeni nesne ile geçirdikleri sürenin karşılaştırılmasında ise Eşleştirilmiş Student’s t-testinden yararlanılmıştır. Tüm analizlerde $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkinin saptanması için uygun korelasyon analizleri Spearman/Pearson ile yapılmıştır. Sonuçlar %95’lik güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı, Ağırlık Kazanımı ve Beyin Ağırlığına İlişkin Bulgular

Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi çalışma başlangıcında ve 9 haftalık diyet müdahalesi sonundaki ortalama vücut ağırlıklarının karşılaştırılması Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çalışma başlangıcındaki ortalama vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, KN ve SKOP grupları ve AUKD ve KD gruplarının başlangıç vücut ağırlıklarının benzer olduğu görülmüştür. Çalışma sonunda ise vücut ağırlığı ortalamalarının AUKD>KD>KN>SKOP şeklinde sıralandığı; KN ve SKOP grupları ve AUKD ve KD grupları arasında son vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.1. Deney gruplarının çalışma başlangıcı ve sonundaki ortalama vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

Ölçümler	KN (n=6)	SKOP (n=6)	AUKD (n=8)	KD (n=6)	F	p
Başlangıç vücut ağırlığı(g)	166,83±13,18[a]	165,9±8,25[a]	188,25±20,23[b]	176,0±12,93[b]	34,29	<0,001
Son vücut ağırlığı(g)	238,62±13,78[a]	239,42±15,91[a]	343,73±35,00[b]	329,87±33,43[b]	34,29	<0,001

Verilerin analizinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve ardından Tukey Post-Hoc testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır.

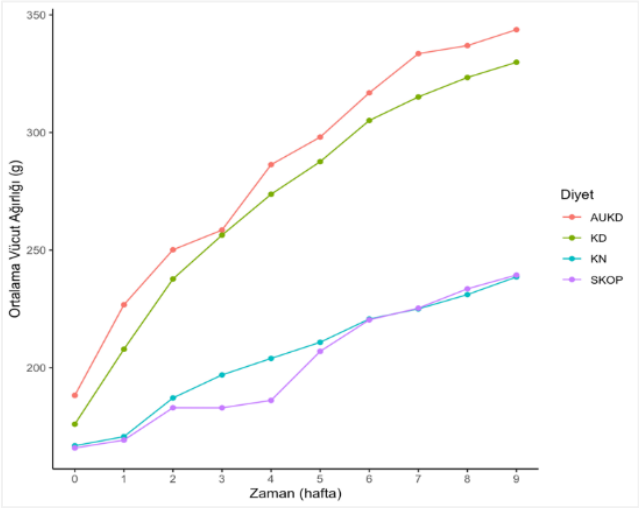
Çizelge 4.2'de çalışma süresince deney gruplarının haftalık ortalama vücut ağırlıkları ve ağırlık kazanımları karşılaştırılmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Ratların günlük ortalama vücut ağırlıklarının deney gruplarına ve zamana göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D, $p<0,001$; Z, $p<0,001$). Ayrıca ortalama vücut ağırlığı için Deney grupları x Zaman etkileşiminin etkisinin de anlamlı olduğu belirlenmiştir (DxZ, $p<0,001$). Ratların ortalama vücut ağırlığının AUKD (283,91±52,01 g) grubunda diğer tüm gruplara göre ve KD (271,29±51,57 g) grubunda ise KN ve SKOP (sırasıyla 205,19±24,74 g ve 201,29±27 g) gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Ratların haftalık ortalama vücut ağırlığı kazanımının ise deney grupları ve zamana göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D, $p=0,001$; Z, $p<0,001$). Haftalık ortalama ağırlık kazanımı için Deney grupları x Zaman etkileşiminin etkisinin de anlamlı olduğu saptanmıştır (DxZ, $p=0,007$). AUKD ve KD grubunun (sırasıyla 17,27±11,26 g/hafta ve 17,10±8,91g/hafta) haftalık ortalama ağırlık kazanımı, KN ve SKOP grubundan (sırasıyla 7,98±3,80 g/hafta ve 8,17±6,62 g/hafta) yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). AUKD ve KD gruplarının ve KN ve

SKOP gruplarının haftalık ağırlık kazanımlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı saptanmıştır ($p<0,05$).

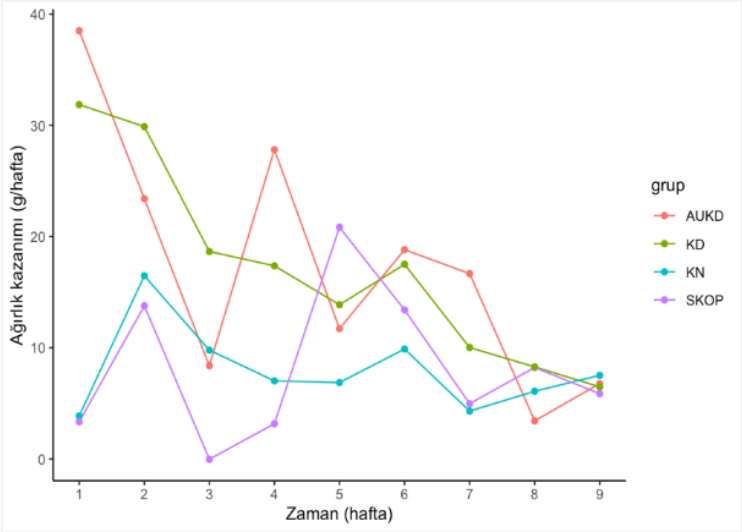
Çizelge 4.2. Deney gruplarının ortalama vücut ağırlıkları ve haftalık ortalama ağırlık kazanımları

	Deney Grupları				**Tekrarlı Ölçümler***		
Ölçümler	**KN (n=6)**	**SKOP (n=6)**	**AUKD (n=8)**	**KD (n=8)**	**D(p)**	**Z(p)**	**DxZ(p)**
Ortalama vücut ağırlığı (g/çalışma süresince)	205,19±24,74[a]	201,29±27,18[a]	283,91±52,01[b]	271,29 ±51,57[c]	<0,001	<0,001	<0,001
Ortalama ağırlık kazanımı (g/ çalışma süresince)	7,98±3,80[a]	8,17±6,62[a]	17,27±11,26[b]	17,10±8,91[b]	0,001	<0,001	0,007

Verilerin analizinde Tekrarlı Ölçümlerde İki Yönlü Varyans Analizi ve ardından Bonferroni Post-Hoc Testi kullanılmıştır. (D: Deney grupları, Z: Zaman, DxZ: Deney grupları x Zaman Etkileşimi). Farklı üs değerine (a, b,c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p<0,05$).



Şekil 4.1. Deney gruplarının ortalama vücut ağırlıkları



Şekil 4.2. Deney gruplarının ortalama vücut ağırlığı kazanımları

Deney gruplarına göre ortalama beyin ağırlıkları ve organ ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı (%VA) Çizelge 4.3'te verilmiştir. KN, SKOP, AUKD ve KD gruplarının beyin ağırlıkları sırasıyla 1,37±0,07, 1,23±0,06, 1,33±0,08 ve 1,37±0,07 olarak belirlenmiştir (F= 3,24; p<0,0001). Beyin ağırlık ortalamasının KN grubunda diğer tüm gruplardan fazla olduğu, AUKD ve KD grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Ratların beyin ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı (%VA) gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05). KN grubunun (0,74±0,06) beyin ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı diğer gruplara (sırasıyla; SKOP: 0,56±0,03, AUKD: 0,60±0,04, KD: 0,62±0,03) göre yüksek bulunmuştur (p<0,05). AUKD ve KD grupları arasında ise istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (p>0,05). Deney gruplarına göre ortalama karaciğer ağırlıkları ve karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı (%VA) Çizelge 4.3'te verilmiştir. AUKD (2,47±0,31) grubunun karaciğer ağırlığı KN (2,95±0,23) ve SKOP (3,08±0,17) gruplarına göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur (p=0,003). Ratların karaciğer ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı (%VA) gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır (p<0,0001). AUKD (0,73±0,14) ve KD (0,83±0,13) gruplarının karaciğer ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı KN (1,24±0,15) ve SKOP (1,29±0,06) gruplarına göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Deney gruplarının ortalama beyin ve karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması

Ölçümler	KN	SKOP	AUKD	KD	F	p
	X̄±SS	X̄±SS	X̄±SS	X̄±SS		
Beyin (g)	1,63±0,12[a]	1,23±0,07[b]	1,33±0,08[bd]	1,37±0,07[cd]	3,24	<0,0001
Beyin (%VA)	0,74±0,06[a]	0,56±0,03[b]	0,60±0,04[bd]	0,62±0,03[cd]	23,26	<0,0001
Karaciğer (g)	2,95±0,23[a]	3,08±0,17[a]	2,47±0,31[b]	2,70±0,35[ab]	6,18	0,003
Karaciğer(%VA)	1,24±0,15[a]	1,29±0,06[a]	0,73±0,14[b]	0,83±0,13[b]	35,86	<0,0001

Verilerin analizinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve ardından Tukey Post-Hoc testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b,c,d) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır.

4.2. Yem Tüketimleri, Enerji ve Besin Ögesi Alımlarına İlişkin Bulgular

Ratların deney gruplarına göre yem tüketimi, enerji ve besin öğesi alımları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Ratların günlük ortalama yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi Şekil 4.3'te verilmiştir. Ratların yem tüketimlerinin deney gruplarına göre istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (D, p<0,001). Zaman ve deney grubu etkileşimine bağlı olarak ise yem tüketim miktarı farklılık göstermemiştir. KN ve SKOP gruplarının ortalama günlük yem tüketimi (sırasıyla; 20,4±2,42, 20,9±6,89 g/gün) AUKD ve KD gruplarının (sırasıyla 14,4±4,35 ve 10,2±2,5 g/gün) yem tüketimlerinden yüksek bulunmuştur (p<0,001). AUKD-KD ve KN-SKOP grupları arasında ise fark bulunmamıştır (Çizelge 4.4). Ratların günlük vücut ağırlığı başına ortalama yem tüketimi değerlendirildiğinde, KN (0,09±0,01) ve SKOP (0,10±0,02) gruplarının yem tüketim miktarının AUKD (0,05±0,02) ve KD (0,03±0,01) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (D, p<0,001, Z, p=0,047). Ayrıca, haftalık ağırlık artışının haftalık yem tüketimine oranı ile hesaplanan yem etkinliği katsayısının, AUKD ve KD gruplarında KN ve SKOP gruplarına kıyasla yüksek olduğu saptanmıştır (D, p<0,001; Z, p=0,001; DXZ, p=0,016).

Ratların günlük ortalama enerji alımlarının haftalara göre değişimi Şekil 4.4'te verilmiştir. Ratların toplam günlük enerji alımlarının deney gruplarına göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D, p=0,037) (Çizelge 4.4). AUKD grubunun günlük enerji alımı (89,6±27,0 kkal/gün) KD grubundan (60,7±1,41kkal/gün) yüksek bulunmuştur (p<0,05). Ratların günlük vücut ağırlığı başına ortalama enerji alımları değerlendirildiğinde, KN (0,37±0,06) ve SKOP (0,39±0,10) gruplarının enerji alımlarının KD (0,22±0,08) grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir (D, p<0,001, Z, p=0,018).

Ratların günlük vücut ağırlığı başına ortalama karbonhidrat alımlarının Deney Grupları ve Deney Grupları x Zaman etkileşiminin etkisine göre istatistiksel olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). KN ve SKOP gruplarının (sırasıyla 13,23±1,57 ve 13,53±4,46) günlük karbonhidrat alımlarının, AUKD ve KD gruplarına (sırasıyla 2,23±0,67 ve 0,05±0,01) kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. AUKD-KD ve KN-SKOP grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Posa alımları incelendiğinde ise, AUKD grubunun (1,24±0,37), KD grubuna (0,78±0,18) göre daha yüksek posa alımına sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Ratların günlük protein alımlarının deney gruplarına göre istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (D, $p<0,001$).KN ve SKOP gruplarının günlük protein alımları istatistiksel olarak farklı değildir. AUKD grubunun ise diğer tüm gruplara göre protein alımının yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Ratların günlük vücut ağırlığı başına ortalama protein alımı incelendiğinde, KD grubunun diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük protein alımına sahip olduğu gözlenmiştir (D, $p<0,001$).

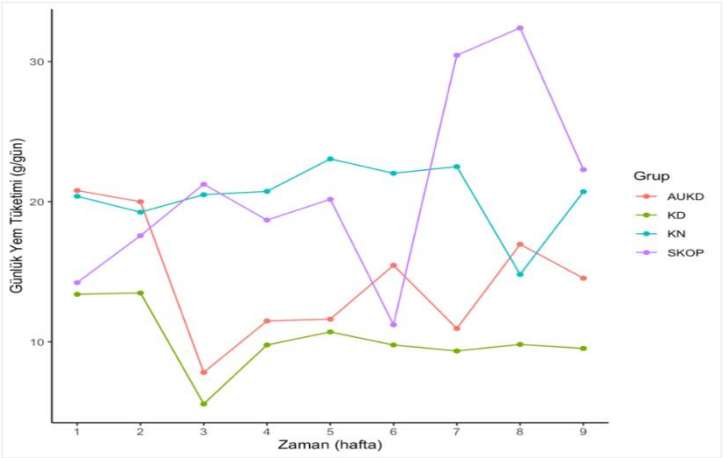
Günlük yağ alımının deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir (D, $p<0,001$). AUKD ve KD gruplarının (sırasıyla 5,98±1,80 ve 5,67±1,31 g/gün), KN ve SKOP gruplarına (sırasıyla 0,66±0,08 ve 0,68±0,22 g/gün) kıyasla daha yüksek yağ alımına sahip olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ratların günlük vücut ağırlığı başına ortalama yağ alımı incelendiğinde de, AUKD ve KD gruplarının, KN ve SKOP gruplarına kıyasla daha yüksek yağ alımına sahip olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Deney gruplarının omega-9, omega-6 ve omega-3 alımları değerlendirildiğinde ise, AUKD grubunun diğer gruplardan daha yüksek omega-9 ve omega-3 alımına sahip olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Ayrıca, AUKD ve KD gruplarının omega-6 alımları birbirine benzerken, KN ve SKOP grupları da benzer seviyelerde omega-6 alımı göstermiştir.

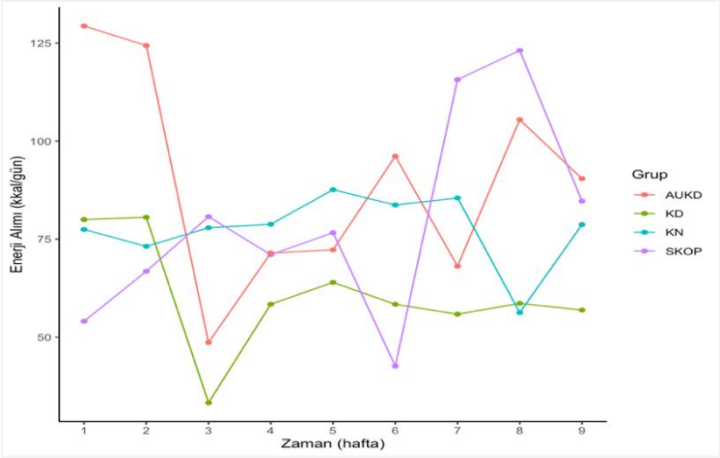
Çizelge 4.4. Ratların gruplara göre yem tüketimi, enerji ve besin öğesi alımları

	Gruplar				Tekrarlı Ölçümler*		
Ölçümler	**KN**	**SKOP**	**AUKD**	**KD**	**D(p)**	**Z(p)**	**DXZ(p)**
Yem tüketimi (g/gün)	20,4±2,42^{a}	20,9±6,89^{a}	14,4±4,35^{b}	10,2±2,5^{b}	<0,001	0,557	0,065
Yem tüketimi (g/VA)	0,09±0,01^{a}	0,10±0,02^{a}	0,05±0,02^{b}	0,03±0,01^{b}	<0,001	0,047	0,133
Yem etkinliği katsayısı	0,39±0,20^{a}	0,45±0,43^{a}	1,21±0,67^{b}	1,71±0,85^{b}	<0,001	0,001	0,016
Enerji(kkal/gün)	77,7±9,2^{ab}	79,5±26,2^{ab}	89,6±27,0^{a}	60,7±1,41^{b}	0,037	0,884	0,132
Enerji (kkal/VA)	0,37±0,06^{a}	0,39±0,10^{a}	0,31±0,13^{ab}	0,22±0,08^{b}	0,001	0,018	0,113
Karbonhidrat(g/gün)	13,23±1,57^{a}	13,53±4,46^{a}	2,23±0,67^{b}	0,05±0,01^{b}	<0,001	0,154	0,038
Karbonhidrat (Enerji%)	67,74±0,00^{a}	67,74±0,00^{a}	9,97±0,00^{b}	0,33±0,00^{c}	<0,001	0,001	<0,001
Karbonhidrat (g/VA)	0,06±0,01^{a}	0,07±0,02^{a}	0,008±0,003^{b}	<0,001±<0,001^{b}	<0,001	0,467	0,119
Posa(g/gün)	1,00±0,12^{ab}	1,02±0,34^{ab}	1,24±0,37^{a}	0,78±0,18^{b}	0,011	0,917	0,147
Posa (g/VA)	0,005±0,0008^{a}	0,004±0,001^{a}	0,004±0,002^{ab}	0,003±0,001^{b}	0,002	0,018	0,110
Protein(g/gün)	4,80±0,57^{a}	4,92±1,62^{a}	6,71±2,03^{b}	2,37±0,55^{c}	<0,001	0,870	0,170
Protein (Enerji%)	24,60±0,00^{a}	24,60±0,00	29,97±0,00^{b}	15,60±0,00^{c}	<0,001	0,310	0,170
Protein (g/VA)	0,02±0,003^{a}	0,02±0,01^{a}	0,02±0,01^{a}	0,008±0,003^{b}	<0,001	0,030	0,09
Yağ(g/gün)	0,66±0,08^{a}	0,68±0,22^{a}	5,98±1,80^{b}	5,67±1,31^{b}	<0,001	0,320	0,630
Yağ (Enerji%)	7,66±0,00^{a}	7,66±0,00^{a}	60,06±0,00^{b}	84,06±0,00^{c}	<0,001	0,630	0,930
Yağ(g/VA)	0,003±0,001^{a}	0,003±0,001^{a}	0,02±0,01^{b}	0,02±0,01^{b}	<0,001	0,004	0,047
n-9(g/gün)	0,09±0,01^{a}	0,11±0,03^{a}	2,47±0,75^{b}	1,65±0,38^{c}	<0,001	0,294	0,750
n-6(g/gün)	0,17±0,02^{a}	0,18±0,06^{a}	0,40±0,12^{b}	0,39±0,09^{b}	<0,001	0,580	0,341
n-3(g/gün)	0^{a}	0^{a}	0,23±0,07^{b}	0,07±0,02^{c}	<0,001	0,385	0,747

Verilerin analizinde Tekrarlı Ölçümlerde İki Yönlü Varyans Analizi ve ardından Bonferroni Post-Hoc Testi kullanılmıştır. (D: Deney grupları, Z: Zaman, DxZ: Deney grupları x Zaman Etkileşimi). Farklı üs değerine (a, b,c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır (p<0,05).



Şekil 4.3. Deney gruplarının haftalara göre günlük ortalama yem tüketimleri



Şekil 4.4. Deney gruplarının haftalara göre günlük ortalama enerji alımları

4.3. Davranış Testlerine İlişkin Bulgular

Çizelge 4.5'te deney gruplarının günlere göre diyet müdahalesi öncesi ve sonrası platforma ulaşma sürelerinin ortalamaları verilmiştir. Diyet müdahalesi öncesi ilk gün KN, SKOP, AUKD ve KD grubu sırasıyla ortalama 49,0±20,0sn, 53,4±16,6sn, 43,1±21,2sn ve 55,7±14,0 sn'de platforma ulaşmıştır (p=0,019). Yapılan Post-Hoc analizinde KD grubunun AUKD grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (p=0,015). İkinci gün KN, SKOP, AUKD ve KD grubunun platforma ulaşma süresi sırasıyla 33,2±22,2 sn, 35,6±25,1sn, 21,6±22,5sn ve 33,3±18,2sn olarak belirlenmiştir (p=0,146). Üçüncü gün KN, SKOP, AUKD ve KD grupları sırasıyla ortalama 23,8±21,0 sn, 12,9±12,7 sn, 12,9±14,2 sn ve 18,1±17,4 sn'de platforma ulaşmıştır (p=0, 065). Denemenin son gününde ise KN, SKOP, AUKD ve KD gruplarının sırasıyla ortalama 19,9±16,0sn, 10,3±9,8sn, 10,8±10,7sn, 9,94±10,1sn'de platforma ulaştığı saptanmıştır (p=0,004). Post-Hoc analizi sonucunda KN grubunun SKOP (p=0,04), AUKD (p=0,03) ve KD (p=0,003)'ye göre daha fazla sürede platforma ulaştığı belirlenmiştir. Diyet müdahalesi öncesi grup içinde günlere göre karşılaştırmada 4 günlük denemede platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak farklı olduğu($p<0,05$) ancak yapılan Post-Hoc analizi sonucu günler arası ikili karşılaştırmada tüm gruplarda fark olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.5).

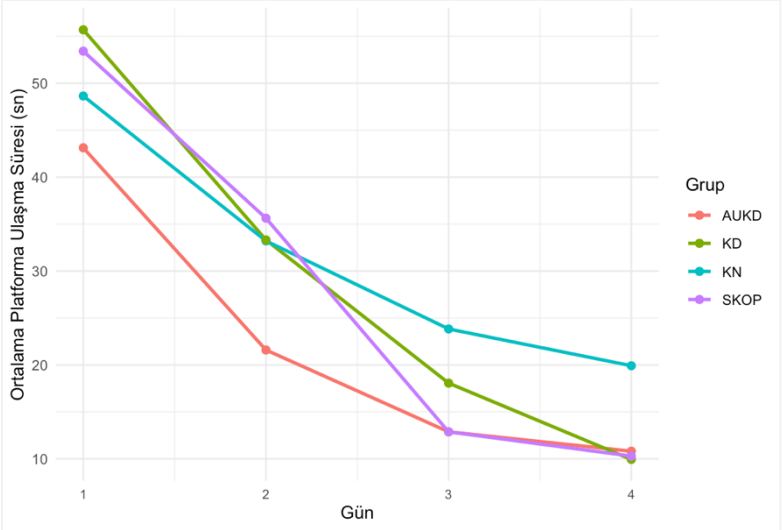
Diyet müdahalesi sonrası ilk gün KN, SKOP, AUKD, KD gruplarının ortalama platforma ulaşma süreleri 19,4±16,9sn, 19,5±17,7sn, 27,6±24,3sn ve 26,3±22,3 sn'dir (p=0,856). İkinci gün ise KN, SKOP, AUKD, KD grupları sırasıyla ortalama 15,0±14,5sn, 12,5±9,1sn, 9,8±11,1sn ve 16,8±20,7 sn'de platforma ulaşmıştır (p=0,142). Üçüncü gün KN, SKOP,

AUKD, KD gruplarının sırasıyla ortalama 8,88±5,86 sn, 17,0±17,6 sn, 9,69±13,2 sn ve 7,44±8,46sn sn'de platforma ulaştığı belirlenmiştir (p=0,005). Yapılan Post-Hoc analizi sonucu KN grubunun KD grubundan, SKOP grubunun ise hem AUKD hem KD grubundan daha uzun sürede platforma ulaştığı saptanmıştır (p<0,05). Son deneme gününde KN, SKOP, AUKD, KD gruplarının ortalama platforma ulaşma süresi sırasıyla 9,21±8,92, 9,5±7,51, 5,09±3,33, 6,5±6,47 sn'dir (p=0,005). Yapılan Post-Hoc analizi sonucu KN grubunun KD grubundan, SKOP grubunun ise hem AUKD hem KD grubundan daha uzun sürede platforma ulaştığı saptanmıştır (p<0,05) (Şekil 4.6). Diyet müdahalesi sonrası grup içinde günlere göre karşılaştırmada tüm grupların 4 günlük denemede platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Yapılan Post-Hoc analizi sonucu günler arası ikili karşılaştırmada sadece AUKD grubunda birinci gün platforma ulaşma süresinin dördüncü güne göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (p<0,05) ancak diğer gruplarda herhangi bir fark olmadığı saptanmıştır (p>0,05) (Çizelge 4.5).

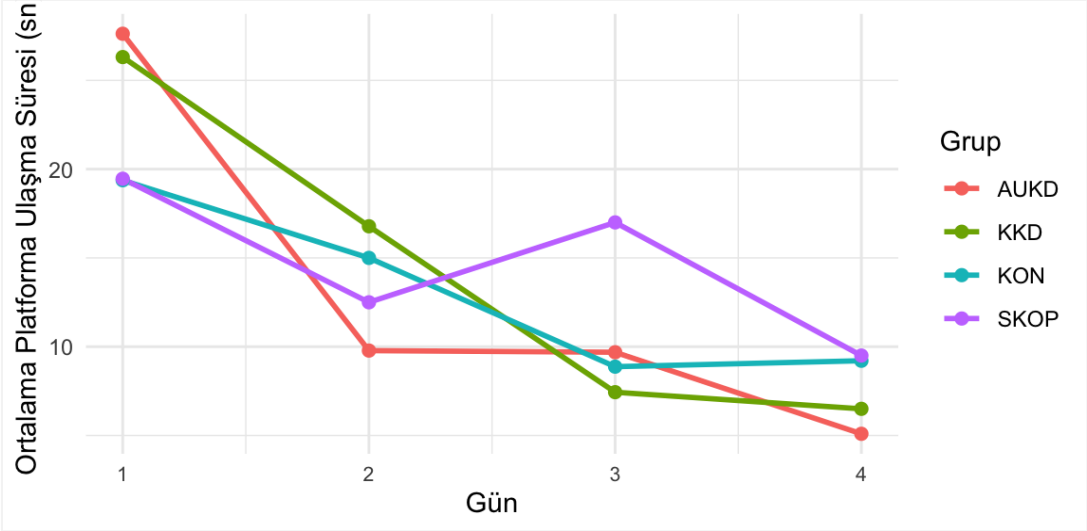
Çizelge 4.5. Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi ve sonrası platforma ulaşma sürelerinin karşılaştırılması

MWM Parametreleri	**GRUPLAR**									
Platforma ulaşma süresi(sn)	**KN (n=6)**		**SKOP (n=6)**		**AUKD (n=8)**		**KD (n=8)**		X^2	p[†]
Diyet müdahalesi öncesi	**X̄±SS**	**Ortanca [Alt-Üst]**	**X̄±SS**	**Ortanca [Alt-Üst]**	**X̄±SS**	**Ortanca [Alt-Üst]**	**X̄±SS**	**Ortanca [Alt-Üst]**		
1. gün	49,0±20,0[a]	60,00 [4,0-60,0]	53,4±16,6[a]	60,00 [4,0-60,0]	43,1±21,2[a]	60,00 [5,0-60,0]	55,7±14,0[b]	60,00 [2,0-60,0]	9,911	**0,019**
2. gün	33,2±22,2	32,50 [4,0-60,0]	35,6±25,1	48,50 [3,0-60,0]	21,6±22,5	17,00 [2,0-60,0]	33,3±18,2	28,50 [3,0-60,0]	5,379	0,146
3. gün	23,8±21,0	16,50 [2,0-60,0]	12,9±12,7	8,00 [3,0-58,0]	12,9±14,2	7,00 [1,0-60,0]	18,1±17,4	11,00 [2,0-60,0]	7,212	0,065
4. gün	19,9±16,0[a]	14,50 [2,0-60,0]	10,3±9,8[b]	7,00 [3,0-44,0]	10,8±10,7[b]	6,00 [3,0-44,0]	9,94±10,1[b]	6,50 [2,0-45,0]	13,24	**0,004**
X^2		8,16		11,80		17,10		12,90		
p[¶]		**0,04**		**0,008**		**0,0006**		**0,004**		
Diyet müdahalesi sonrası										
1. gün	19,4±16,9	13,00 [5,0-60,0]	19,5±17,7	10,50 [3,0-60,0]	27,6±24,3	17,50 [1,0-60,0]	26,3±22,3	17,50 [2,0-60,0]	0,769	0,856
2. gün	15,0±14,5	9,00 [2,0-60,0]	12,5±9,1	9,50 [3,0-40,0]	9,8±11,1	7,00 [1,0-60,0]	16,8±20,7	6,50 [2,0-60,0]	5,433	0,142
3. gün	8,88±5,86[ab]	7,50 [3,0-31,0]	17,0±17,6[a]	8,00 [3,0-60,0]	9,69±13,2[bc]	5,00 [2,0-60,0]	7,44±8,46[b]	5,00 [2,0-48,0]	12,44	**0,005**
4. gün	9,21±8,92[ac]	6,00 [2,0-37,0]	9,5±7,51[a]	7,00 [2,0-33,0]	5,09±3,33[b]	4,00 [2,0-19,0]	6,5±6,47[bc]	4,00 [2,0-29,0]	12.44	**0,005**
X^2		9,51		8,00		16,00		12,00		
p[¶]		**0,02**		**0,04**		**0,0011***		**0,007**		

Gruplar arası karşılaştırmada Kruskal Wallis ve ardından Dunn's Post-Hoc testi kullanılmıştır. Grup içinde günlere göre karşılaştırmada ise Friedman testi ve ardından Bonferroni Post-Hoc Testi kullanılmıştır. *Yapılan post-hoc analizi sonucu 1-4 gün arası farklı bulunmuştur.



Şekil 4.5. Diyet müdahalesi öncesi ortalama platforma ulaşma süresi



Şekil 4.6. Diyet müdahalesi sonrası ortalama platforma ulaşma süresi

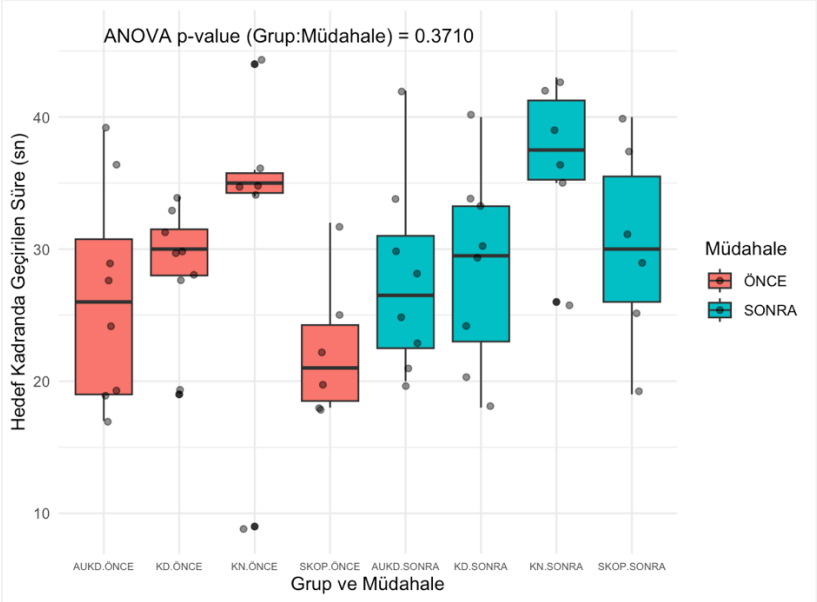
Çizelge 4.6'da grupların diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda harcadıkları sürelerin ortalamaları verilmiştir. KN grubunun diyet müdahalesi öncesi hedef kadranda geçirdiği süre 32,16±11,92 sn iken, diyet müdahalesi sonrası 36,83±6,17 sn'dir (p=0,477). SKOP grubunun ise diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda geçirdiği süre sırasıyla 22,50±5,35 ve 30,16±7,70 sn'dir (p=0,069). AUKD grubunun hedef kadranda geçirdiği sürenin diyet müdahalesi öncesi 26,37±8,14 sn, diyet müdahalesi sonrası ise 27,87±7,39 sn olduğu belirlenmiştir (p=0,653). KD grubunun ise diyet müdahalesi öncesi 29,12±4,61 sn, müdahale sonrası ise 28,50±7,44 sn hedef kadranda olduğu saptanmıştır

(p=0,866). Yapılan Tekrarlı Ölçümlerde Anova testi analizine göre grupların diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda harcadıkları sürenin istatistiksel olarak farklı olmadığı saptanmıştır (p=0,371) (Şekil 4.7).

Çizelge 4.6. Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda geçirdikleri sürelerin (sn) karşılaştırılması

	Deney Grupları						
Hedef Kadranda Geçirilen Süre(sn)	**KN (n=6)**	**SKOP (n=6)**	**AUKD (n=8)**	**KD (n=8)**	**D(p)**	**M(p)**	**DxM(p)**
Diyet Müdahalesi Öncesi	32,16±11,92	22,50±5,35	26,37±8,14	29,12±4,61	0,199	0,372	0,371
Diyet Müdahalesi Sonrası	36,83±6,17	30,16±7,70	27,87±7,39	28,50±7,44			

Verilerin analizinde Tekrarlı Ölçümlerde İki Yönlü Varyans Analizi ve ardından Bonferroni Post-Hoc Testi kullanılmıştır (D: Deney grupları, M: Müdahale, DxM: Deney grupları x Müdahale Etkileşimi). Farklı üs değerine (a, b) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır (p<0,05).



Şekil 4.7. Deney gruplarının diyet müdahalesi öncesi ve sonrası hedef kadranda geçirdikleri süre

Yeni nesne tanıma testinde deney gruplarının yeni ve eski nesne ile geçirdikleri süreler karşılaştırıldığında bütün gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05, Şekil 4.8). Deney grupları arasında, eski, yeni ve toplam nesne keşif için geçirilen süreler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05, Çizelge 4.7). Eski nesne ile geçirilen süreler incelendiğinde, KN, SKOP, AUKD ve KD gruplarının sırasıyla 2,18±3,08, 0,33±0,82, 3,25±4,05 ve 3,10±2,29 saniye eski nesne ile

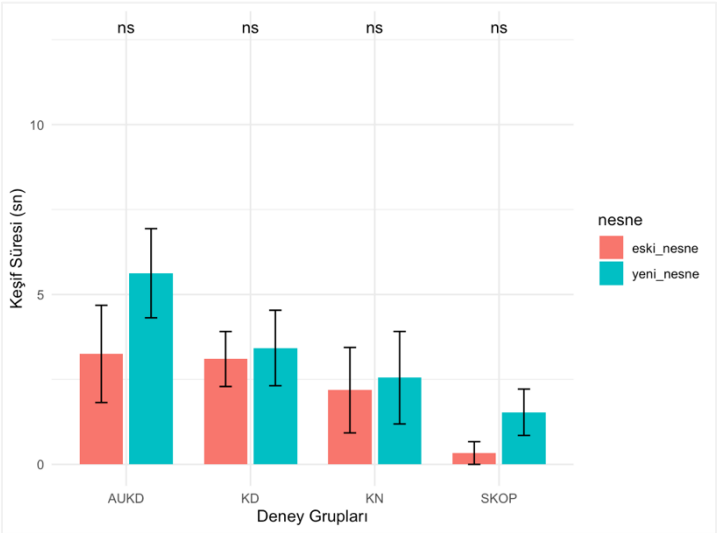
vakit geçirdiği belirlenmiştir (p=0,094). Yeni nesne ile geçirilen süreler incelendiğinde ise, KN, SKOP, AUKD ve KD gruplarının sırasıyla 2,55±3,33, 1,53±1,67, 5,62±3,71 ve 3,42±3,14 saniye yeni nesne ile vakit geçirdiği görülmüştür (p=0,114). Toplam nesne keşif için geçirilen süreler ise KN, SKOP, AUKD ve KD için sırasıyla 4,37±6,36, 1,87±2,36, 8,88±6,55 ve 6,53±4,83 saniye olarak belirlenmiştir (p=0,790).

Ayırt edicilik indeksi sonuçları incelendiğinde; KD grubunun en düşük ayırt edicilik indeksi katsayısına sahip olduğu görülmüş (sırasıyla; KN=0,51±0,52, SKOP=0,55±0,50, AUKD=0,53±0,41, KD=0,30±0,26 şeklindedir), ancak istatistiksel açıdan gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05), (Şekil 4.9).

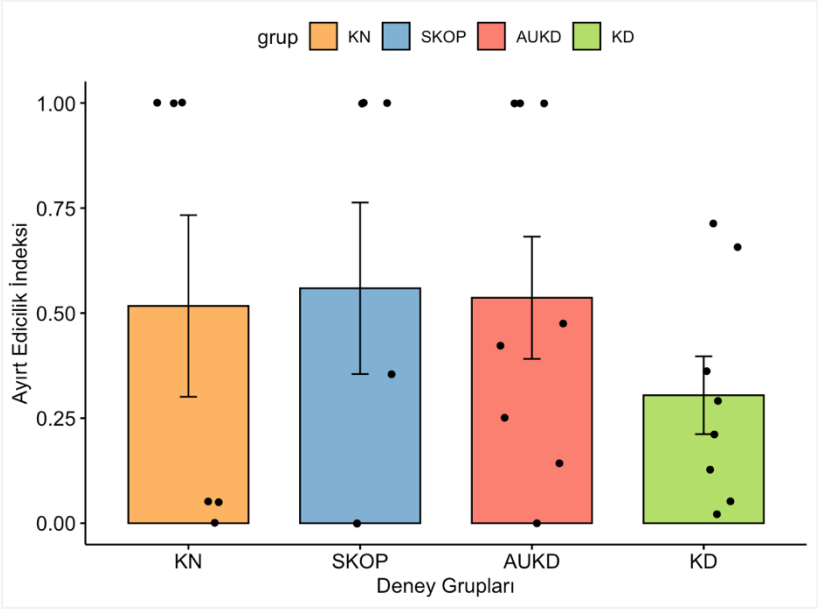
Çizelge 4.7. Deney gruplarının yeni nesne testine ait parametrelerinin karşılaştırılması

NORT Parametreleri	KN (n=6)		SKOP (n=6)		AUKD (n=8)		KD (n=8)		X^2	p
	X̄±SS	Ortanca [Alt-Üst]	X̄±SS	Ortanca [Alt-Üst]	X̄±SS	Ortanca [Alt-Üst]	X̄±SS	Ortanca [Alt-Üst]		
Eski Nesne ile Geçirilen Süre (sn)	2,18±3,08	0,55 [0-7,2]	0,33±0,82	0 [0-2]	3,25±4,05	1,6 [0-10,4]	3,10±2,29	2,35 [0,6-6,6]	6,37	0,094
Yeni Nesne ile Geçirilen Süre (sn)	2,55±3,33	1 [0-8]	1,53±1,67	1,3 [0-4,2]	5,62±3,71	5,15 [0-12,7]	3,42±3,14	2,7 [0,8-10,4]	5,95	0,114
Toplam Nesne ile Geçirilen Süre (sn)	4,37±6,36	1,3 [0-15,2]	1,87±2,36	1,3 [0-6,2]	8,88±6,55	8,65 [0-20,3]	6,53±4,83	4,8 [1,9-16,1]	6,68	0,083
Ayırt Edicilik İndeksi	0,52±0,53	0,52 [0-1]	0,56±0,50	0,67 [0-1]	0,54±0,41	0,44 [0-1]	0,3±0,26	0,25 [0,02-0,71]	1,05	0,790

Verilerin analizinde Kruskal Wallis ve ardından Dunn's Post-Hoc testi kullanılmıştır.



Şekil 4.8. Deney gruplarının yeni ve eski nesne ile geçirdikleri süreler Her grubun kendi içinde eski ve yeni nesneler ile geçirdiği süreler eşleştirilmiş Student's t-testi ile karşılaştırılmıştır.

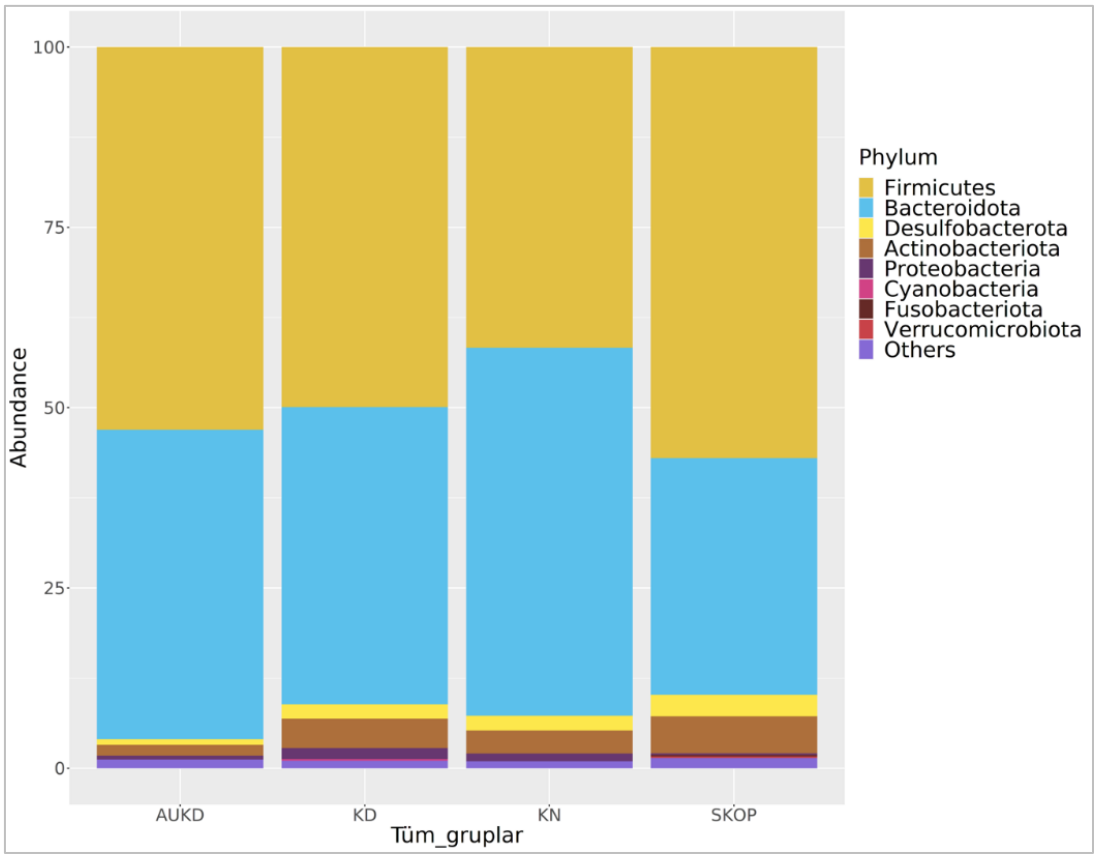


Şekil 4.9. Deney gruplarının yeni nesne tanıma testinde ayırt edicilik indeksi katsayılarının karşılaştırılması Gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmıştır.

4.4. Bağırsak Mikrobiyata Analizlerine İlişkin Bulgular

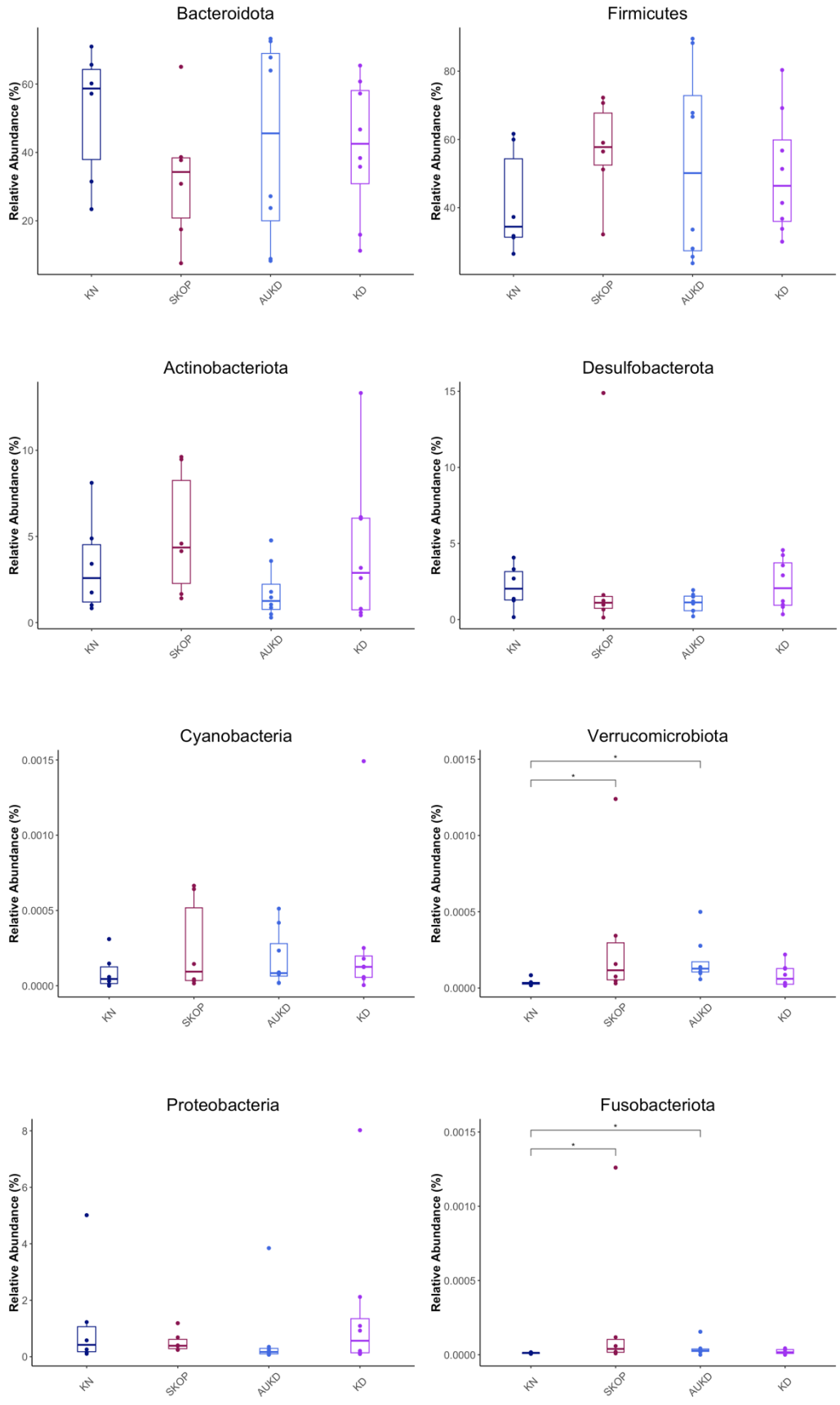
16S rRNA amplicon sequence variant (ASV), farklı ketojenik diyet türlerinin bilişsel bozukluk oluşturulmuş ratların bağırsak mikrobiyotasına etkilerini incelemek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca, bilişsel bozukluk ve bilişsel açıdan normal durumlar arasındaki bağırsak mikrobiyata kompozisyonları karşılaştırılmıştır.

Grupların filum düzeyinde göreceli bollukları Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Deney gruplarına göre filum düzeyinde göreceli bollukları

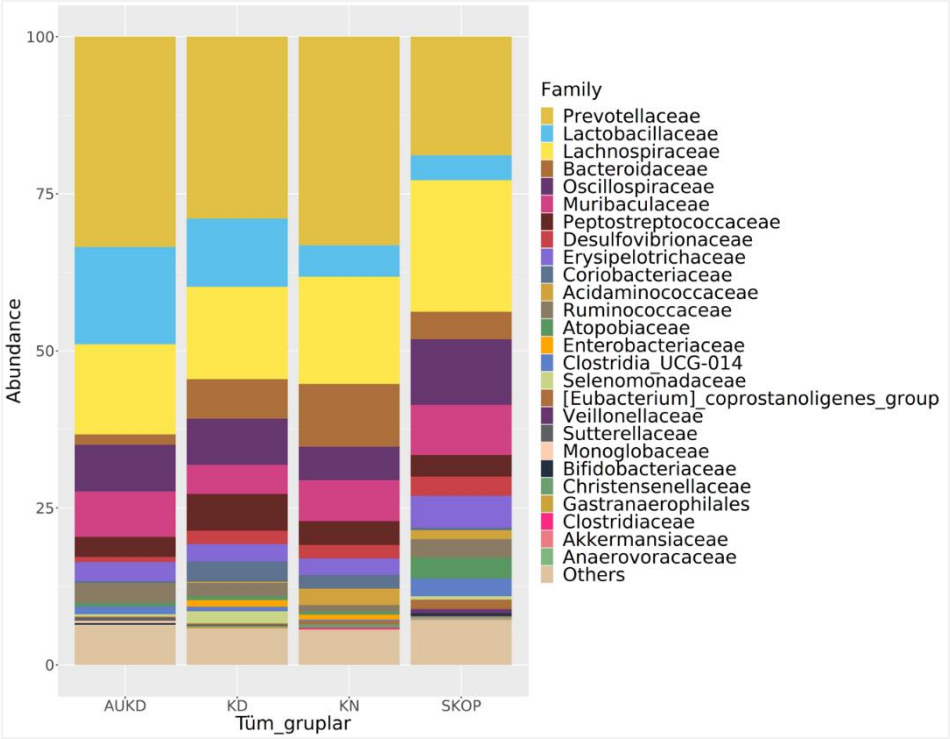
KN grubunda en yüksek göreceli bolluğa sahip olan filumun Bacteroidota (%50,89) olduğu bulunmuştur. Bacteroidota'yı sırasıyla Firmicutes (%41,87), Actinobacteria (%3,45), Desulfobacterota (%2,08) ve Proteobacteria (%1,24) filumları takip etmiştir. SKOP grubunda en bol bulunan filumlar sırasıyla Firmicutes (%57,15), Bacteroidota (%32,61), Actinobacteriota (%5,09) ve Desulfobacterota (%3,41) olduğu bulunmuştur. KD grubunun bağırsak mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum %49,07 oranıyla Firmicutes iken bunu sırasıyla Bacteroidota (%42,03), Actinobacteria (%4,33), Desulfobacterota (%2,31) ve Proteobacteria (%1,66) olduğu; AUKD grubunun bağırsak mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum ise %52,86 oranıyla Firmicutes iken bunu sırasıyla Bacteroidota (%43,33), Actinobacteriota (%1,74) ve Desulfobacterota (%1,08) takip etmiştir (Şekil 4.11). Bacteroidota, Firmicutes, Desulfobacterota, Actinobacteriota, Proteobacteria, Cyanobacteria filumları için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$); Fusobacteriota ve Verrucomicrobiota bolluğunun SKOP ve AUKD gruplarında KN grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 4.11).



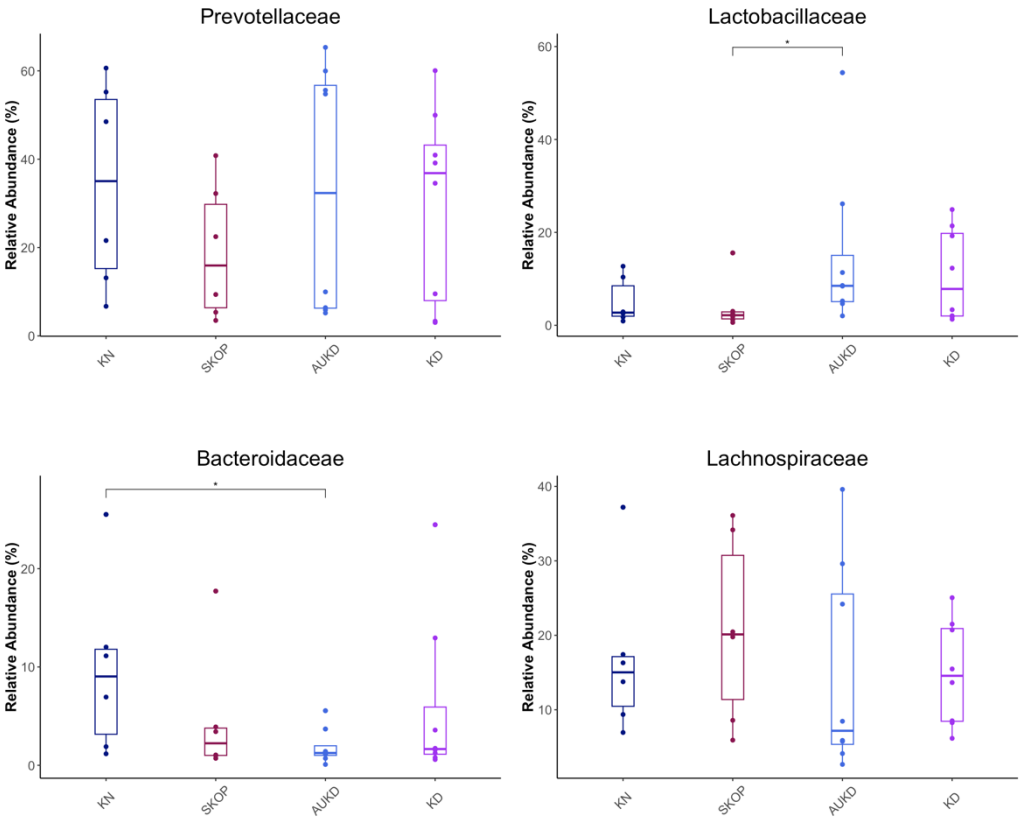
Şekil 4.11. Filum düzeyinde göreceli bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)

Grupların aile düzeyinde göreceli bollukları Şekil 4.12'de ve aile düzeyinde göreceli bollukların (%) gruplar arasında karşılaştırılması Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Göreceli bolluğa sahip olan aileler KN grubunda sırasıyla *Prevotellaceae* (%33,01), *Lachnospiraceae* (%16,92), *Bacteroidaceae* (%10,18), *Muribaculaceae* (%6,61), *Oscillospiraceae* (%5,39), *Lactobacillaceae* (%5,21), *Peptostreptococcaceae* (%4,12), *Erysipelotrichaceae* (%2,62), *Acidaminococcaceae* (%2,55), *Coriobacteriaceae* (%2,32), *Desulfovibrionaceae* (%2,17) ; SKOP grubunda ise sırasıyla *Lachnospiraceae* (21,14), *Prevotellaceae* (%18,78), *Oscillospiraceae* (%10,52), *Muribaculaceae* (%7,89), *Erysipelotrichaceae* (%5,12), *Bacteroidaceae* (%4,64), *Lactobacillaceae* (%3,96), *Peptostreptococcaceae* (%3,64), *Atopobiaceae* (%3,52), *Desulfovibrionaceae* (%3,51), *Ruminococcaceae* (%3,03) olarak belirlenmiştir. KD grubunda *Prevotellaceae* (%29,59), *Lachnospiraceae* (%14,49), *Lactobacillaceae* (%10,59), *Oscillospiraceae* (%7,29), *Bacteroidaceae* (%6,71), *Peptostreptococcaceae* (%5,74), *Muribaculaceae* (%4,61), *Coriobacteriaceae* (%3,29), *Erysipelotrichaceae* (%2,73), *Desulfovibrionaceae* (%2,45), *Ruminococcaceae* (%2,32) ve *Selenomonadaceae* (%2,17); AUKD grubunda ise *Prevotellaceae* (%34,16), *Lachnospiraceae* (%14,95), *Lactobacillaceae* (%14,77), *Oscillospiraceae* (%7,76), *Muribaculaceae* (%7,39), *Ruminococcaceae* (%3,51), *Peptostreptococcaceae* (%2,84), *Erysipelotrichaceae* (%2,68), *Bacteroidaceae* (%1,84), *Clostridia_UCG-014* (%1,55) ve *Desulfovibrionaceae* (%1,19) göreceli en bol bulunan aileler olarak saptanmıştır.

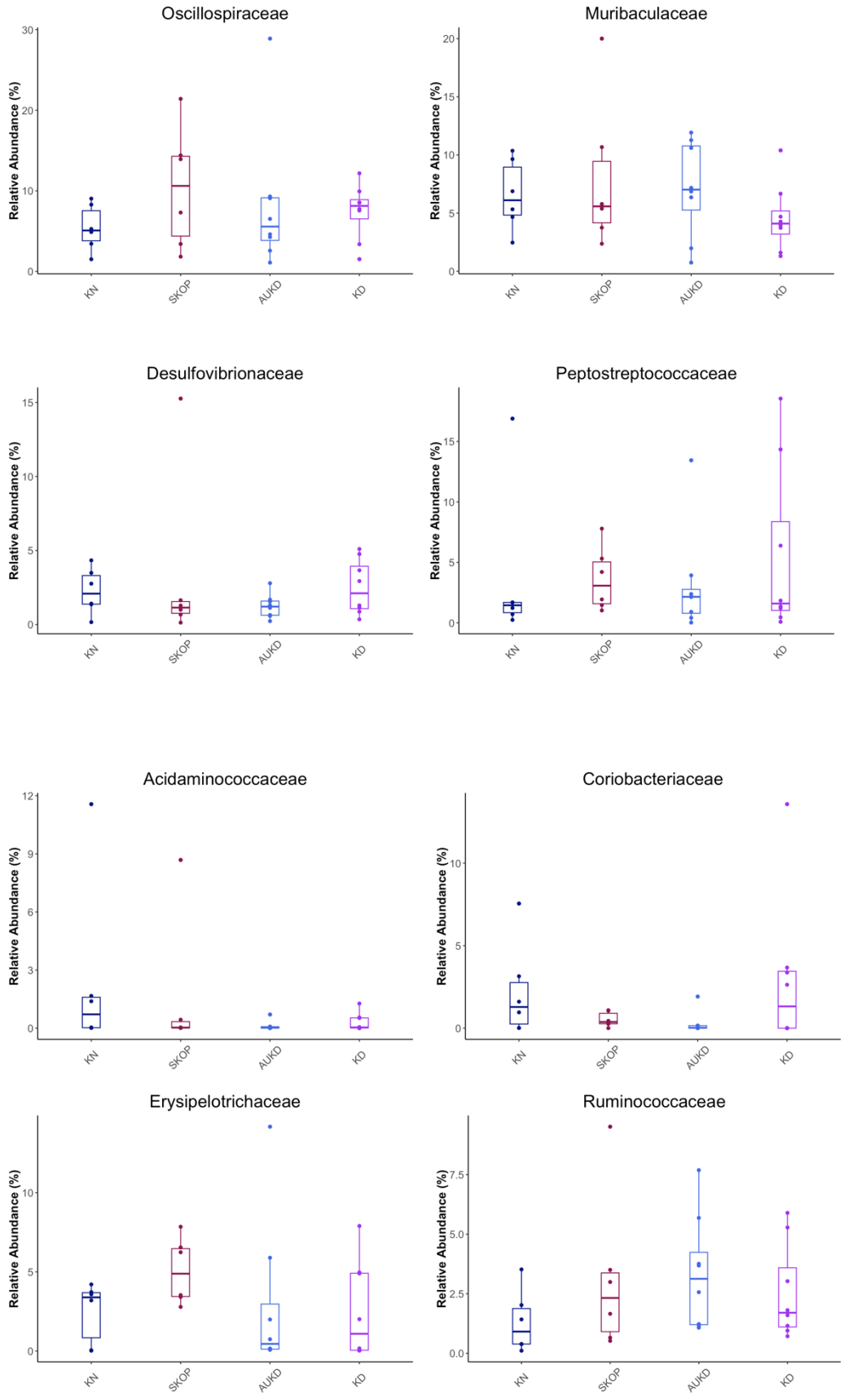
Lactobacillaceae bolluğunun AUKD grubunda SKOP grubuna; *Bacteroidaceae* bolluğunun KN grubunda AUKD grubuna; *Enterobacteriaceae* bolluğunun KN grubunda AUKD grubuna; *Clostridia_UCG-014* bolluğunun SKOP grubunda KN ve KD gruplarına; *[Eubacterium]_coprostanoligenis_group* bolluğunun SKOP grubunda AUKD ve KD gruplarına; *Veillonellaceae* bolluğunun SKOP grubunda KN grubuna; *Akkermansiaceae* bolluğunun SKOP ve AUKD gruplarında KN grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.13).



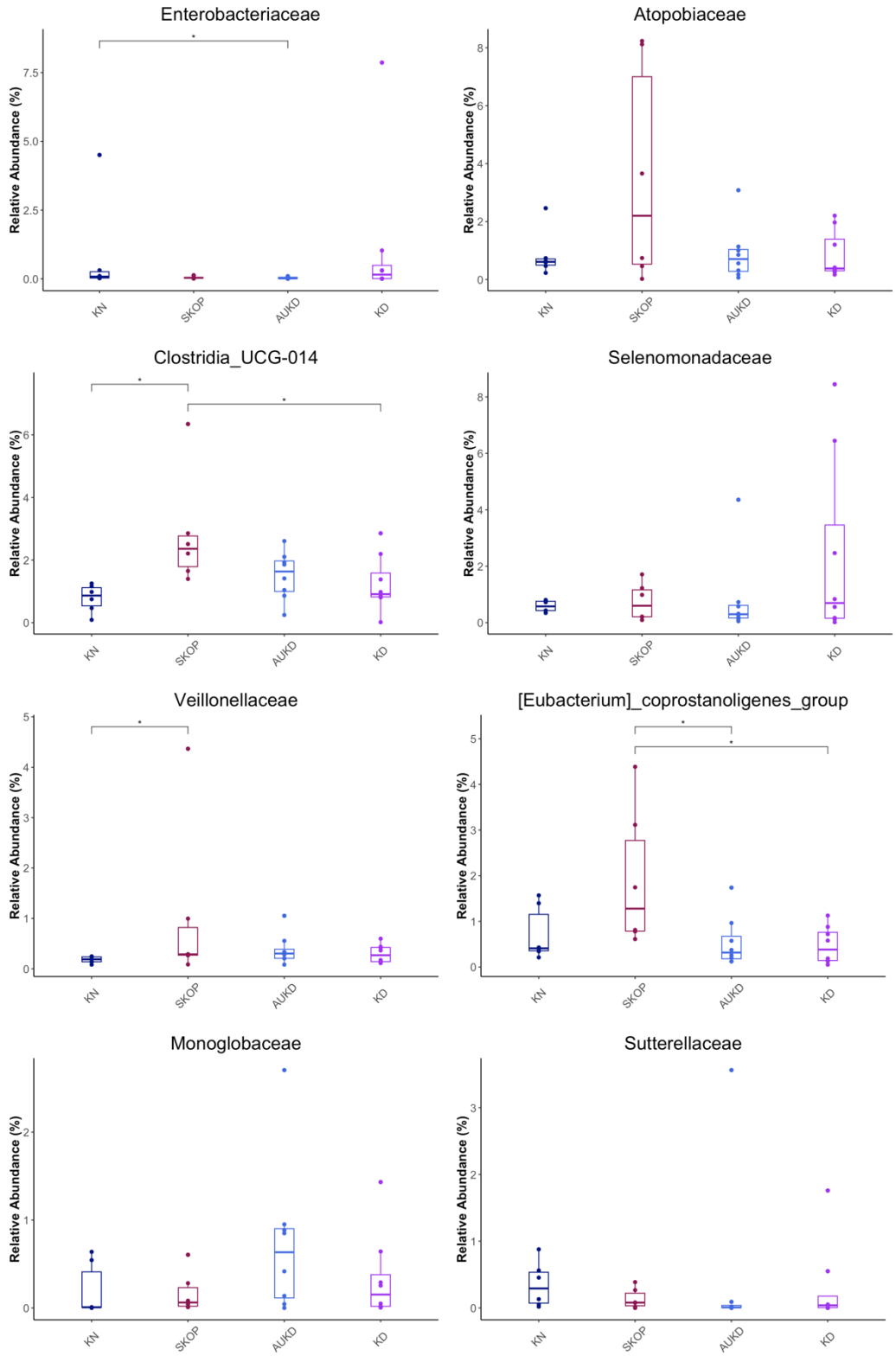
Şekil 4.12. Gruplara göre aile düzeyinde göreceli bollukları



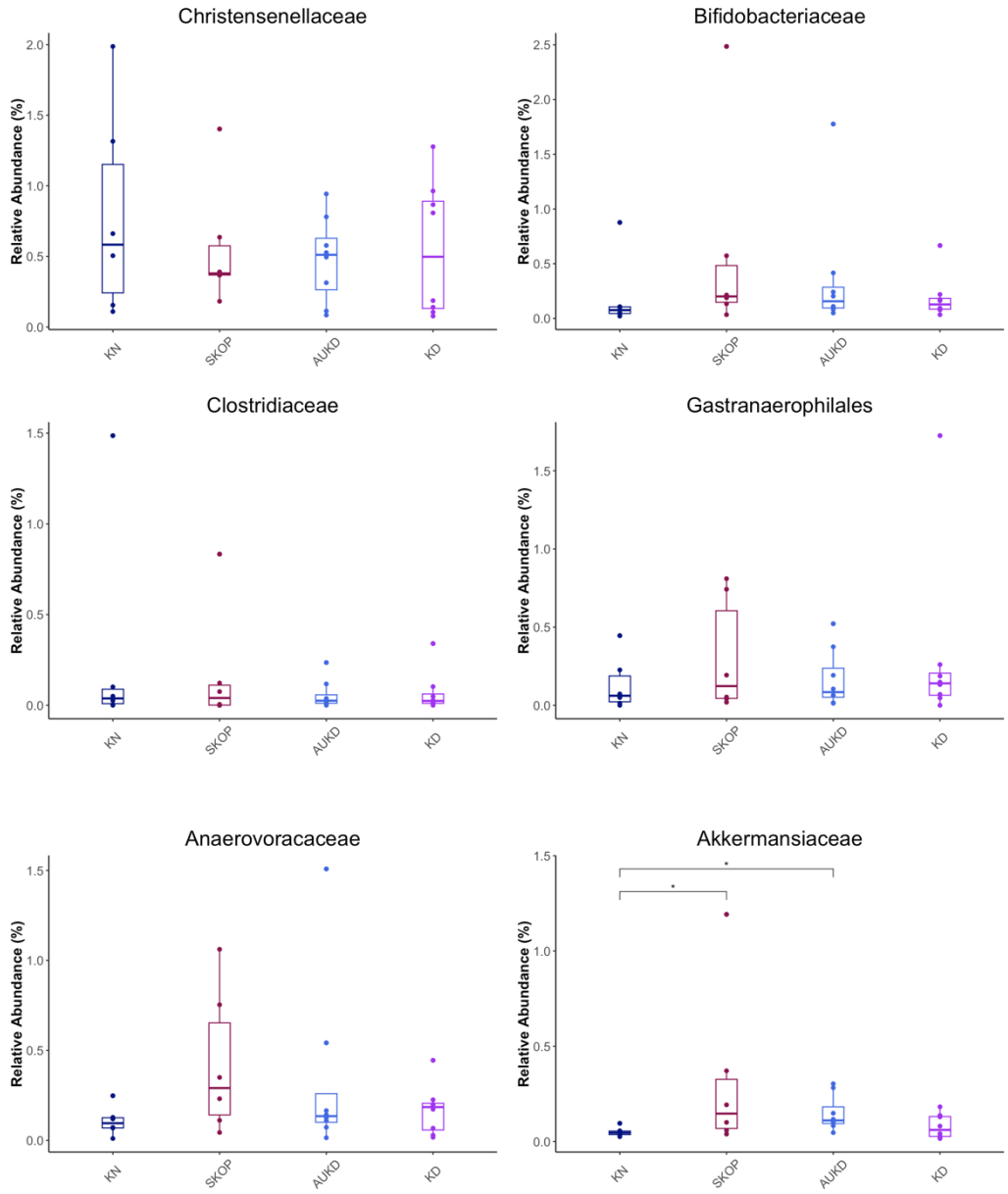
Şekil 4.13. Aile düzeyinde göreceli bollukların (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



Şekil 4.13. (devam) Aile düzeyinde göreceli bollukların (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



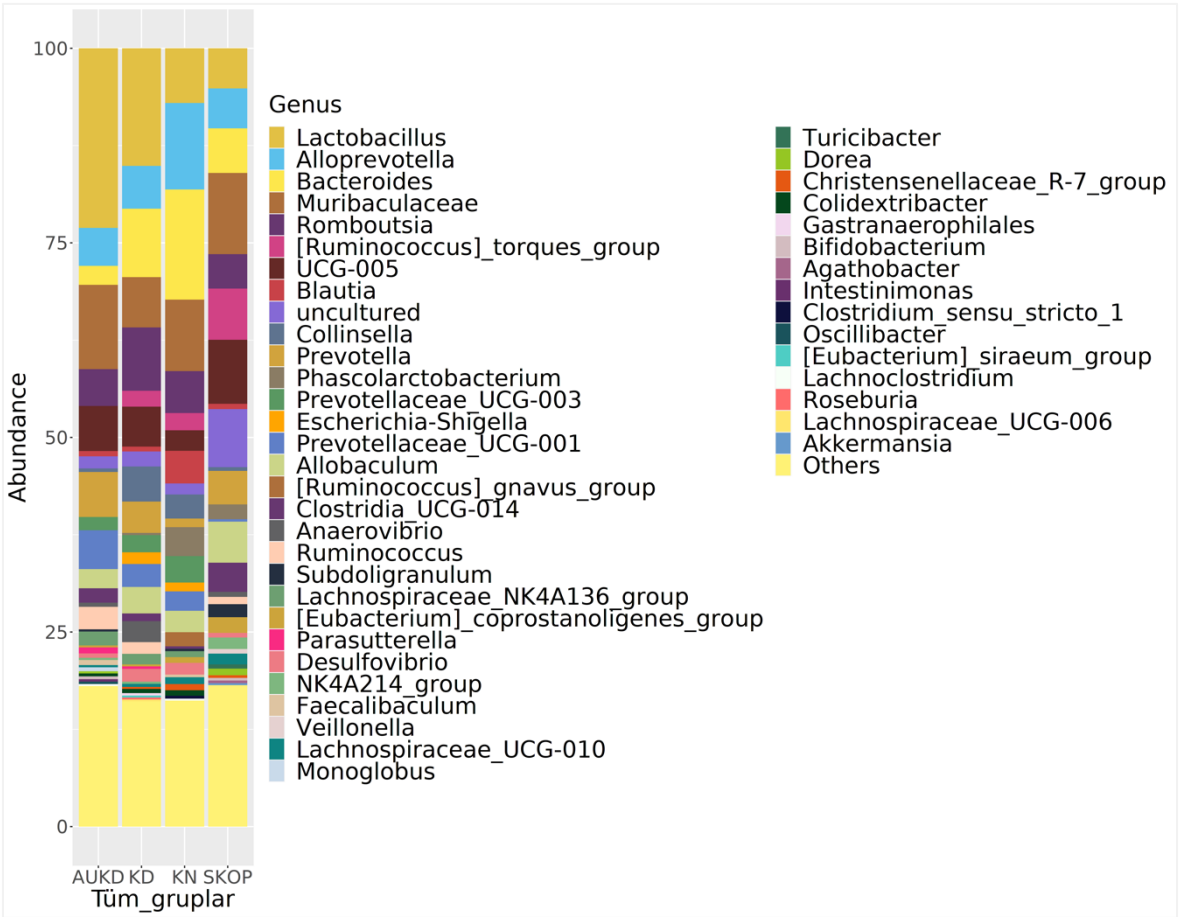
Şekil 4.13. (devam) Aile düzeyinde göreceli bollukların (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



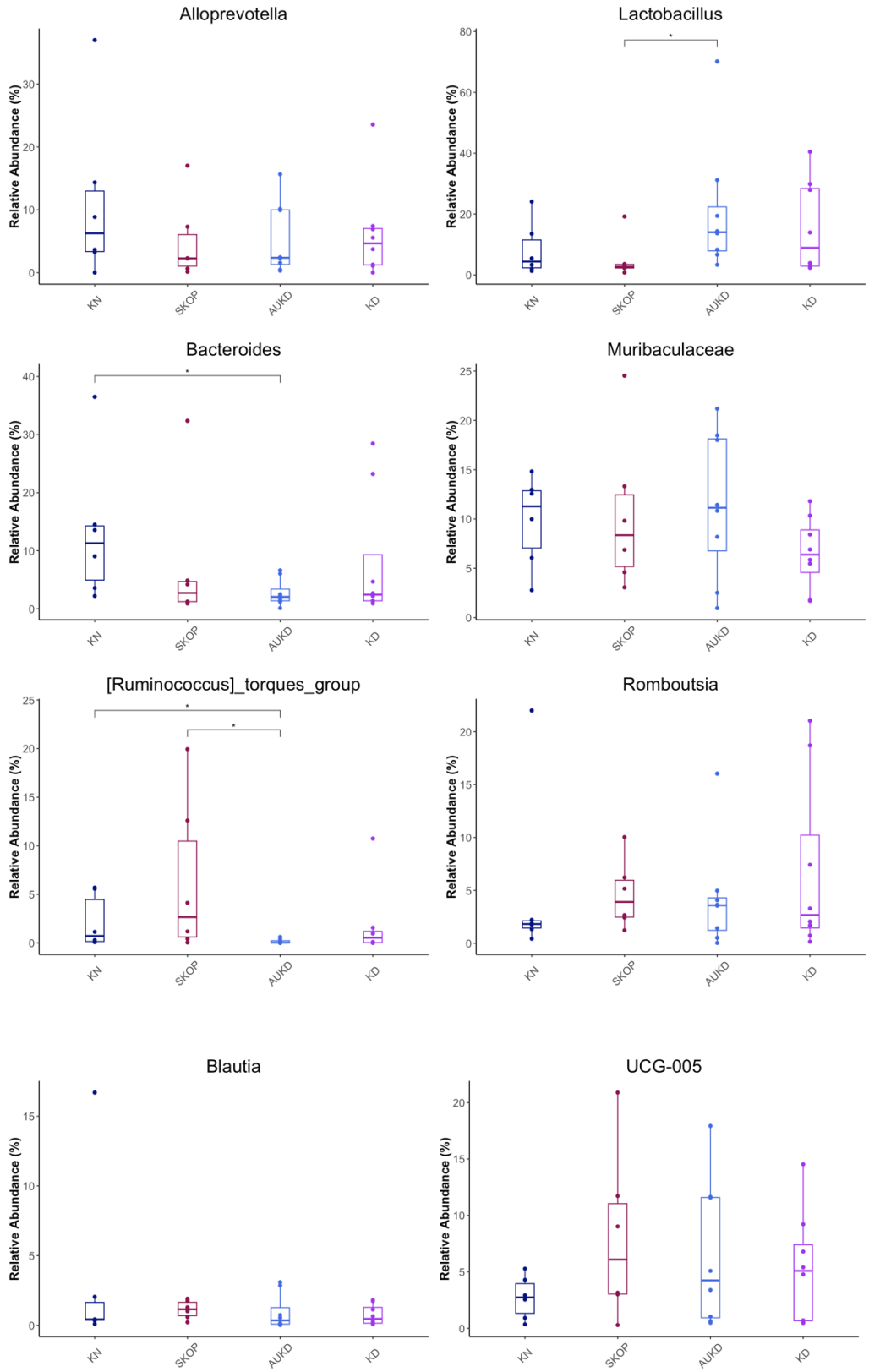
Şekil 4.13. (devam) Aile düzeyinde göreceli bollukların (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)

Grupların cins düzeyinde göreceli bollukları Şekil 4.14'te ve cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Cins düzeyinde KN grubunda sırasıyla *Bacteroides* (%14,40), *Alloprevotella* (%10,87), *Muribaculaceae* (%9,34), *Lactobacillus* (%7,38), *Romboutsia* (%5,82), *Blautia* (%4,20), *Phascolarctobacterium* (%3,60), *Collinsella* (%3,28), *Allobaculum* (%2,70), *Prevotellaceae_UCG-001* (%2,50) ve *[Ruminococcus]_torques_group* (%2,48) görece bolluğa sahiptir. SKOP grubunda ise sırasıyla *Muribaculaceae* (%10,31), *[Ruminococcus]_torques_group* (%6,90), *Bacteroides* (%6,08), *Allobaculum* (%5,38), *Alloprevotella* (%5,32), *Lactobacillus* (%5,18), *Romboutsia* (%4,70), *Prevotella* (%4,36),

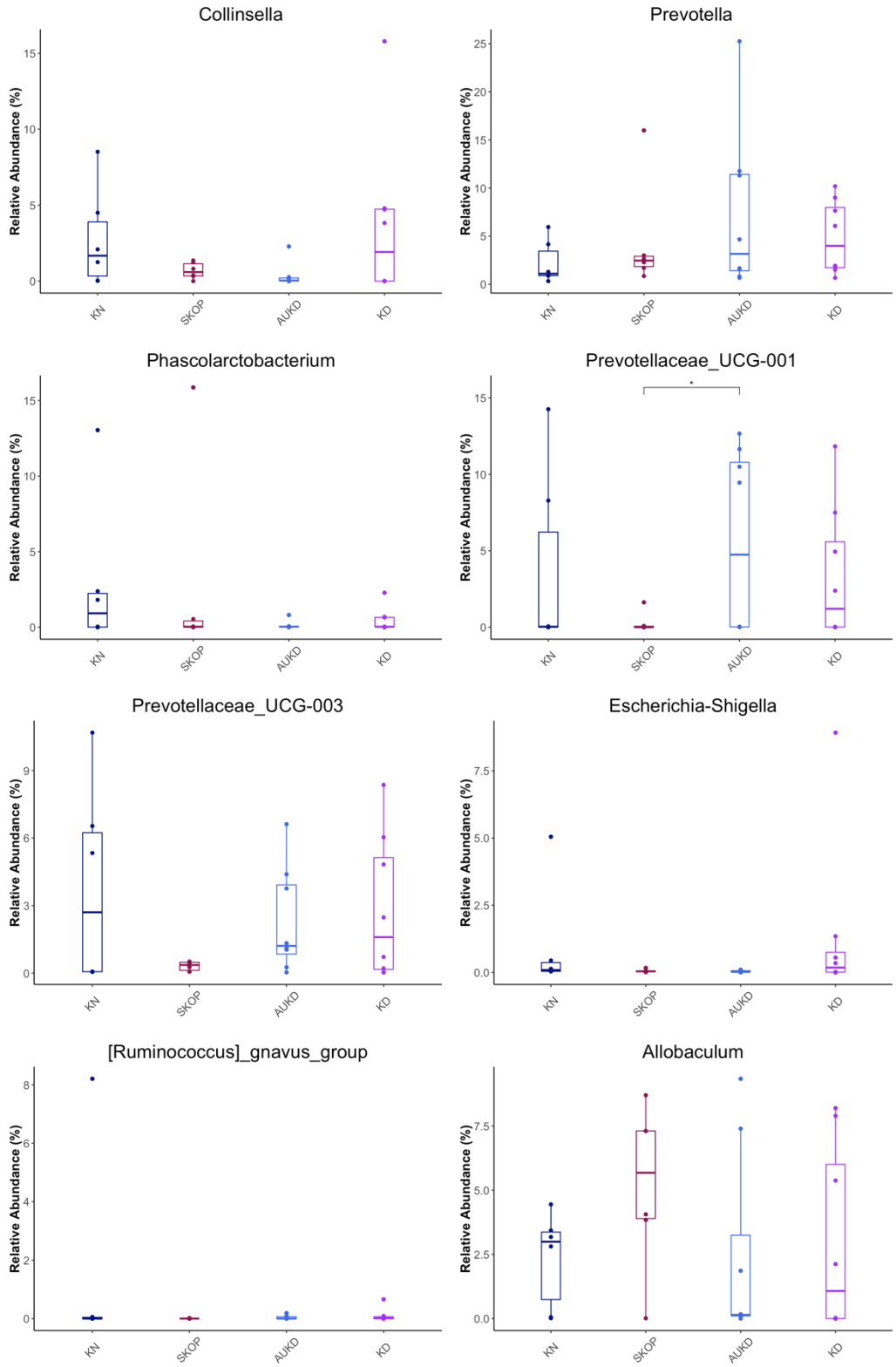
Clostridia_UCG-014 (%3,72), *Subdoligranulum* (%2,01), *Phascolarctobacterium* (%2,01), *Lachnospiraceae_UCG-010* (%1,53), *Dorea* (%1,28), *Blautia* (%1,15) göreceli bolluğa sahip olduğu tespit edilmiştir. KD grubunda *Lactobacillus* (%14,82), *Bacteroides* (%9,39), *Romboutsia* (%8,03), *Muribaculaceae* (%6,45), *Alloprevotella* (%5,99), *Collinsella* (%4,60), *Prevotella* (%4,40), *Allobaculum* (%3,35), *Anaerovibrio* (%3,04) ve *Desulfovibrio* (%2,02); AUKD grubunda ise sırasıyla *Lactobacillus* (%22,33), *Muribaculaceae* (%11,16), *Prevotella* (%6,76), *Prevotellaceae_UCG-001* (%5,20), *Alloprevotella* (%5,08), *Romboutsia* (%4,30), *Ruminococcus* (%3,31), *Bacteroides* (%2,79), *Allobaculum* (%2,49), *Lachnospiraceae_NK4A136_group* (%2,34), *Clostridia_UCG-014* (%2,34), *Lachnospiraceae_NK4A136_group* (%2,34), *Prevotellaceae_UCG-003* (%2,21), *Desulfovibrio* (%1,29) göreceli bolluğa sahiptir. *Lactobacillus* bolluğu AUKD grubunda SKOP grubuna; *Bacteroides* bolluğu KN grubunda AUKD grubuna; *[Ruminococcus]_torques_group* bolluğu KN ve SKOP gruplarında AUKD grubuna; *Prevotellaceae_UCG-001* bolluğu AUKD grubunda SKOP grubuna; *Clostridia_UCG-014* bolluğu SKOP grubunda KN grubuna; *Lachnospiraceae_NK4A136_group* bolluğu AUKD grubunda SKOP grubuna; *[Eubacterium]_coprostanoligenes_group* bolluğu SKOP grubunda AUKD ve KD gruplarına; *Parasutterella* bolluğu KN grubunda AUKD grubuna; *NK4A214_group* bolluğu SKOP grubunda diğer gruplara; *Lachnospiraceae_UCG-010* bolluğu SKOP grubunda AUKD grubuna; *Turicibacter* bolluğu KD grubunda KN grubuna; *Dorea* bolluğu SKOP grubunda diğer gruplara; *Akkermansia* bolluğu AUKD ve SKOP gruplarında KN grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 4.15).



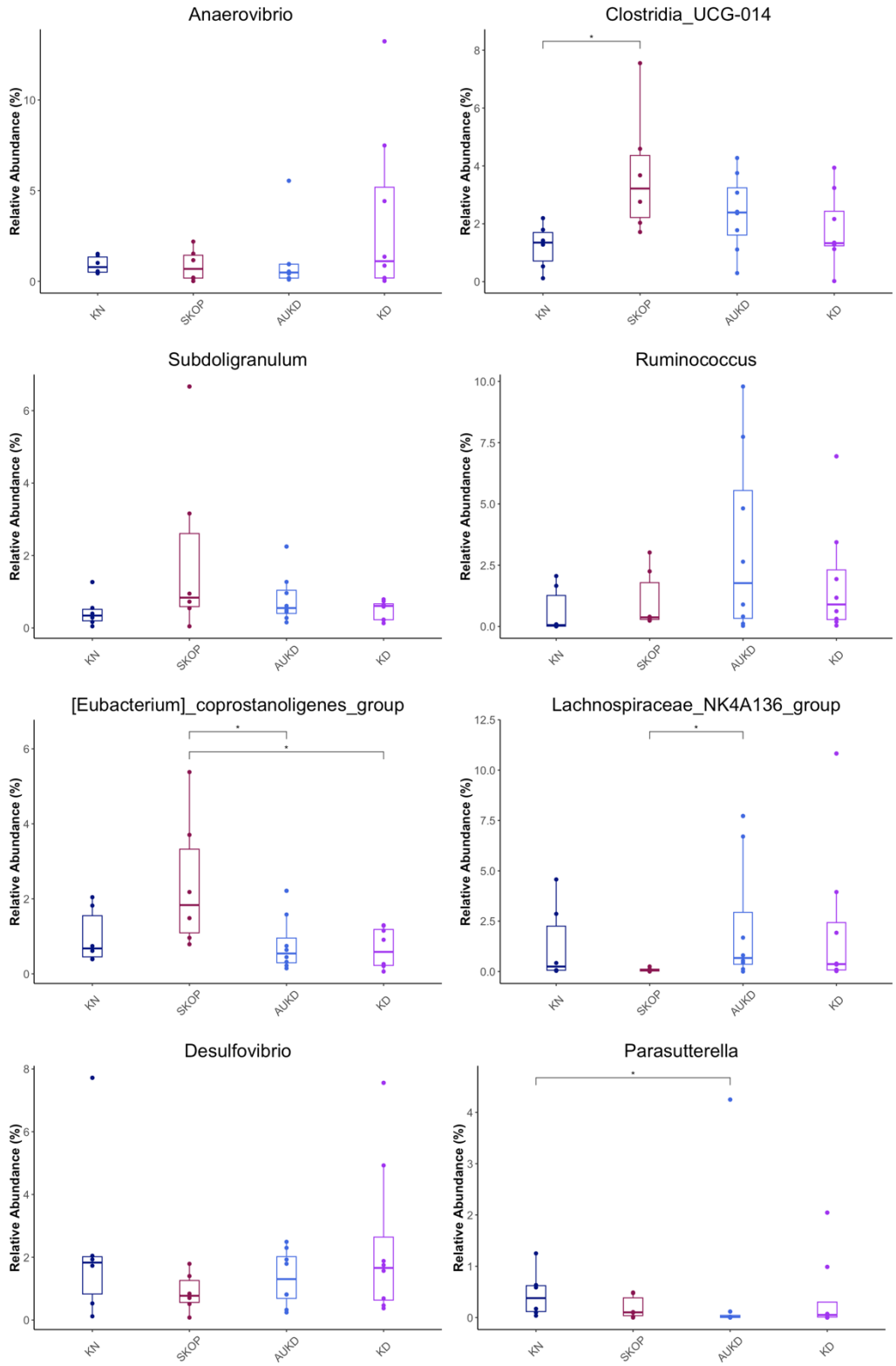
Şekil 4.14. Gruplara göre cins düzeyinde göreceli bollukları



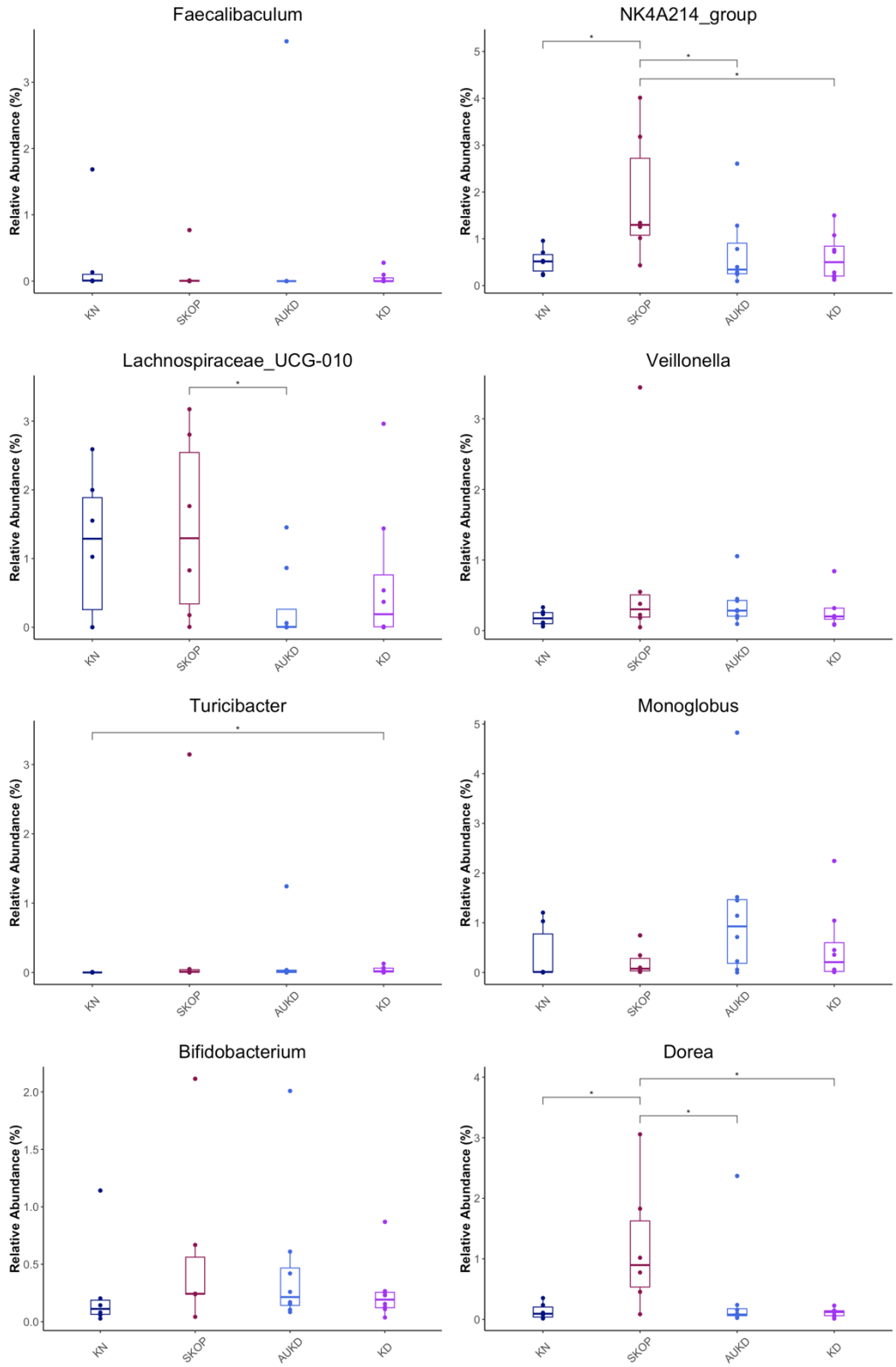
Şekil 4.15. Cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



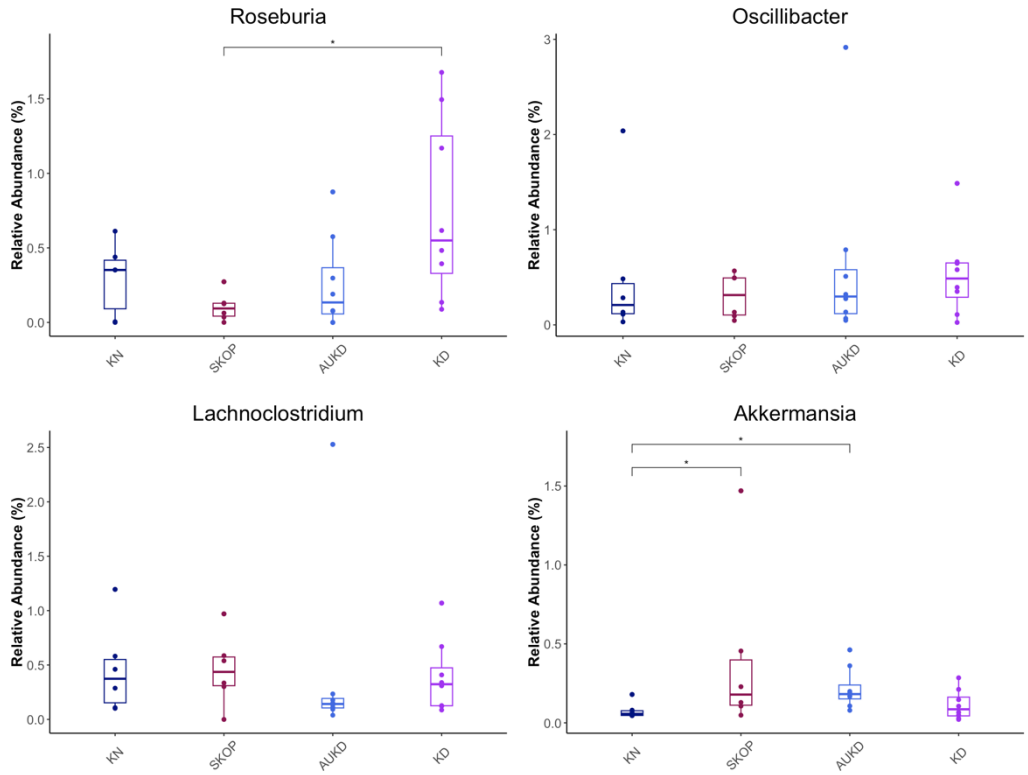
Şekil 4.15. (devam) Cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



Şekil 4.15. (devam) Cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



Şekil 4.15. (devam) Cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)



Şekil 4.15. (devam) Cins düzeyinde görece bolluklarının (%) gruplar arasında karşılaştırılması (Wilcoxon test, *p<0,05)

Gruplara ait örneklerin grup içi topluluk çeşitlilik ve yoğunluğunun karşılaştırılması amacıyla hesaplanan α çeşitlilik indekslerine (Gözlenen Türler, Chao1, Shannon ve Simpson) ait kutu grafikleri sırasıyla Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19'da verilmiştir. Grupların tüm indekslere göre α çeşitlilik sıralaması KN>SKOP>AUKD>KD şeklindedir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Grupların farklı indekslere göre α çeşitlilik değerleri farklılıkları

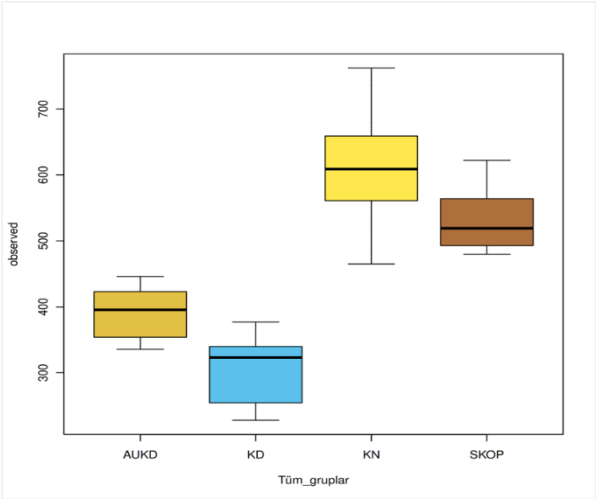
	Tüm gruplar	**KD-AUKD**	**KN-SKOP**
α Çeşitlilik İndeksleri	*p*	*p*	*p*
Shannon İndeksi	0,010*	0,247	0,262
Simpson İndeksi	0,316	0,752	0,109
Chao1 İndeksi	<0,0001*	0,004*	0,149
Gözlemlenen Türler	<0,0001*	0,004*	0,149

Verilerin analizinde Kruskal Wallis ve ardından Dunn's Post-Hoc testi kullanılmıştır. *p<0,05

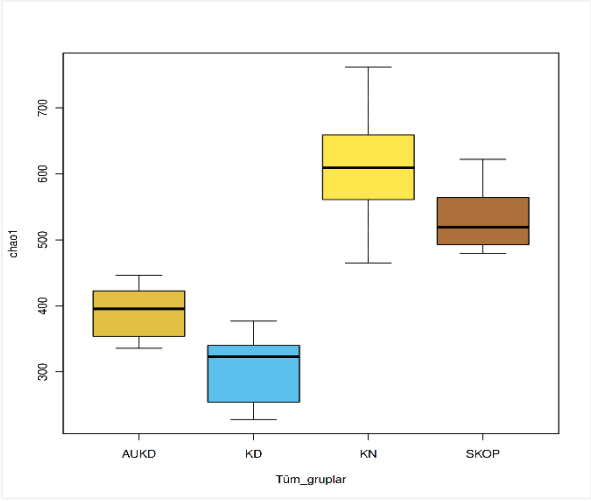
Buna göre; grup içerisinde gözlemlenen türlerin sayısı AUKD grubunda KD grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksektir (p=0,004). Gözlemlenen türlerin sayısı tüm gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olduğu ve bu indekse göre α çeşitlilik sıralamasının KN>SKOP>AUKD>KD olduğu belirlenmiştir (p<0,0001) (Şekil 4.16). Topluluğun tür

zenginliğini gösteren Chao 1 indeksine ait kutu grafiği Şekil 4.17 'de verilmiştir. Chao 1 indeksine göre tür çeşitliliğinin; tüm gruplar ve ketojenik diyet grupları arasında istatistiksel olarak farklı olduğu ve sıralamanın KN>SKOP>AUKD>KD şeklinde olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Şekil 4.17).

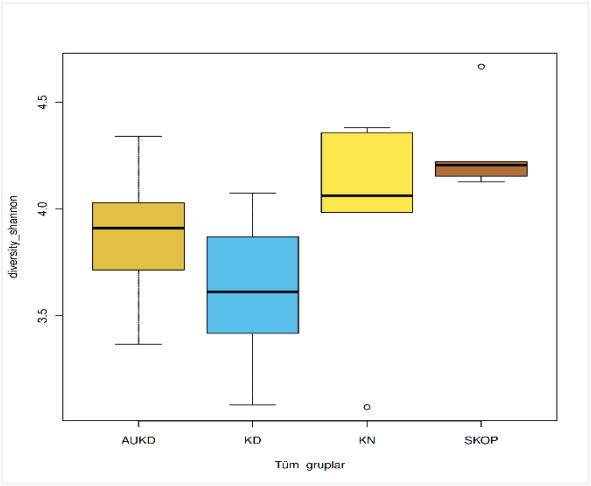
Şekil 4.18'de, grup içi tür çeşitliliği ve bolluğunu dikkate alan Shannon indeksine ait kutu grafiği gösterilmiştir. Shannon indeksine göre, tüm gruplar arasında α çeşitliliğin istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($p=0,010$). Buna karşılık, Şekil 4.19'da, topluluktaki baskın türleri öne çıkaran Simpson indeksine ait kutu grafiği sunulmuştur. Simpson indeksine göre ise gruplar arasında α çeşitliliğin istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği tespit edilmiştir ($p=0,316$). Shannon ve Simpson indekslerine göre AUKD grubunun KD grubuna göre α çeşitliliği daha yüksek bulunmuştur, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).



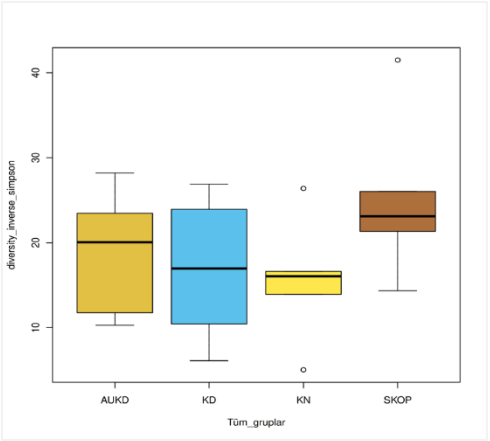
Şekil 4.16. Gözlemlenen türler kutu grafiği



Şekil 4.17. Chao1 indeksi kutu grafiği

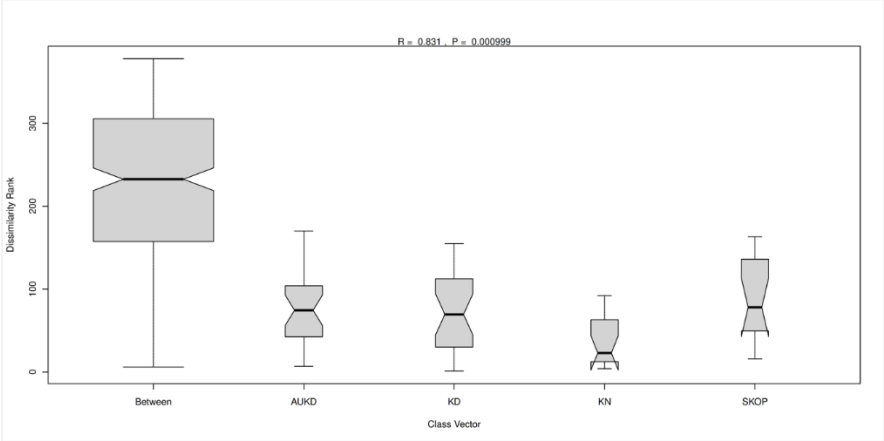


Şekil 4.18. Shannon indeksi kutu grafiği



Şekil 4.19. Simpson indeksi kutu grafiği

Beta çeşitlilik analizi, gruplar arasındaki taksonomik farklılıkları değerlendirmek için kullanılmıştır. Yapılan ANOSIM analizine göre grup içi farklılıklar gruplar arası farklılıklardan anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (R=0,831, p<0,001) (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Gruplar arasındaki farklılıklar

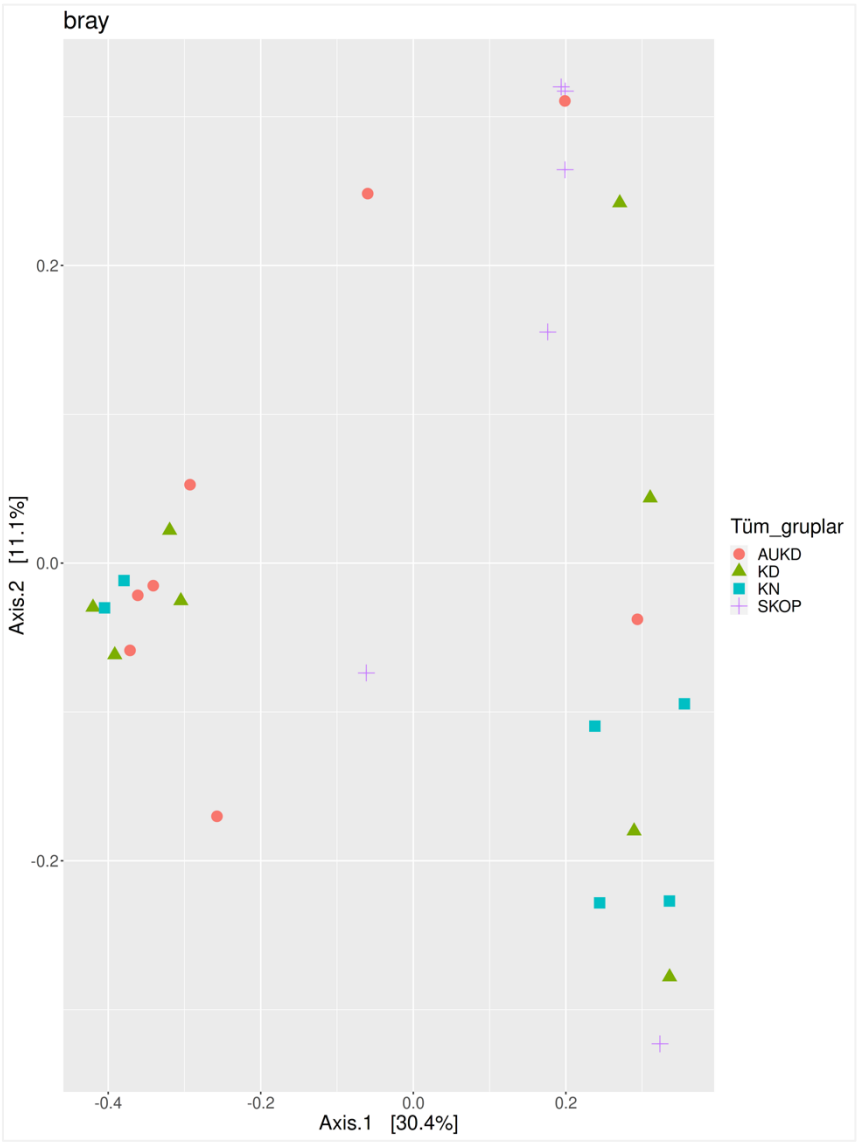
Beta çeşitlilik, temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Jaccard, Bray-Curtis, ağırlıklı ve ağırlıksız Unifrac indeksleri baz alınarak hesaplanmıştır. Bray-Curtis (R^2=5,74; p=0,001), Jaccard (R^2=3,59; p=0,001), ağırlıksız unifrac (R^2=4,78; p=0,001) ve ağırlıklı unifrac (R^2=4,50; p=0,001) mesafe matrisine dayalı PCoA, tüm gruplar için bağırsak mikrobiyal kompozisyonunda anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir (Şekil 4.22). PCoA indekslerine göre, grup içindeki örnekler arasındaki mesafenin daha kısa olduğunu, bu da grup içindeki örneklerin mikrobiyal kompozisyonun benzer olduğunu göstermektedir. Ayrıca, gruplar arasındaki mesafenin de büyük olması, grupların mikrobiyal kompozisyonunun anlamlı derecede farklı olduğunu göstermektedir (PERMANOVA, p = 0,001).

KD ve AUKD grupları arasındaki beta çeşitlilik incelendiğinde, Bray-Curtis (R^2=5,37; p=0,001), Jaccard (R^2=3,53; p=0,001), ve ağırlıksız unifrac (R^2=3,69; p=0,001) mesafe matrisine dayalı PCoA, KD grupları için bağırsak mikrobiyal kompozisyonunda anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir. Ağırlıklı unifrac (R^2=4,78; p=0,001) analizine göre ise istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (R^2=2,76; p=0,061).

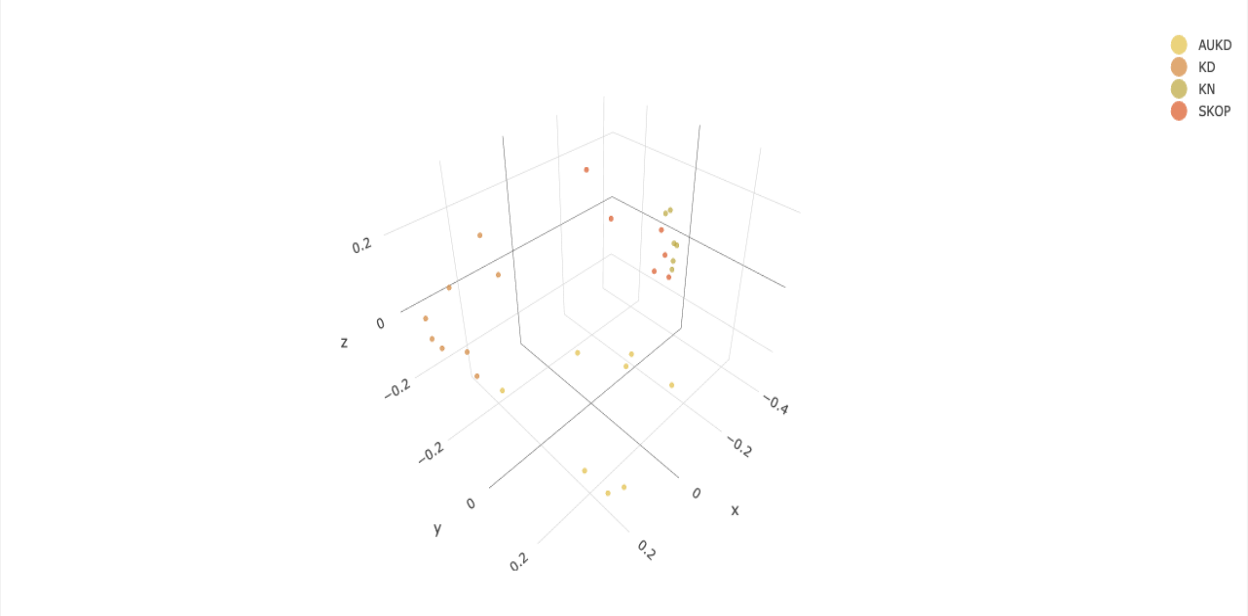
KN ve SKOP grupları arasındaki beta çeşitlilik incelendiğinde ise, Bray-Curtis (R^2=1,81; p=0,039), Jaccard (R^2=1,55; p=0,034), ve ağırlıksız unifrac (R^2=1,67; p=0,048) mesafe

matrisine dayalı PCoA analizi iki grup arasında bağırsak mikrobiyal kompozisyonunda anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Ağırlıklı unifrac (R^2=2,35; p=0,052) analizine göre ise istatistiksel olarak fark saptanmamıştır.

Şekil 4.21 ve 4.22'de temel koordinat analizleri, Bray-Curtis benzerlik indeksine göre sunulmuştur (R^2 = 5,74; p = 0,001). Bray-Curtis, topluluklar arasındaki tür bolluğunu (yoğunluğunu) göz önünde bulundurmaktadır. Bu sonuç, deney gruplarındaki mikrobiyota topluluklarının kompozisyon açısından belirgin farklılıklar taşıdığını ve bu farklılıkların tür yoğunluğu ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

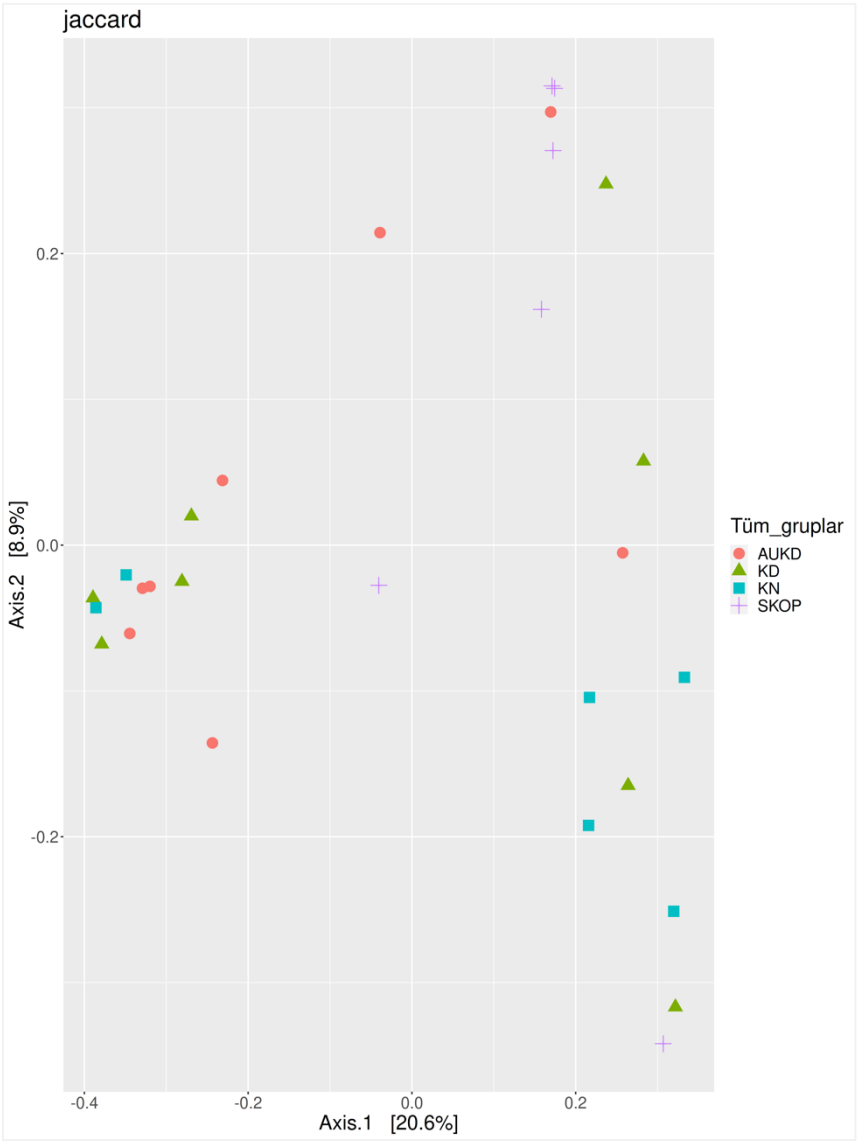


Şekil 4.21. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Bray-Curtis 2 boyutlu gösterimi

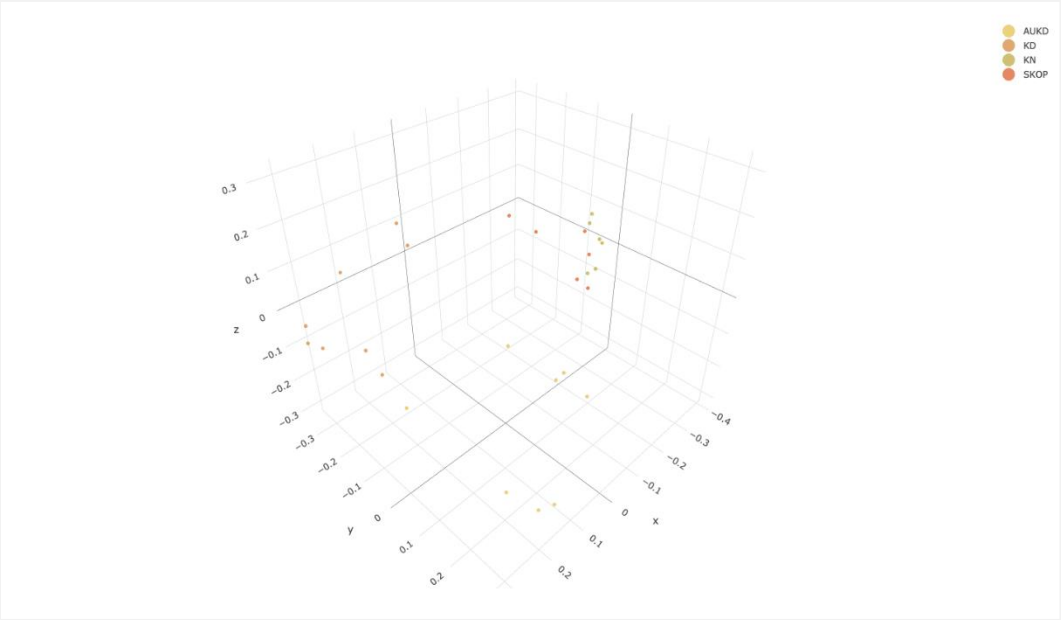


Şekil 4.22. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Bray-Curtis 3 boyutlu gösterimi

Şekil 4.23 ve 4.24'te Jaccard benzerlik indeksine göre temel koordinat analizleri (PCoA) sunulmuştur (R^2 = 3,53; p = 0,001). Jaccard analizinin sonuçları, deney gruplarının kompozisyonel olarak farklılaştığını ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

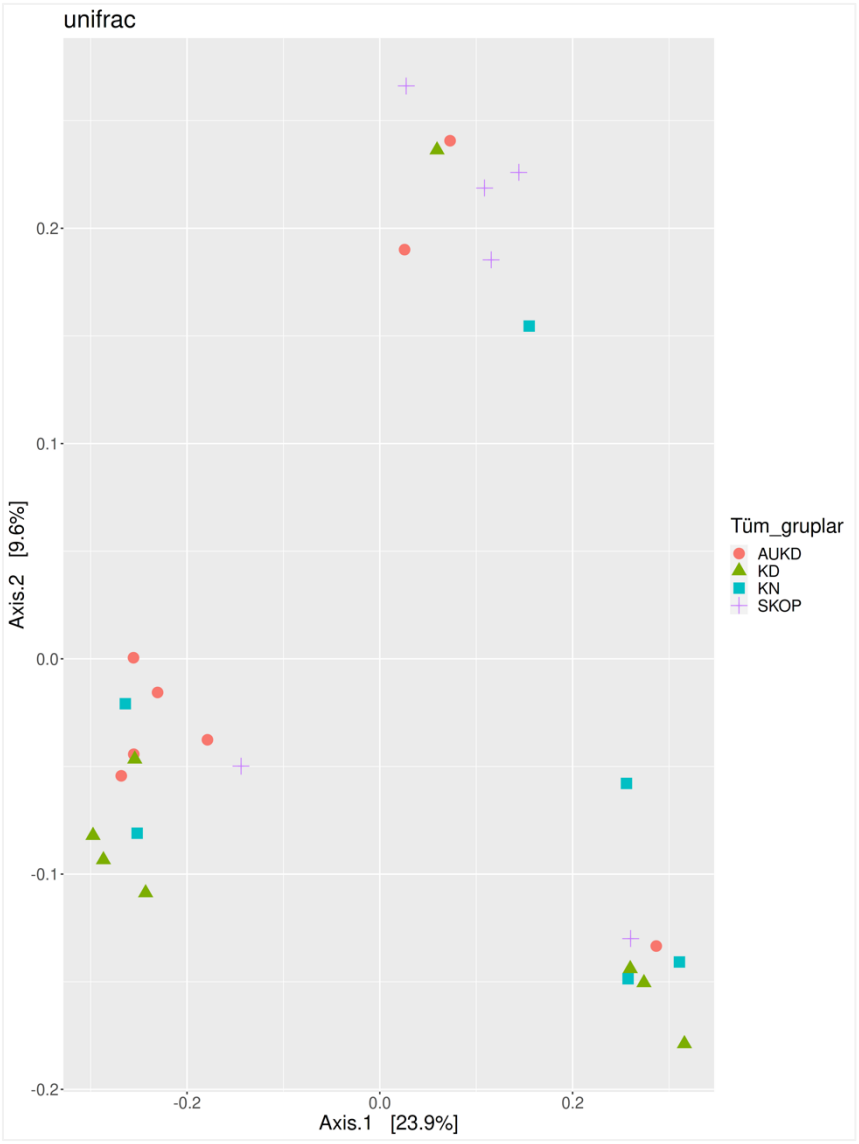


Şekil 4.23. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Jaccard 2 boyutlu gösterimi

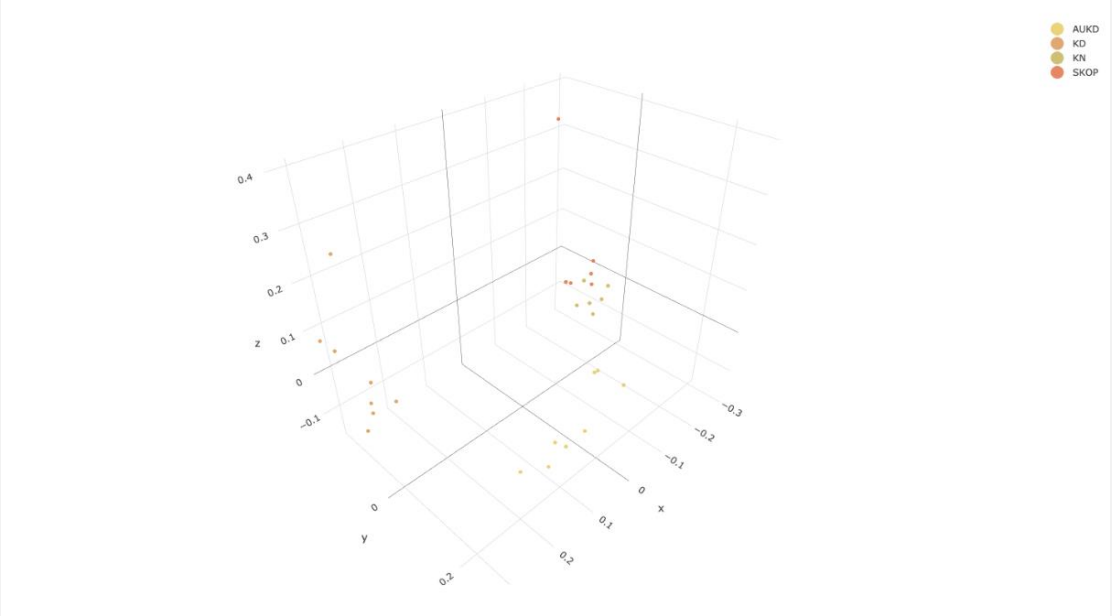


Şekil 4.24. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Jaccard 3 boyutlu gösterimi

Şekil 4.25 ve 4.26'da ağırlıksız (unweighted) UniFrac uzaklıkları gösterilmektedir (R^2 = 4,78; p = 0,001). Ağırlıksız UniFrac analizi, sadece türlerin varlık/yokluk durumunu değerlendirerek gruplar arasındaki filogenetik uzaklıkları hesaplamaktadır. Bu analiz sonucunda, deney gruplarındaki mikrobiyal toplulukların filogenetik olarak belirgin bir şekilde ayrıştığı tespit edilmiştir.

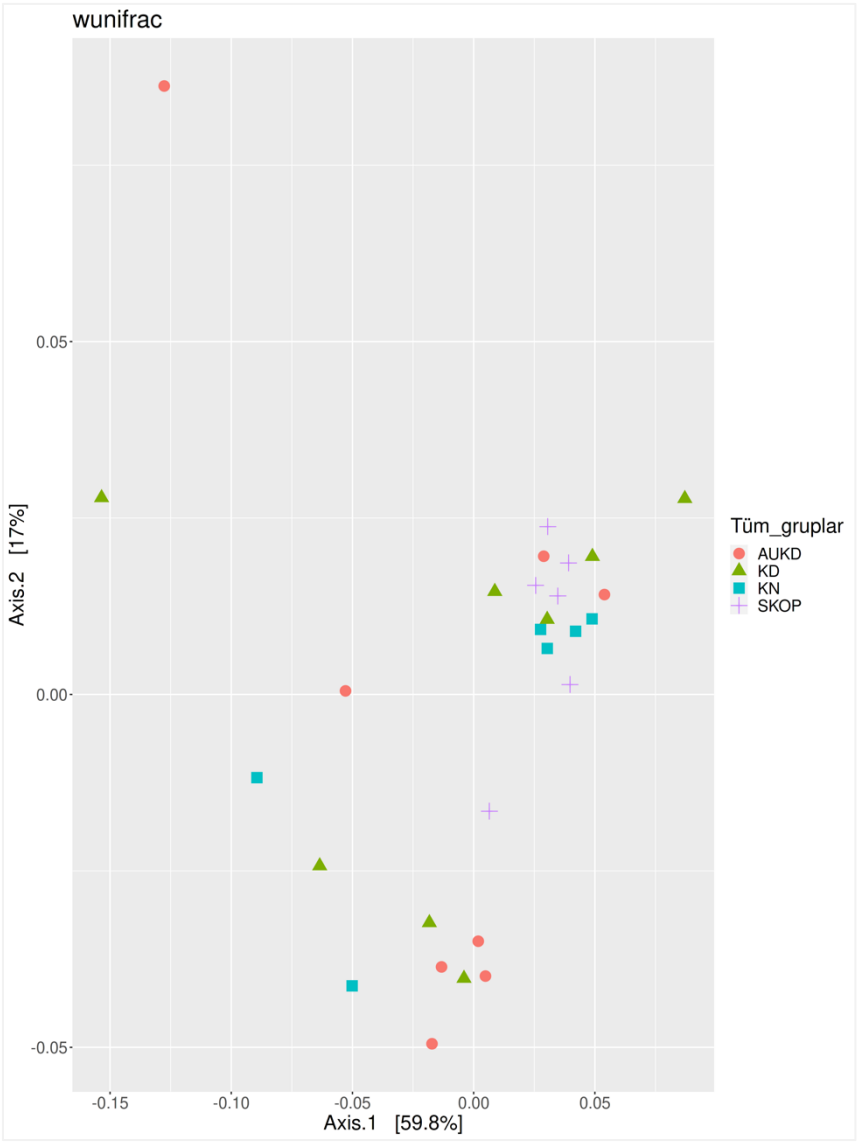


Şekil 4.25. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıksız Unifrac uzaklıkları 2boyutlu gösterimi

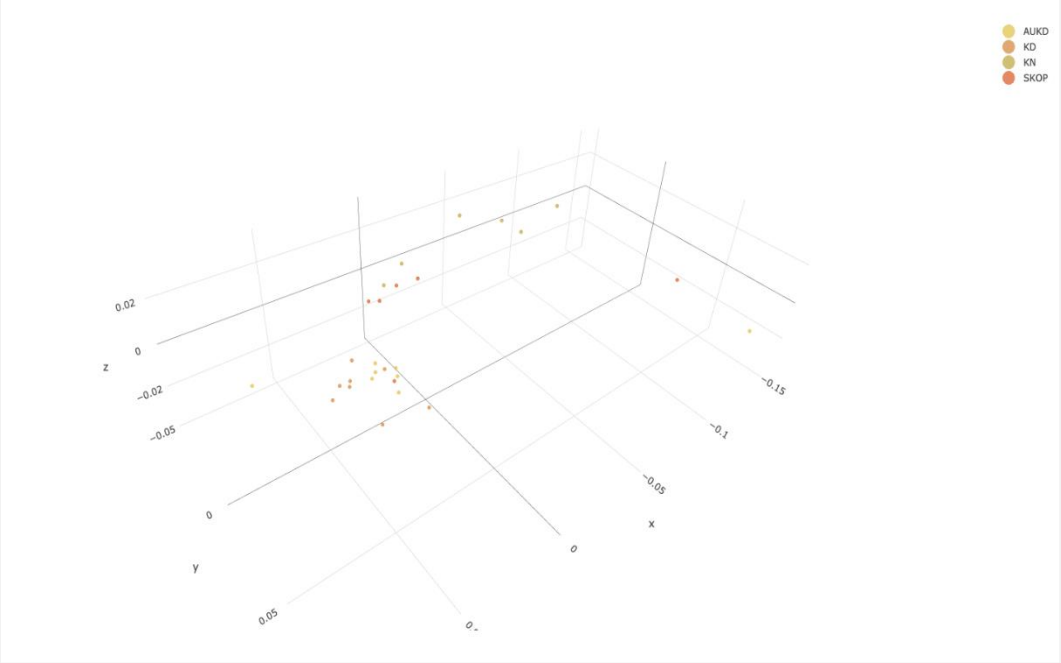


Şekil 4.26. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıksız Unifrac uzaklıkları 3 boyutlu gösterimi

Şekil 4.27 ve 4.28'de ağırlıklı (weighted) UniFrac uzaklıkları gösterilmektedir (R^2 = 4,50; p = 0,001). Ağırlıklı UniFrac analizi, gruplar arasındaki filogenetik uzaklıkları değerlendirirken, türlerin varlığı veya yokluğuna ek olarak türlerin bolluğunu (yoğunluğunu) da dikkate alır. Bu sayede, topluluklardaki baskın türlerin etkisi de analize yansıtılır. Analiz sonucunda, deney gruplarındaki mikrobiyal toplulukların hem filogenetik uzaklık hem de tür yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ayrışma gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgu, gruplar arasındaki mikrobiyal kompozisyonun baskın türlerin dağılımı açısından da farklılık taşıdığını göstermektedir.



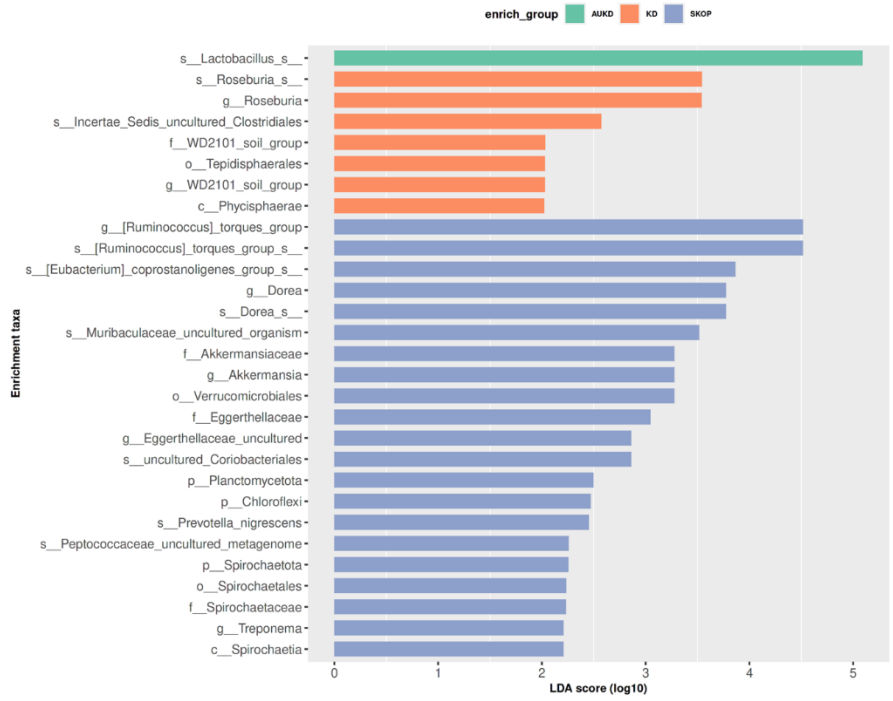
Şekil 4.27. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıklı Unifrac uzaklıkları 2 boyutlu gösterimi



Şekil 4.28. Beta çeşitlilik temel koordinat analizinin (principle coordinates analysis-PCoA) Ağırlıklı Unifrac uzaklıkları 3 boyutlu gösterimi

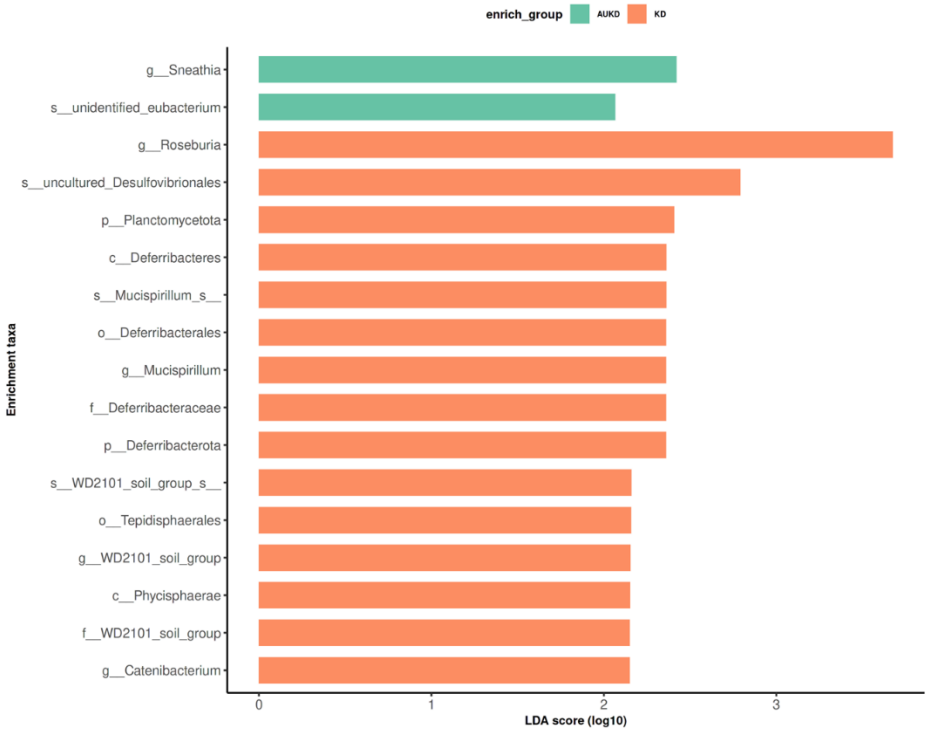
Her gruba özgü olan karakteristik bakterileri belirlemek için doğrusal diskriminant etki büyüklüğü (LEfSe) algoritma yaklaşımı uygulanmıştır (Şekil 4.29). Yapılan analize göre AUKD grubunda *Lactobacillus* (LDA=5,09; p=0,03) türü KD ve SKOP gruplarına göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunduğu ve AUKD grubu için karakteristik bakteriler olduğu belirlenmiştir. Cins ve tür seviyesinde *Roseburia* (LDA=3,53; p=0,03), *Incertae_Sedis_uncultured_Clostridiales* türü (LDA=2,57; p=0,03), aile ve cins düzeyinde *WD2101_soil_group* (LDA=2,02; p=0,04), *Tepidisphaerales* takımı (LDA=2,02; p=0,04), *Phycisphaerae* sınıfı (LDA=2,02; p=0,04) KD grubunda AUKD ve SKOP gruplarına göre daha yüksektir ve KD grubunun karakteristik bakterileridir. Cins ve tür düzeyinde *[Ruminococcus]_torques_group* (LDA=4,51; p=0,04), *[Eubacterium]_coprostanolineges_group* cinsi (LDA=3,86; p=0,03), cins ve tür düzeyinde *Dorea* (LDA=3,77; p=0,04), *Muribaculaceae_uncultured_organism* türü (LDA=3,51; p=0,02), *Akkermansiaceae* ailesi ve *Akkermansia* cinsi (LDA=3,27; p=0,04), *Verrucomicrobiales* takımı (LDA=3,27; p=0,04), *Eggerthellaceae* ailesi (LDA=3,04; p=0,02), *Eggerthellaceae_uncultured* cinsi (LDA=2,85; p=0,04), *uncultured_Coriobacteriales* türü (LDA=2,85; p=0,04), *Planctomycetota* filumu (LDA=2,49; p=0,004), *Chloroflexi* filumu (LDA=2,46; p=0,03), *Prevotella_nigrescens* türü (LDA=2,45; p=0,04), *Peptococcaceae_uncultured_metagenome* türü (LDA=2,25; p=0,04),

filum, order, aile ve sınıf düzeyinde *Spirochaetales* (LDA=2,23; p=0,007) ve *Treponema* cinsi (LDA=2,20; p=0,007) SKOP grubunda AUKD ve KD gruplarına göre daha yüksektir ve SKOP grubunun karakteristik bakterileridir (Şekil 4.29).



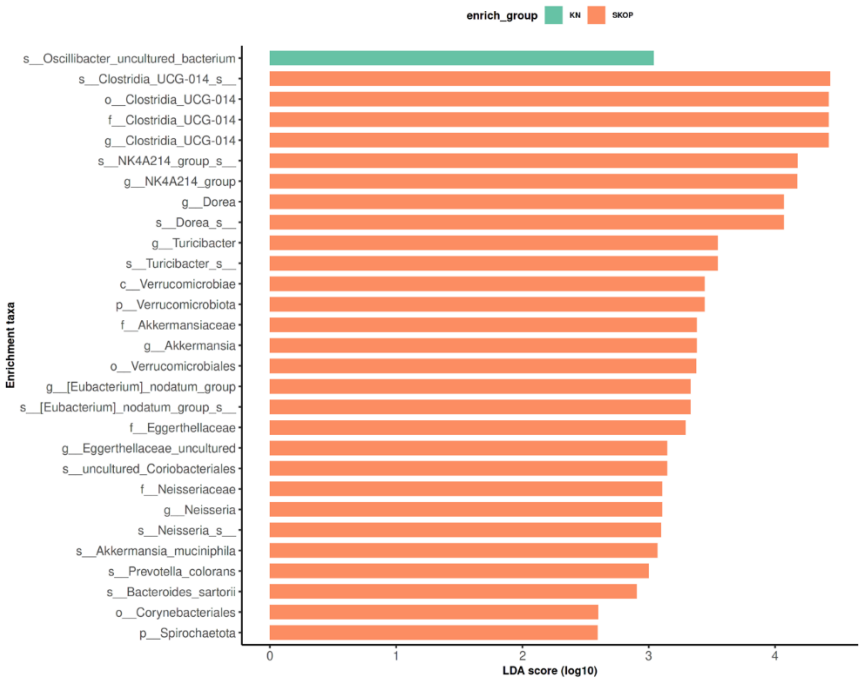
Şekil 4.29. Tüm gruplara ait LEfSe analizi

AUKD ve KD grupları arasında karakteristik olan bakterileri karşılaştırmak için LDA etki büyüklüğü (LEfSe) algoritma yaklaşımı uygulanmıştır (Şekil 4.30). *Sneathia* cinsi (LDA=2,42; p=0,02) AUKD grubunda KD grubuna göre daha yüksektir ve AUKD grubunun karakteristik bakterisi olarak belirlenmiştir. *Roseburia* cinsi (LDA=3,67; p=0,04), *uncultured_Desulfovibrionales* türü (LDA=2,79; p=0,04), *Planctomycetota* filumu (LDA=2,40; p=0,004), *Deferribacteres* sınıfı (LDA=2,36; p=0,02), *Mucispirillum* cins ve türü (LDA=2,36; p=0,02), *Deferribacterales* takımı (LDA=2,36; p=0,02), *Deferribacteraceae* ailesi (LDA=2,36; p=0,02), *Deferribacterota* filumu (LDA=2,36; p=0,02), tür, cins ve aile düzeyinde *WD2101_soil_group* (LDA=2,15; p=0,01), *Tepidisphaerales* takımı (LDA=2,15; p=0,01), *Phycisphaerae* sınıfı (LDA=2,15; p=0,01), *Catenibacterium* cinsi (LDA=2,14; p=0,02) KD grubunda AUKD grubuna göre daha yüksektir ve KD grubunun karakteristik bakterileri olarak belirlenmiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Ketojenik Diyet gruplarına ait LEfSe analizi

KN ve SKOP grupları arasında karakteristik olan bakterileri belirlemek için LDA etki büyüklüğü (LEfSe) algoritma yaklaşımı uygulanmıştır (Şekil 4.31). *Oscillibacter_uncultured_bacterium* türü (LDA=3,03; p=0,02) KN grubunda SKOP grubuna göre daha fazla olduğu ve KN grubu için karakteristik bakteri olduğu saptanmıştır. Takım, aile, cins ve tür düzeyinde *Clostridia_UCG-014* (LDA=4,43; p=0,03), cins ve tür düzeyinde *NK4A214_group* (LDA=4,17; p=0,02), cins ve tür düzeyinde *Dorea* (LDA=4,06; p=0,016), cins ve tür düzeyinde *Turicibacter* (LDA=3,54; p=0,04), *Verrucomicrobiae* sınıfının (LDA=3,44; p=0,03), Verrucomicrobiota filumun (LDA=3,44; p=0,03), *Verrucomicrobiales* takımının (LDA=3,37; p=0,03), *Akkermansiaceae* ailesinin (LDA=3,37; p=0,03), *Akkermansia* cinsinin (LDA=3,37; p=0,03), *Akkermansia muciniphila* türünün (LDA=3,06; p=0,03), cins ve tür düzeyinde *[Eubacterium]_nodatum_group* (LDA=3,32; p=0,03) , *Eggerthellaceae* ailesi (LDA=3,29; p=0,016), *Eggerthellaceae_uncultured* cinsi (LDA=3,14; p=0,016), *uncultured_Coriobacteriales* türü (LDA=3,14; p=0,016), *Neisseriaceae* ailesi, cins ve tür düzeyinde *Neisseria* (LDA=3,14; p=0,02), *Prevotella_colorans* türü (LDA=2,99; p=0,02), *Bacteroides_sartorii* türü (LDA=2,90; p=0,02), *Corynebacteriales* takımı (LDA=2,59; p=0,03), *Spirochaetota* filumu (LDA=2,59; p=0,02) SKOP grubunda KN grubuna göre daha fazla olduğu ve SKOP grubu için karakteristik bakteriler olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.31. Kontrol ve Skopolamin gruplarına ait LEfSe analizi

4.5. Mikrobiyal Bollukları ile Davranış Testleri ve Antropometrik Ölçümler Arasındaki Korelasyonlar

Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testleri sonuçları arasındaki korelasyonları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Filum düzeyinde, Verrucomicrobiota bolluğu ile hareketsiz kalma süresi arasında orta düzeyde pozitif bir ilişki tespit edilmiştir (r = 0,387, p = 0,041). Benzer şekilde, aile düzeyinde Akkermansiaceae (r = 0,385, p = 0,043) ve Erysipelotrichaceae (r = 0,411, p = 0,029) bolluğu ile hareketsiz kalma süresi arasında da orta düzeyde pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Toplam gezilen mesafe ile mikrobiyal bolluklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05).

Ayırt edicilik indeksi açısından, filum düzeyinde Firmicutes (r = 0,472, p = 0,011) ile pozitif ve Bacteroidota (r =-0,427, p = 0,023) ile negatif orta düzeyde bir ilişki gözlemlenmiştir. Cins düzeyinde ise *Akkermansia* (r = 0,431, p = 0,028) ve *NK4A214_group* (r =-0,402, p = 0,033) ile pozitif, *Alloprevotella* ile negatif orta düzeyde ilişki belirlenmiştir. Eski nesne ile geçirilen süre açısından, aile düzeyinde *Erysipelotrichaceae* (r =-0,412, p = 0,029) bolluğu ile negatif orta düzeyde bir ilişki tespit edilmiştir. Yeni nesne ile geçirilen süreye bakıldığında ise aile düzeyinde *Prevotellaceae* (r = 0,399, p = 0,035) bolluğu ile pozitif, *Erysipelotrichaceae* (r =-0,412, p = 0,029) bolluğu ile negatif orta düzeyde ilişkiler

gözlemlenmiştir. Toplam nesne keşif ile geçirilen süre için bakıldığında aile düzeyinde *Prevotellaceae* (r = 0,420, p = 0,025) ve cins düzeyinde *Phascolarctobacterium* (r=0,461, p=0,013) bolluğu ile pozitif, aile düzeyinde *Erysipelotrichaceae* (r =-0,456, p = 0,014) bolluğu ile negatif orta düzeyde ilişkiler gözlemlenmiştir.

Platforma ulaşma süresi ile mikrobiyal bolluklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05). Hedef kadranda geçirilen süre ile filum düzeyinde Verrucomicrobiota (r = 0,408, p = 0,031), aile düzeyinde *Akkermansiaceae* (r = 0,408, p = 0,031), cins düzeyinde *Prevotella* (r = 0,376, p = 0,048) ve *Akkermansia* (r = 0,394, p = 0,037) bollukları arasında orta düzeyde pozitif ilişkiler bulunmuştur (Şekil 4.32).

Çizelge 4.9. Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testi çıktıları arasındaki korelasyon

	Hareketsiz geçirilen süre		**Toplam gezilen mesafe**		**Ayırt Edicilik İndeksi**		**Eski nesne ile geçirilen süre**		**Yeni nesne ile geçirilen süre**		**Toplam nesne keşif ile geçirilen süre**		**Platforma ulaşma süresi**		**Hedef kadranda geçirilen süre**	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
Filum																
Firmicutes	0,153	0,434	-0,284	0,142	**0,472***	**0,011**	-0,242	0,214	-0,276	0,154	-0,288	0,136	-0,062	0,750	-0,130	0,509
Bacteroidota	-0,188	0,336	0,318	0,098	**-0,427***	**0,023**	0,266	0,169	0,347	0,070	0,342	0,074	0,097	0,621	0,093	0,637
Desulfobacterota	-0,040	0,837	-0,149	0,446	0,079	0,688	0,002	0,988	-0,281	0,147	-0,163	0,406	-0,321	0,095	-0,213	0,276
Actinobacteriota	0,206	0,291	-0,203	0,298	-0,057	0,770	-0,194	0,322	-0,348	0,069	-0,305	0,114	-0,019	0,922	0,162	0,409
Proteobacteria	0,119	0,546	-0,056	0,773	-0159	0,416	-0,151	0,440	-0,185	0,345	-0,187	0,338	0,017	0,928	0,220	0,259
Cyanobacteria	0,347	0,069	-0,258	0,183	**0,398***	**0,035**	-0,256	0,187	-0,112	0,570	-0,199	0,308	0,157	0,423	-0,095	0,628
Fusobacteriota	0,308	0,110	-0,171	0,381	0,269	0,166	-0,188	0,336	0,128	0,513	-0,022	0,908	-0,037	0,848	0,313	0,104
Verrucomicrobiota	**0,387**	**0,041***	-0,251	0,196	**0,384**	**0,043***	-0,236	0,226	0,044	0,823	-0,097	0,622	0,075	0,701	**0,408**	**0,031***
Aile																
Prevotellaceae	-0,284	0,141	0,352	0,066	-0,358	0,060	0,356	0,062	**0,399***	**0,035**	**0,420***	**0,025**	-0,012	0,950	0,089	0,650
Lactobacillaceae	0,198	0,310	-0,213	0,274	0,294	0,128	-0,064	0,743	0,119	0,544	0,036	0,854	-0,095	0,629	0,045	0,819
Lachnospiraceae	-0,012	0,947	-0,172	0,381	0,170	0,385	-0,160	0,415	-0,322	0,093	-0,272	0,160	0,059	0,764	-0,186	0,343

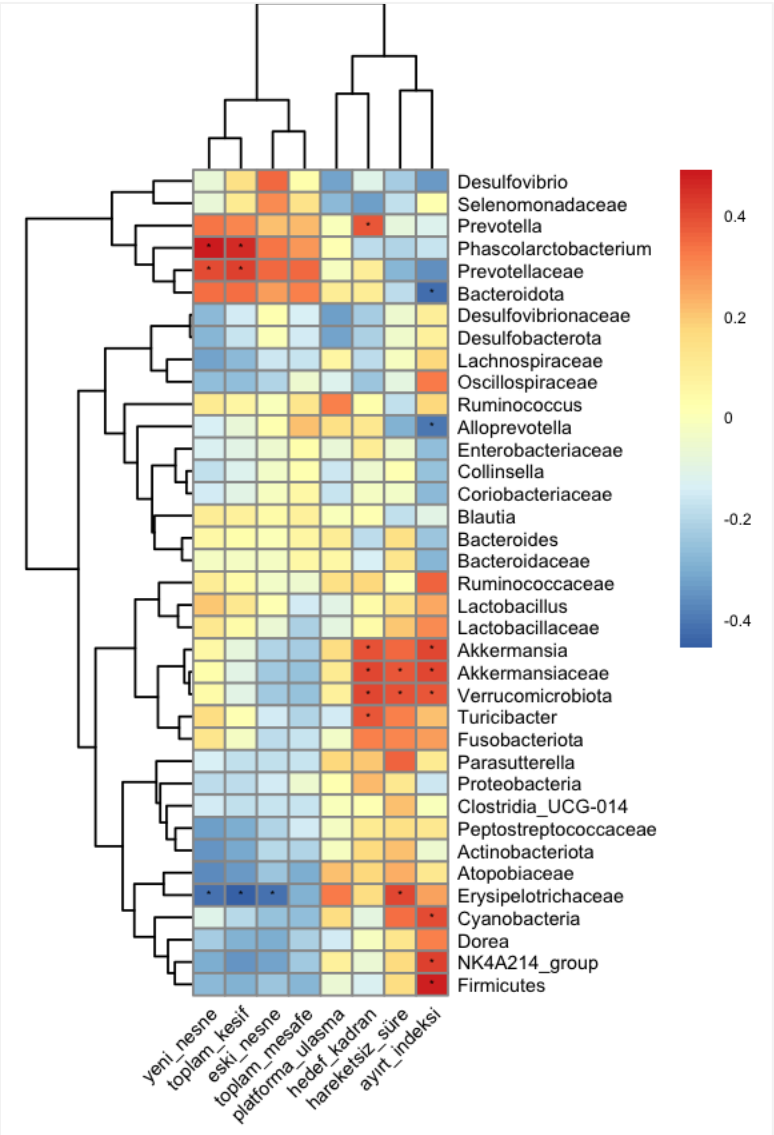
Çizelge 4.9. (devam) Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testi çıktıları arasındaki korelasyon

Bacteroidaceae	0,130	0,508	0,046	0,815	-0,285	0,140	-0,027	0,889	-0,021	0,914	-0,026	0,892	0,052	0,764	-0,138	0,481
Oscillospiraceae	-0,087	0,658	-0,053	0,787	0,328	0,087	-0,204	0,297	-0,265	0,172	-0,261	0,178	-0,116	0,556	-0,246	0,206
Peptostreptococcaceae	0,148	0,450	-0,149	0,447	0,111	0,570	-0,201	0,303	-0,327	0,089	-0,296	0,125	-0,025	0,898	0,105	0,592
Desulfovibrionaceae	-0,052	0,790	-0,140	0,476	0,085	0,666	0,022	0,910	-0,275	0,156	-0,149	0,447	-0,333	0,083	-0,223	0,252
Akkermansiaceae	**0,385***	**0,043**	-0,253	0,192	**0,410***	**0,030**	-0,236	0,225	0,031	0,872	-0,104	0,595	0,105	0,592	**0,408***	**0,031**
Erysipelotrichaceae	**0,411***	**0,029**	-0,292	0,130	0,253	0,192	**-0,412***	**0,029**	**-0,412***	**0,029**	**-0,456***	**0,014**	0,323	0,093	0,157	0,423
Coriobacteriaceae	-0,032	0,867	0,050	0,796	-0,272	0,160	-0,019	0,922	-0,150	0,445	-0,098	0,619	-0,168	0,392	-0,026	0,891
Ruminococcaceae	0,010	0,958	-0,050	0,796	0,363	0,057	-0,035	0,857	0,094	0,632	0,036	0,852	0,146	0,455	0,171	0,382
Atopobiaceae	0,237	0,224	-0,301	0,119	0,118	0,548	-0,239	0,219	-0,370	0,052	-0,341	0,074	0,209	0,284	0,172	0,380
Enterobacteriaceae	-0,053	0,787	-0,033	0,864	-0,262	0,177	-0,054	0,782	-0,131	0,503	-0,105	0,592	-0,070	0,719	0,098	0,616
Selenomonadaceae	-0,175	0,371	0,131	0,503	0,020	0,918	0,293	0,129	-0,077	0,693	0,107	0,585	-0,270	0,163	-0,325	0,090
Cins																
Ruminococcus	-0,181	0,355	0,125	0,525	0,174	0,374	-0,008	0,965	0,109	0,577	0,059	0,761	0,315	0,101	0,034	0,859
Prevotella	-0,083	0,672	0,215	0,270	-0,118	0,546	0,210	0,281	0,330	0,085	0,303	0,116	-0,007	0,970	**0,376***	**0,048**
Parasutterella	0,358	0,060	-0,164	0,401	0,103	0,601	-0,181	0,354	-0,141	0,471	-0,177	0,364	0,174	0,373	0,205	0,293
Desulfovibrio	-0,223	0,253	0,027	0,890	-0,336	0,080	0,352	0,065	-0,068	0,729	0,143	0,465	-0,320	0,096	-0,115	0,559

Çizelge 4.9. (devam) Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testi çıktıları arasındaki korelasyon

Collinsella	0,013	0,946	0,022	0,908	-0,250	0,197	-0,035	0,858	-0,173	0,377	-0,120	0,542	-0,160	0,413	-0,053	0,785
Blautia	-0,174	0,374	0,082	0,676	-0,105	0,593	0,043	0,826	0,095	0,628	0,078	0,690	-0,007	0,970	0,015	0,939
NK4A214_group	0,164	0,403	-0,235	0,228	**0,417***	**0,027**	-0,321	0,095	-0,301	0,118	-0,344	0,072	0,081	0,678	-0,062	0,750
Dorea	0,124	0,529	-0,218	0,264	0,317	0,099	-0,303	0,116	-0,221	0,256	-0,288	0,136	-0,150	0,443	-0,018	0,924
Lactobacillus	0,137	0,483	-0,151	0,440	0,248	0,203	0,007	0,967	0,197	0,314	0,119	0,543	-0,103	0,600	0,044	0,823
Akkermansia	0,352	0,065	-0,226	0,246	**0,413***	**0,028**	-0,209	0,285	0,051	0,794	-0,078	0,689	0,150	0,444	**0,394***	**0,037**
Alloprevotella	-0,289	0,135	0,212	0,278	**-0,402***	**0,033**	0,019	0,920	-0,142	0,470	-0,072	0,712	0,146	0,455	0,119	0,546
Clostridia_UCG-014	0,211	0,280	-0,164	0,403	-0,003	0,985	-0,170	0,385	-0,145	0,460	-0,174	0,375	-0,007	0,970	0,009	0,961
Turicibacter	0,314	0,103	-0,208	0,287	0,213	0,274	-0,150	0,443	0,154	0,433	0,011	0,953	-0,146	0,456	**0,379***	**0,046**
Phascolarctobacterium	-0,205	0,295	0,280	0,148	-0,171	0,383	0,333	0,082	**0,490***	**0,008**	**0,461***	**0,013**	0,013	0,946	-0,188	0,337
Bacteroides	0,145	0,458	0,058	0,765	-0,247	0,203	0,006	0,973	0,046	0,814	0,030	0,877	0,095	0,627	-0,189	0,335

Verilerin analizinde Pearson korelasyon testi yapılmıştır. Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık *p<0,05 olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.



Şekil 4.32. Ratların mikrobiyal bollukları ile davranış testi çıktıları arasındaki korelasyon (Pearson korelasyon, *p<0,05)

Ratların mikrobiyal bollukları ile antropometrik ölçümleri arasındaki korelasyon Çizelge 4.10'da verilmiştir. Ratların son vücut ağırlığı ile cins düzeyinde *Ruminococcus* (r = 0,388, p = 0,040) ve *Prevotella* (r = 0,444, p = 0,017) bollukları arasında orta düzeyde pozitif ilişkiler bulunmuştur (Şekil 4.30). Ratların çalışma boyunca ortalama ağırlık kazanımı ile cins düzeyinde *Ruminococcus* (r = 0,443, p = 0,018) bolluğu arasında orta düzeyde pozitif, *Phascolarctobacterium* (r =-0,388, p = 0,040) bolluğu arasında ise negatif orta düzeyde ilişki saptanmıştır.

Beyin organ ağırlığının vücut ağırlığına oranı ile *NK4A214* (r=-0,422, p=0,025) ve *Clostridia_UCG-014* (r=-0,505, p=0,006) bollukları arasında negatif orta düzeyde ilişki belirlenmiştir. Karaciğer organ ağırlığının vücut ağırlığına oranı ile cins düzeyinde *Ruminococcus* (r=-0,377, p=0,047) ve *Prevotella* (r=-0,406, p=0,032) bolluğu arasında orta düzeyde negatif yönlü, *Phascolarctobacterium* (r=0,381, p=0,045) ile orta düzeyde pozitif yönlü ilişki gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Ratların mikrobiyal bollukları ile antropometrik ölçümleri arasındaki korelasyon

	Son vücut ağırlığı		**Ortalama vücut ağırlık artışı**		**Beyin(%VA)**		**Karaciğer(%VA)**	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
Filum								
Firmicutes	0,090	0,647	0,045	0,819	-0,217	0,267	-0,001	0,995
Bacteroidota	-0,007	0,968	0,023	0,904	0,214	0,273	-0,079	0,687
Desulfobacterota	-0,116	0,554	-0,107	0,585	-0,092	0,637	0,213	0,274
Actinobacteriota	-0,287	0,138	-0,222	0,255	-0,055	0,778	0,292	0,131
Proteobacteria	-0,107	0,587	-0,118	0,547	0,055	0,778	0,035	0,856
Cyanobacteria	-0,134	0,493	-0,132	0,500	-0,170	0,387	0,074	0,705
Fusobacteriota	-0,116	0,553	-0,139	0,479	-0,089	0,651	0,156	0,427
Verrucomicrobiota	-0,084	0,667	-0,104	0,595	-0,132	0,502	0,110	0,575
Aile								
Prevotellaceae	0,142	0,469	0,141	0,473	0,209	0,283	-0,182	0,352
Lactobacillaceae	0,340	0,076	0,270	0,163	-0,043	0,824	-0,301	0,118
Lachnospiraceae	-0,131	0,506	-0,104	0,596	-0,077	0,695	0,254	0,190
Bacteroidaceae	-0,328	0,087	-0,263	0,175	0,126	0,520	0,271	0,161
Oscillospiraceae	0,053	0,785	0,043	0,827	-0,317	0,099	-0,032	0,869
Peptostreptococcaceae	0,02	0,887	-0,008	0,967	0,052	0,791	-0,103	0,598
Desulfovibrionaceae	-0,091	0,642	-0,086	0,661	-0,092	0,639	0,192	0,326
Akkermansiaceae	-0,052	0,790	-0,071	0,717	-0,143	0,465	0,080	0,682
Erysipelotrichaceae	-0,232	0,234	-0,214	0,273	-0,121	0,585	0,183	0,348
Coriobacteriaceae	-0,126	0,520	-0,059	0,762	0,107	0,584	0,095	0,627
Ruminococcaceae	0,286	0,139	0,303	0,115	-0,079	0,686	-0,231	0,235
Atopobiaceae	-0,289	0,134	-0,251	0,195	-0,212	0,276	0,324	0,092
Enterobacteriaceae	-0,106	0,590	-0,131	0,506	0,028	0,887	0,044	0,820
Selenomonadaceae	0,208	0,286	0,215	0,270	-0,114	0,562	-0,154	0,432
Cins								
Ruminococcus	0,388	**0,040***	0,443	**0,018***	-0,020	0,915	-0,377	**0,047***
Prevotella	0,444	**0,017***	0,371	0,051	-0,057	0,770	-0,406	**0,032***
Parasutterella	-0,007	0,968	0,017	0,927	0,137	0,484	-0,034	0,862
Desulfovibrio	0,145	0,459	0,153	0,435	0,248	0,202	-0,073	0,711

Çizelge 4.11. (devam) Ratların mikrobiyal bollukları ile antropometrik ölçümleri arasındaki korelasyon

Collinsella	-0,134	0,496	-0,068	0,730	0,097	0,620	0,094	0,632
Blautia	-0,260	0,181	-0,265	0,172	0,280	0,148	0,288	0,136
NK4A214_group	-0,265	0,171	-0,266	0,170	-0,422	**0,025***	0,297	0,123
Dorea	-0,138	0,481	-0,161	0,411	-0,296	0,125	0,217	0,265
Lactobacillus	0,345	0,071	0,280	0,148	-0,024	0,900	-0,302	0,117
Akkermansia	-0,016	0,932	-0,030	0,875	-0,137	0,485	0,04	0,824
Alloprevotella	-0,086	0,662	0,005	0,977	0,323	0,093	0,057	0,772
Clostridia_UCG-014	-0,204	0,297	-0,202	0,301	-0,505	**0,006***	0,226	0,246
Turicibacter	-0,076	0,699	-0,114	0,561	-0,131	0,504	0,060	0,759
Phascolarctobacterium	-0,366	0,054	-0,388	**0,040***	0,076	0,700	0,381	**0,045***
Bacteroides	-0,337	0,078	-0,283	0,144	0,072	0,713	0,274	0,158

Verilerin analizinde Pearson korelasyon testi yapılmıştır. Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir.
İstatistiksel anlamlılık *p<0,05 olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Beslenme ve diyet müdahaleleri, bağırsak-beyin ekseni aracılığıyla BB ve AH gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için umut verici stratejiler olarak görülmektedir. Orta düzey bilişsel bozukluk oluşturulan ratlarda KKD ve AUKD'in bağırsak mikrobiyotası ve bilişsel fonksiyon ile ilişkisini incelemeyi amaçlayan bu çalışmanın sonuçları, "Vücut ve Organ Ağırlıkları, Yem Tüketimleri ve Enerji ve Besin Öğesi Alımlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi", "Davranış Testlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi" ve "Bağırsak Mikrobiyata Analizlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi" başlıkları altında tartışılmıştır.

5.1. Vücut ve Organ Ağırlıkları, Yem Tüketimleri ve Enerji ve Besin Öğesi Alımlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Oluşturulan nörodejeneratif hastalık modeli ve diyet müdahalesine bağlı olarak, deney hayvanlarının vücut ağırlıkları ve vücut ağırlık kazanımları farklılık gösterebilir. Ketojenik diyetin vücut ağırlığı kazanımı üzerindeki etkisini inceleyen hayvan çalışmalarında farklı sonuçlar elde edilmiştir [11, 85]. Klasik ketojenik diyetin enerji yoğunluğu daha yüksek olmasına rağmen, yapılan bir çalışmada ketojenik diyetle beslenen deney hayvanlarının standart kemirgen yemi ile beslenenlere kıyasla vücut ağırlığı kaybettiği [11], başka bir çalışmada ise fark olmadığı [85] bildirilmiştir. Bu çalışmada, kontrol grupları (KN ve SKOP) ile farklı tip ketojenik diyet (AUKD ve KD) uygulanan grupların haftalık ortalama ağırlık kazanımları değerlendirildiğinde, 9 haftalık diyet müdahalesi boyunca AUKD ve KD gruplarının, KN ve SKOP gruplarına kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek vücut ağırlık kazanımının olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.2). Bu durumun AUKD (5,99 kkal/g) ve KD (7,5 kkal/g) yemlerinin enerji yoğunluğunun standart kemirgen yemine (3,80 kkal/g) göre daha yüksek olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Transgenik Alzheimer hastalığı modeli üzerinde yapılan bir çalışmada, 12 hafta boyunca batı diyeti veya AUKD uygulanan farelerde, batı diyeti grubunda daha yüksek karaciğer ağırlığı, yağ birikimi ve serum lipoprotein seviyesi gözlemlenmiştir. Buna karşılık, AUKD uygulanan farelerin vücut ağırlık artışı batı diyeti grubuyla benzer olmasına rağmen, daha düşük karaciğer organ ağırlığı ve yağ kütlesine sahip oldukları belirlenmiştir. Bu durum, AUKD'nin batı diyetine kıyasla vücut ağırlığında kayıp olmaksızın hepatosteatoza karşı

koruma sağladığını göstermektedir [15]. Benzer şekilde bu çalışmada da AUKD beslenen grubun KD ve kontrol gruplarına kıyasla daha düşük karaciğer ağırlığına ve karaciğer vücut ağırlığı oranına sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3). Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet grubunun diğer gruplara göre daha fazla ağırlık kazanımı göstermesine rağmen daha düşük karaciğer ağırlığına sahip olması, bu diyetin hepatosteatoza karşı koruyucu olabileceği sonucunu desteklemektedir.

Yapılan bir çalışmada, 15 haftalık klasik KD müdahalesi yapılan farelerin kontrol grubuna (3,79 kkal/g) kıyasla daha yüksek enerji alımına (7,24 kkal/g) rağmen vücut ağırlığında azalma olduğu ve haftalar geçtikçe vücut ağırlığı kaybının daha belirgin hale geldiği gözlemlenmiştir [11]. Bunun yanı sıra, KD ve standart diyetle beslenen Alzheimer modeli ratlarda yapılan bir başka çalışmada, vücut ağırlığı artışı ve günlük besin alımı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirtilmiştir [85]. Bu çalışmada, KN (20,4 g/gün) ve SKOP (20,9 g/gün) gruplarının günlük yem tüketiminin (g/gün) AUKD (14,4 g/gün) ve KD (10,2 g/gün) gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$) (Şekil 4.2). Bununla birlikte, SKOP ve KN grupları arasında haftalık ortalama vücut ağırlıkları ve ağırlık kazanımları açısından anlamlı bir farkın olmaması, orta düzey bilişsel bozukluk durumunun besin alımı ve vücut ağırlığını olumsuz etkilemediğini düşündürmektedir. Enerji alımı açısından değerlendirildiğinde ise AUKD grubunun KD grubuna göre daha yüksek enerji alımına sahip olduğu bulunmuştur ($p <0,05$) (Şekil 4.4). Bu durum enerji yoğunluğunun fazla olmasına rağmen KD yeminin tüketimindeki zorluk nedeniyle alımın azalmasından kaynaklı olabilir.

Bu çalışmada, besin öğesi alımları incelendiğinde, AUKD grubunda enerjinin %60'ının, KD grubunda ise %84'ünün yağlardan sağlandığı belirlenmiştir. AUKD grubunda baskın yağ kaynağı zeytinyağı (%76,29/toplam yağ) iken, KD grubunda başlıca yağ kaynakları tereyağı (%47,63/toplam yağ) ve domuz yağıdır (47,63/toplam yağ). Yağ profili incelendiğinde, AUKD grubunun diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek omega-9 ve omega-3 alımına sahip olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Ayrıca, AUKD modeline, AD beslenme düzenine uyum sağlamak amacıyla resveratrol ve inulin eklenmiş olup, bu durum KD ve standart kemirgen yemi tüketen gruplardan farklılık göstermektedir. Posa alımı açısından bakıldığında, AUKD grubunun KD grubuna göre daha fazla posa alımına sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). AUKD modelinde enerjinin %30'u proteinlerden sağlanırken, KD'de bu oran %16'dır. AUKD modelinde protein kaynağı olarak AD beslenmesine uyumlu

şekilde balık proteini izolatı kullanılırken, KD grubunda ise kazein ve sığır proteini tercih edilmiştir.

5.2. Davranış Testlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Farklı yöntemlerle bilişsel bozukluk oluşturulan deney hayvanlarında, mekânsal hafızanın olumsuz etkilendiği gösterilmiştir [85, 113, 114]. Stres durumu sonrasında beyinde glikoz metabolizmasının bozulduğu ve bu durumun BB ile ilişkili olduğu, bu nedenle beyin için daha verimli enerji kaynaklarına ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. Brownlow ve arkadaşları, kronik stres altında olan ratlarda KD'nin, keton takviyesinin ve standart diyetin etkilerini sağlıklı ratlarla karşılaştırmışlardır. Morris su testine göre KD ile beslenen ratların diğer gruplara göre özellikle dördüncü gün denemesinde daha kısa sürede platforma ulaştığını ve strese bağlı bilişsel bozuklukta iyileşme olduğunu göstermişlerdir ($p<0,05$) [113]. Ketojenik diyetin BB üzerindeki etkisini araştıran başka bir çalışmada, hipokampüse ß amiloid uygulanmış fareler ve sağlıklı fareler dört farklı gruba ayrılmıştır. Bu gruplara 8 hafta boyunca ketojenik diyet (AH-KD), aralıklı açlık (AH-IMF), %30 yağ içeren bir diyet (AH-KON), veya yüksek karbonhidrat (nişasta) içeren bir diyet (AD-CHO) uygulanmıştır. Mekansal hafızayı değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen MWM testi sonuçlarına göre, dördüncü denemede AH-KD grubunun platforma ulaşma süresinde anlamlı bir gelişme olmadığı, ancak AH-IMF grubunun sağlıklı grupla benzer sürelerde platforma ulaştığı belirtilmiştir. Ayrıca, hedef kadranda en az süreyi AH-KD grubunun harcadığı belirlenmiştir [85]. Hipoksi kaynaklı BB üzerine yapılan çalışmada ise, MWM testi sonuçları, KD'nin standart diyete göre ratlarda mekansal öğrenmeyi geliştirdiğini ve BB için iyileşme sağladığını göstermiştir [110]. Ketojenik diyetin beyin için alternatif bir enerji kaynağı sağlayarak ve antiinflamatuar etkiler göstererek bilişsel işlevin iyileşmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada skopolamin ile indüklenen bilişsel bozukluk durumunda farklı tip ketojenik diyetlerin mekânsal hafıza üzerine etkisini değerlendirmek için MWM testi kullanılmıştır. Dokuz haftalık diyet müdahalesi sonunda MWM testi için yapılan dört günlük denemenin üçüncü ve dördüncü gün denemesinde SKOP grubunun diğer gruplara göre platforma ulaşma süresinin daha uzun olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Buna göre SKOP grubunun mekânsal hafıza ve öğrenme davranışında bir gelişme olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada dördüncü gün denemesinde ise AUKD grubunun diğer gruplara en kısa sürede platforma

ulaştığı belirlenmiştir ($p<0,05$). AUKD grubunun günler içindeki performansı karşılaştırıldığında ise, dördüncü gün platforma ulaşma süresinin ilk güne göre anlamlı şekilde daha kısa olduğu saptanmıştır ($p <0,05$) (Şekil 4.6). Bu sonuçlar, BB olmasına rağmen AUKD grubunun MWM testine göre mekânsal hafıza ve öğrenme davranışında hem günler içinde hem de diğer gruplara kıyasla önemli gelişmeler gösterdiğini ortaya koymaktadır. KD grubu platforma ulaşma süresi AUKD grubundan sonra diğer gruplara göre en kısa olan gruptur. Ancak AUKD grubundaki gibi diğer gruplara göre belirgin bir fark görülmemiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.6). Ayrıca, grupların hedef kadranda geçirdikleri sürelerin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.7). Yapılan çalışmalarda, BB oluşturulan deney hayvanlarında MWM testi sonuçları, KD'nin mekânsal hafızayı ve öğrenme davranışını geliştirdiğini göstermiştir [113, 115]. Ancak, BB ve AH modeli hayvanlarda AUKD'nin MWM ile mekânsal hafıza ve öğrenme davranışı üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Çalışma verileri BB olan ratlarda AUKD'nin diğer gruplara göre mekânsal hafıza ve öğrenme davranışında önemli gelişmeler sağlayabileceğine dikkat çekmektedir.

Yeni nesne tanıma testi, ratlarda öğrenme ve hafıza ile ilişkili davranışların değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Alzheimer Hastalığı deneysel hayvan modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada, batı diyeti ile AUKD modellerinin nesne tanıma ve ayırt edicilik indeksi ile bilişsel fonksiyon üzerine etkisi incelenmiştir. Gruplar arasında ayırt edicilik indeksinde istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadığı, ancak AUKD ile beslenen ratların hem tanıdık hem de yeni nesneler için daha fazla keşif eğilimi gösterdiği belirtilmiştir [15]. Başka bir çalışmada ise, kronik stres altında olan ratlarda kısa süreli belleği değerlendirmek için uygulanan NORT sonuçlarına göre, KD grubunun standart diyet ile beslenen gruba göre yeni nesne için daha fazla keşfetme eğilimi gösterdiği bulunmuştur ($p<0,05$) [113]. Benzer şekilde, hipoksi kaynaklı BB oluşturulan yaşlı ratlarda, KD ile beslenen grubun standart diyetle beslenen gruba göre nesne tanıma testinde nesne keşfi için daha çok zaman harcadıkları belirlenmiştir [116]. Yaşlanmaya bağlı BB durumunda KD'nin etkilerini değerlendiren bir başka çalışmada ise, KD'nin ayırt edicilik indeksinde standart diyete göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmadığı gösterilmiştir [112]. Bu çalışmada tüm grupların yeni nesne ile eski nesneye göre daha fazla zaman geçirdiği gözlemlenmiştir ($p>0,05$), ancak AUKD grubunda bu fark daha belirgin düzeydedir (Şekil 4.8). Ratların nesne tanıma ve ayırt etme yeteneğini gösteren ayırt edicilik indeksi

karşılaştırıldığında ise, gruplar arasında sonuçların benzer olduğu saptanmıştır ($p>0,05$, Şekil 4.9). Bu nedenle çalışmada uygulanan skopolaminin ratlarda görsel tanıma belleğinde belirgin bir bozukluğa yol açmadığı, ancak daha uzun süre maruziyet ile olumsuz etkilerin ortaya çıkabileceği söylenebilir.

5.3. Bağırsak Mikrobiyata Analizlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Sınırlı sayıda çalışmada, BB sebebiyle bağırsak mikrobiyata kompozisyonunda farklılıklar olabileceği gösterilmiştir [37, 115, 117]. Ancak, bağırsak mikrobiyata kompozisyonunun OBB ve AH ile ilişkisini açıklayan mekanizmalar henüz net olarak ortaya konulamamıştır. OBB ve AH ile sağlıklı kontrollerin bağırsak mikrobiyatasını karşılaştıran insan ve hayvan çalışmalarında farklı sonuçlar elde edilmiştir [37, 115, 117]. Yapılan çalışmalarda, skopolamin ile BB oluşturulan gruplarda α çeşitliliğinin, bilişsel olarak normal gruplara göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir [118, 119]. Orta düzey bilişsel bozukluğu olan, AH ve sağlıklı bireyleri bağırsak mikrobiyata çeşitliliği (Shannon İndeksi) açısından karşılaştıran bir başka çalışmada ise, OBB olan bireyler ile sağlıklı bireyler arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Ancak, AH olan bireylerde α çeşitlilik, sağlıklı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) [37]. Bu çalışmada, Bray-Curtis, Jaccard ve ağırlıksız unifrac mesafe matrisine dayalı PCoA analizi sonucuna göre, SKOP ile KN arasında bağırsak mikrobiyata kompozisyonu açısından farklılık olduğu ($p<0,05$) ve SKOP grubunun KN grubuna kıyasla α çeşitliliğinin daha düşük olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17). Bu sonuçlar bilişsel bozukluğu olan grupta mikrobiyota bolluk ve çeşitliliğin sağlıklı olanlara göre farklılık göstereceği hipotezimizi destekler niteliktedir.

Bilişsel bozukluk ve bilişsel olarak normal durumlar arasındaki bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu filum düzeyinde karşılaştıran çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir [119-121]. Bilişsel bozukluğu olan, AH ve bilişsel olarak normal bireylerin bağırsak mikrobiyata kompozisyonunun karşılaştırıldığı bir çalışmada, filum düzeyinde BB olan grupta Firmicutes (+%3,3 BB ve +% 6,3 AH) ($p > 0,05$) ve *Actinobacteria* (+%78 BB ve +%61 AH) ($p < 0,05$) bolluğunda bir artış gözlenmiştir [120]. Bu çalışmada BB olmasına rağmen, AUKD grubunda *Actinobacteria* filumunun görece bolluğu diğer gruplara kıyasla (%1,74 AUKD, %3,45 KN, %4,33 KD, %5,09 SKOP) daha düşük bulunmuştur, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ayrıca, Firmicutes bolluğu SKOP

grubunda diğer gruplara göre (%41,87 KN, %57,15 SKOP, %49,07 KD, %52,86 AUKD) istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksektir (p>0,05) (Şekil 4.11). Yapılan bir çalışmada, SKOP ile BB oluşturulan grupta *Bacteroidetes*'in göreceli bolluğu ve Bacteroidetes/Firmicutes oranı sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur [119]. Lipopolisakkarit ile indüklenen BB modeli ile kontrol grubunun bağırsak mikrobiyata kompozisyonunu karşılaştıran bir çalışmada da *Proteobacteria* bolluğu, BB grubunda istatistiksel olarak fazla bulunmuştur (p<0,05) [117]. *Fusobacterium, Fusobacteriaceae, Fusobacteriales, Fusobacteria* ve *Fusobacteriota*'nın major depresif bozukluk ve multipl skleroz gibi beyin ve sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkilendirildiği bildirilmiştir [122, 123]. Bu çalışmada gruplar arasında Firmicutes, Bacteroidota, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* bollukları açısından istatistiksel olarak fark bulunmamış, ancak *Fusobacteriota* bolluğunun SKOP grubunda AUKD ve KN gruplarına istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0,05) (Şekil 4.11). Anaerobik ve gram-negatif bir bakteri olan *Fusobacterium*'un bağırsak-beyin bariyeri patofizyolojisiyle olan nedensel ilişkisi henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da bu bulgu bilişsel bozuklukta diyet müdahalesi ile *Fusobacterium* bolluğu arasındaki potansiyel ilişkinin önemine işaret etmektedir.

Yıldırım ve arkadaşlarının 27 OBB, 27 AH ve 51 sağlıklı kontrolün bağırsak mikrobiyata kompozisyonunu karşılaştırdığı bir çalışmada, OBB ve AH olan bireylerde *Prevotella* ve *Bacteroides* cinslerinin bolluğunun istatistiksel olarak sağlıklı kontrollere göre yüksek, *Roseburia, Lactobacillus* ve *Fusicatenibacter* bolluğunun ise daha düşük olduğu gösterilmiştir (p<0,05) [115]. Bu çalışmada KD grubunda *Roseburia,* AUKD grubunda ise *Lactobacillus* cinsinin bolluğu BB olmasına rağmen diğer gruplara göre yüksek bulunmuş ve LEfSe analizine göre bu grupların karakteristik bakterileri olarak belirlenmiştir. Bu sonuç BB ve AH'da azalan bu cinslerin farklı ketojenik diyet çeşitleri ile modülasyonu sağlanarak bilişsel bozukluk için etkili bir strateji olabileceğini düşündürmektedir. Başka bir çalışmada ise, sağlıklı kontrollere kıyasla, bilişsel bozukluk grubu *Oligella, Psychrobacter, Staphylococcaceae* ve *Enterococci* gibi zararlı bakterilerin bolluğu istatistiksel olarak daha yüksek iken *Prevotella, Lactobacillus, Bacteroides* ve *Alistipes* bolluğu ise istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur (p<0,05) [121]. Yapılan bir çalışmada AH'da *Bacteroidetes*'in bolluğunda artış belirtilirken [124], başka bir çalışmada AH'da *Bacteroidetes*'in bolluğunda azalma olduğu gösterilmiştir [36]. AH'nın prodromal evresindeki bağırsak mikrobiyotasını inceleyen bir çalışmada, *Bacteroidetes* bolluğunun

amnestik OBB olan bireylerde önemli ölçüde arttığı ancak AH'da normal seviyede olduğunu göstermişlerdir [37]. Başka bir çalışmada da AH'nın preklinik evresindeki bireylerde *Bacteroidetes* filumunun bolluğunda artış olduğu gösterilmiştir [125]. *Bacteroidetes* gibi gram negatif bakterilerin hücre zarında bulunan lipopolisakkaritler, kan dolaşımına geçerek TLR4'e bağımlı CD14 yanıtını tetiklemesi, bağırsak bariyerine zarar verip geçirgenliği artırmaktadır [126]. Bu çalışmada, BB olmasına rağmen, AUKD grubunun aile düzeyinde *Bacteroidaceae* ve cins düzeyinde *Bacteroidetes* bolluğu KN grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13 ve Şekil 4.15). AUKD, *Bacteroidetes*'in neden olduğu olumsuz etkileri modüle ederek bağırsak mikrobiyotası üzerinden bilişsel bozukluklarla ilişkili potansiyel faydalar sağlayabilir.

LEfSe analizine dayalı olarak BB, AH ve sağlıklı kontrolleri cins düzeyinde karşılaştıran bir çalışmada, AH grubu, *Moryella* ve *Blautia* bolluğunda azalma ve *Clostridia_UCG-014* bolluğunda artış, BB grubu ise *Lachnospiraceae_ND3007_grubu, [Ruminococcus]_gnavus_grubu* ve *Oscillibacter* bolluğunda azalma, *[Eubacterium]_coprostanoligenes_grup* ve *Collinsella* bolluğunda artış ile karakterize edilmiştir ($p < 0,05$) [120]. Bu çalışmada da yapılan LEfSe analizine göre *Clostridia_UCG-014, [Ruminococcus_torques_group], [Eubacterium]_coprostanoligenes_grup, Dorea* SKOP grubu, *Oscillabacter* ise KN grubu için karakterize bakteriler olarak belirlenmiştir (Şekil 4.26). Velásquez ve arkadaşları, yüksek yağlı diyet (YYD) ve düşük yağlı diyet (DYD) ile beslenen farelerin bağırsak mikrobiyatalarını karşılaştırdığı bir çalışmada, YYD farelerinde Firmicutes*/Bacteroidetes* oranının DYD ile beslenen farelere göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Ancak Firmicutes/Bacteroidetes oranındaki artışın, Firmicutes filumuna ait *Erysipelotrichales, Bacilli, Clostridiales, Dorea* ve *Ruminococcus* bolluğundaki artışlardan kaynaklandığı bildirilmiştir [130]. Jiao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, *Clostridia*'nın obez kemirgenlerde anlamlı şekilde artan tek sınıf olduğu gösterilmiştir [131]. Bilişsel bozukluk evresi genellikle *Bacteroidetes* filumundaki artışla ilişkilendirilmiştir [37, 117]. Ancak, bu çalışmada da görüldüğü üzere, BB durumunda Firmicutes filumuna ait bazı türlerin bolluğunda anlamlı düzeyde artışlar belirtilmiştir. Bu bulgular, BB evresinde mikrobiyota kompozisyonundaki değişimlerin yalnızca *Bacteroidetes* ile sınırlı olmadığını, aynı zamanda Firmicutes filumuna ait türlerdeki artışların da dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır. Her iki filumdaki aşırı artışın bağırsak mikrobiyota kompozisyonunda dengesizliğe ve disbiyosize yol açabileceği için BB evresinde bu artışların dikkate alınması önemlidir.

Yapılan bir çalışmada, AH ve OBB olan bireylerde artan *Blautia* ve *Dorea* bolluğu, düşük mini mental test skorları ile ilişkilendirilmiş, bu nedenle Firmicutes filumunda yer alan *Blautia* ve *Dorea* bolluğunun, AH için risk faktörü olabileceği belirtilmiştir [127]. Alzheimer Hastalığı oluşturulan farelerde yapılan bir çalışmada da, *Blautia* ve *Dorea* bolluğunun arttığı gösterilmiştir [128]. Bu çalışmada LEfSe analizine göre *Dorea* bolluğu SKOP grubunda diğer gruplara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. AUKD ve KD ile beslenen ratlarda ise BB oluşturulmasına rağmen *Dorea* bolluğu SKOP grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.15). AUKD ve KD gruplarında *Dorea*'nın normal seviyelerde olması, bilişsel bozuklukla artan *Dorea* bolluğunun KD müdahaleleriyle modüle edilebileceğini düşündürmektedir.

Akkermansia, bağırsak mukus tabakasında yaygın olarak bulunan ve özellikle epitel hücre tabakasını güçlendirme ve bağışıklık sistemini düzenleme yeteneği nedeniyle potansiyel bir probiyotik olarak değerlendirilen önemli bir bağırsak mikrobiyota bileşenidir [129]. Verrucomicrobiota filumuna ait *Akkermansia muciniphila,* mukus tabakasını parçalayarak KZYA üretir, böylece bağırsak bariyer bütünlüğünü destekler ve bağışıklık yanıtını düzenleyerek inflamasyonu baskılar [130]. *Akkermansia* bolluğundaki azalma, bağırsak bariyer disfonksiyonu ile ilişkilendirilmektedir ve böylece AH için önemli bir risk faktörü olabileceği belirtilmektedir [131]. Bununla birlikte, *Akkermansia muciniphila*'nın inflamasyonu artırarak ve mukus üretimini etkileyerek nöropsikiyatrik bozuklukların gelişiminde rol oynadığı da bildirilmiştir [132]. AH ile bilişsel olarak normal kontrollerin bağırsak mikrobiyotası cins seviyesinde karşılaştıran bir çalışmada ise, AH grubunda *Akkermansia* bolluğunda artış olduğu tespit edilmiştir [127]. *Akkermansia* bolluğundaki artışın Parkinson hastalığının ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, *Akkermansia* bolluğunun yaşlı bireylerde daha yüksek seviyelerde bulunduğu ve yaşlanmayla pozitif ilişki gösterdiği belirtilmektedir [133]. 2018 yılında Ma ve arkadaşları, bir hayvan çalışmasında 16 hafta boyunca KD müdahalesinin, potansiyel olarak faydalı bağırsak mikrobiyal bakterilerinin (*Akkermansia muciniphila* ve *Lactobacillus*) bolluğunu artırdığını, pro-inflamatuar türlerin ise (*Desulfovibrio* ve *Turicibacter*) bolluğunu azalttığını göstermiştir [11]. AUKD ve AHAD müdahalesinin OBB olan ve sağlıklı bireylerde bağırsak mikrobiyatası üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmada, AUKD müdahalesi ise GABA düzenleyici *Akkermansia* bolluğunun, AHAD müdahalesi ile GABA üreten *Alistipes/Bifidobacterium adolescentis* oranının arttığı gözlemlenmiştir [43]. Bu çalışmada *Akkermansia* bolluğu belirtilen çalışmaları destekler nitelikte hem SKOP hem AUKD

yüksek bulunmuştur. (Şekil 4.15). Bu bağlamda, çalışmamızda SKOP grubunda daha yüksek seviyelerde *Akkermansia* bolluğunun gözlemlenmesi, literatürdeki bazı çalışmalarla uyumludur [127, 133]. Ancak, *Akkermansia*'nın bilişsel fonksiyon üzerindeki hem olumsuz hem olumlu potansiyel etkilerini ortaya çıkaracak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ketojenik diyetin bağırsak mikrobiyata modülasyonu aracılığıyla bilişsel fonksiyon ile ilişkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma mevcuttur ve bu çalışmaların sonuçları çelişkili bulgular içermektedir. Bu çelişkilerin, çalışma metodolojilerindeki farklılıklar, uygulanan KD türleri ve müdahale sürelerindeki değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir [14, 85]. Ayrıca, diyetlerde kullanılan yağ türlerinin de klinik sonuçlar açısından önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır [86]. Sınırlı sayıda çalışmada, bağırsak mikroorganizmaları için temel enerji kaynağı olan kompleks karbonhidrat içeriğinin düşük olması nedeniyle KD müdahalesinin α çeşitliliği azalttığı veya herhangi bir değişim meydana getirmediği gösterilmiştir [11, 14, 87]. Bu çalışmada, KD grubunda α çeşitliliğinin diğer gruplara göre düşük olduğu gösterilmiştir. Bunun yanısıra, AUKD grubunda α çeşitlilik (Chao1 İndeksi ve Gözlemlenen Türler) KD grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.7; Şekil 4.16 ve Şekil 4.17). Ayrıca, AUKD ve KD gruplarının beta çeşitliliği incelendiğinde, Bray-Curtis (R^2=5,37; p=0,001), Jaccard (R^2=3,53; p=0,001), ve ağırlıksız unifrac (R^2=3,69; p=0,001) mesafe matrisine dayalı PcoA'e göre iki grubun bağırsak mikrobiyal kompozisyonunun istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.21, Şekil 4.23 ve Şekil 4.25). Bilgimiz dahilinde bu çalışma, literatürde AUKD ve KD modellerinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini karşılaştıran ilk çalışmadır.

AUKD'nin bağırsak mikrobiyota modülasyonu aracılığıyla bilişsel fonksiyon üzerindeki etkisini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur [14, 15]. OBB olan ve bilişsel olarak normal bireylere 6 haftalık AUKD ve AHAD müdahalesi ile α- ve β-çeşitlilik açısından gruplar arasında farklılık olmadığı ancak AUKD müdahalesi ile *Akkermansia muciniphila, Dialister, Bacteroides*'in göreceli bolluğunun arttığı, *Bifidobacterium, Lachnobacterium*'un göreceli bolluğunun ise azaldığı gösterilmiştir. OBB grubunda AUKD müdahalesi sonrası *Actinobacteria* filumuna ait *Bifidobacteriaceae* ailesi ve *Bifidobacterium* cinsi bolluğunun, bilişsel olarak normal ve AHAD müdahalesi yapılan gruba göre istatistiksel olarak azaldığı saptanmıştır. Bununla birlikte, AUKD müdahalesinin bütirat seviyesinde artış sağladığı gösterilmiştir. Bütirat, bağırsak geçirgenliğini düzenleyerek LPS seviyesini sınırlama konusunda olumlu bir etki yaratabilir ve böylece beyin sağlığını destekleyebilir. Ayrıca,

OBB olan grupta AUKD müdahalesi sonrasında asetat ve laktat seviyelerindeki azalmanın, OBB olan bireylerde hafıza ve bilişsel işlevin iyileşmesiyle ilişkili olabileceği belirtilmiştir [14]. Yapılan başka bir çalışmada ise AUKD müdahalesi ile metabolik sağlıkla ilişkilendirilen fekal laktat ve asetat seviyelerinin düştüğü, fekal propiyonat ve butirat seviyelerinin ise arttığı saptanmıştır [14].

Alzheimer Hastalığı modeli ve sağlıklı ratlara AUKD ve batı diyeti müdahalesi yapılan bir çalışmada, filum düzeyinde, AUKD ile beslenen ratlarda Bacteroidota bolluğunda artış ve Actinobacteriota bolluğunda azalma gözlemlenmiştir. LEfSe analizi, AUKD ile beslenen ratlarda batı tipi diyete göre, cins düzeyinde *Lactobacillus, Akkermansia, g_Erysipelatoclostridiaceae, Lachnoclostridium, Intestimonas* ve *Parasuterella* bolluğunun daha yüksek, *Bifidobacterium* ve *Dubosiella* bolluğunun daha düşük olduğu saptanmıştır. Özellikle, AUKD ile beslenen ratlarda zamanla *Lactobacillus, Akkermansia, Bacteroides* ve *Intestimonas* bolluğunda artış olurken, batı diyetiyle beslenen ratlarda *Dubosiella* bolluğunda önemli bir artış, *Lactobacillus* bolluğunda ise belirgin bir azalma görülmüştür. [15]. Bu çalışmada da yapılan LEfSe analizine göre cins düzeyinde *Lactobacillus* bolluğunun diğer gruplara göre yüksek olduğu ve AUKD grubu ile karaterize bakteri olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.29). Birçok *Lactobacillus* türünün, bağırsak mikrobiyotasını ve AH patolojisi ile ilişkili enzimlerin aktivitesini modüle ederek bilişsel fonksiyonlar üzerinde olumlu etkiler gösterdiği bilinmektedir [134, 135]. *Lactobacillus*'un bilişsel fonksiyon üzerindeki etkilerinin, ürettiği nörotransmitterlerden ve metabolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bazı *Lactobacillus* türleri, glutamat dekarboksilasyonu yoluyla GABA üretimini artırmaktadır [50]. AUKD ile yapılan önceki çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada AUKD grubunda *Bacteroides* bolluğunun düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.15). AUKD modeli (%60 TE) yüksek yağ içeriğine sahiptir, ancak bu yağ içeriği, balık ve zeytinyağı gibi omega-3 ve omega-9 kaynaklarından zengin olması nedeniyle, bu çalışmada AUKD grubunun düşük *Bacteroides* ve yüksek *Lactobacillus* bolluğuna sahip olduğu söylenebilir. Alzheimer hastalığının prodromal evresi, *Bacteroides* bolluğundaki artışla ilişkilendirilmektedir [37]. Bu ilişki, gram-negatif bir bakteri olan *Bacteroides*'in LPS üretimini artırabileceği ve bunun da nöroinflamasyona yol açabileceği ile açıklanmaktadır [126]. Fare modeli üzerinde yapılan bir çalışmada ise, yüksek doymuş yağ (domuz yağı) içeren bir diyetin, bağırsak mikrobiyotasında artan *Bilophila* ve *Bacteroides* bolluğuna bağlı olarak beyaz adipoz dokuda TLR ve C-C Motif Kemokin Ligandı 2 (CCL2) aracılığıyla makrofaj birikimine neden olduğu gösterilmiştir. Bunun yanısıra, yüksek omega-3 çoklu

doymamış yağ içeren bir diyetin, bağırsak mikrobiyotasında *Lactobacillus, Akkermansia* ve *Bifidobacterium* türlerinin bolluğunda artış sağlayarak beyaz adipoz dokudaki inflamasyona karşı koruyucu etkiler sağladığı belirlenmiştir [136].

Yapılan çalışmalarda, zeytinyağı tüketiminin laktik asit bakterilerinin [137, 138] ve *Lactobacillus* [139] cinsinin bolluğunu arttırdığı gösterilmiştir. Zeytinyağının bilişsel sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin bağırsak mikrobiyotası aracılığıyla gerçekleştiği, Alzheimer hastalarında sıklıkla azalan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin bolluğunu artırarak, enterik sinir sistemi ve vagus siniri yoluyla beyindeki GABAerjik aktiviteyi etkileyebileceği vurgulanmaktadır [140]. Bu çalışmada, AUKD modelinin baskın yağ kaynağını %76,29 oranıyla zeytinyağı oluşturmakta ve AUKD grubunda *Lactobacillus* cinsinin karakteristik bakteri olarak tanımlanması, zeytinyağı tüketimiyle ilişkili bir artış olabileceği sonucunu destekler niteliktedir.

Resveratrol, anti-aging, antioksidan, anti-inflamatuvar ve nöroprotektif özellikleriyle bilinen bir bileşik olup, nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki potansiyel etkileri araştırılmaktadır. Güçlü bir nörotoksik madde olan metil cıvanın indüklediği nörogelişimsel toksisiteye karşı resveratrolün koruyucu etkisini değerlendiren bir çalışmada, metil cıva müdahalesiyle cins düzeyinde *Lactobacillus* ve *Muribaculaceae_unclassified*'ın göreceli bolluklarının azaldığı, buna karşın *Bacteroides*, *Alloprevotella*, *Parasutterella*, *Erysipelatoclostridium* ve *Helicobacter*'in bolluklarının arttığı gösterilmiştir. Ancak, resveratrol uygulaması sonrasında *Lactobacillus* ve *Muribaculaceae_unclassified*'ın bollukları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artarken, *Bacteroides*, *Helicobacter*, *Erysipelatoclostridium* ve *Parasutterella* bolluklarının ise anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir [141]. Bu çalışmada kullanılan AUKD modeline 100 g yem başına 75,8 mg resveratrol eklenmiştir. AUKD grubunda gözlemlenen düşük *Bacteroides* ve yüksek *Lactobacillus* bolluklarının diyete eklenen resveratrol ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Akdeniz Diyetinin en önemli bileşenlerinden biri de posadır. Farelerde inulin (66 mg/kg) uygulanmasının bağırsak mikrobiyotası, öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışmada, *Prevotellaceae_UCG-001* bolluğunda artış gözlemlenmiştir [142]. Song ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 4 haftalık inülin (10 g/kg/gün) takviyesi, C57BL/6J farelerinde *Prevotellaceae* ve *Prevotellaceae_UCG-001* bolluğunu arttırdığı gösterilmiştir [143]. *Prevotella*, inulinin parçalanmasında rol oynayarak sukkinat üretir.

Ayrıca, selüloz ve ksilanı parçalayan enzimlere sahiptir [144]. *Prevotella* bolluğundaki azalma, bağırsak mukus oluşumunda bir azalma ve bağırsak geçirgenliğinde artış sonucu bakteriyel antijenler ve endotoksinlerine karşı duyarlılığı artırmaktadır [145]. Bu nedenle, mukus üretiminde rol oynayan *Prevotella* bolluğundaki azalmanın, bağırsak geçirgenliğini olumsuz etkileyerek BB gelişimine sebep olabileceği belirtilmektedir. Parkinson hastalarında yapılan bir çalışmada, anti-inflamatuar yolaklarla ilişkili *Prevotellaceae* bolluğunda azalma olduğu gösterilmiştir [146]. Bu çalışmada AUKD'ye 2,27 g/100 g yem inulin eklenmiştir. Çalışmada BB modeli oluşturulmasına rağmen, AUKD ile beslenen ratlarda *Prevotella* cinsinin görece bolluğu diğer gruplara kıyasla daha yüksek bulunmuştur, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ayrıca *Prevotellaceae_UCG-001* bolluğu AUKD grubunda SKOP grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (Şekil 4.15). Bu bulgular, AUKD bileşenlerinin bağırsak mikrobiyotasında *Prevotella* ve türlerinin gelişimini destekleyerek bağırsak-beyin ekseni üzerinde pozitif etkiler yaratabileceğini gösterebilir.

Lachnospiraceae ailesinin fizyolojik rolü genel anlamda hâlâ belirsiz ve tartışmalı olmakla birlikte, *Lachnospiraceae_UCG-010* bolluğunun kistik fibrozisli çocuklarda bağırsak inflamasyonu ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir [147]. *Lachnospiraceae_NK4A136* cinsi hakkında ise çok az şey bilinse de bağırsaktaki anaerobik fermente edici bakteri olarak belirtilmektedir. Bağırsakta diyetle alınan karbonhidratları parçalayarak KZYA üretmektedirler. *Lachnospiraceae_NK4A136_group* cinsinin, KZYA aracılığıyla nörogenezi, mikroglia işlevini, serotonin metabolizmasını ve sinaptik iletimi etkileyebilecekleri belirtilmektedir [148]. Bu sonuçlar, *Lachnospiraceae* ailesinin spesifik üyelerinin bağırsak sağlığı ve nörolojik işlevler üzerinde farklı potansiyel etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, *Lachnospiraceae_NK4A136-group* bolluğu AUKD grubunda SKOP grubuna göre, *Lachnospiraceae_UCG-010* bolluğunun ise SKOP grubunda AUKD grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.15). AUKD grubunda *Lachnospiraceae_NK4A136_group*, SKOP grubunda ise *Lachnospiraceae_UCG-010* bolluğunun yüksek olması, bilişsel bozuklukta farklı diyet modellerinin bağırsak mikrobiyotası ve dolayısıyla bilişsel fonksiyon üzerindeki farklı etkilerine dikkat çekmektedir.

NK4A214_group, selülozu parçalayarak KZYA üreten başlıca bağırsak bakteri gruplardan biri olan *Ruminococcaceae* ailesine ait bir cinstir. Firmicutes filumuna ait olan

Eubacterium_coprostanoligenes_group ve *Faecalibacterium* cinsleri, KZYA üretimi ile bağırsak bariyer fonksiyonunu geliştirerek bağırsak ortamının homeostazına katkıda bulunmaktadır [149]. Mara ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, hafif şişman ve obez yetişkinlerde 12 hafta boyunca tam tahıllı buğday müdahalesinin *NK4A214_grup* bolluğunda artış sağladığı tespit edilmiştir [150]. *NK4A214_grubu*, özellikle tam tahılların içerdiği posa alımına bağlı olarak gelişmektedir. Bu çalışmada, *Eubacterium_coprostanoligenes_group* ve *NK4A214_group* cinslerinin bolluğu KD ve AUKD ile beslenen gruplarda standart diyet ile beslenen gruplara göre daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.15). Bu cinsler özellikle tam tahıl alımına bağlı olarak artış gösterdiği için KD ile beslenen gruplarda daha düşük düzeyde bulunması beklenen bir sonuçtur.

Roseburia, en önemli bütirat üreten bakterilerden biridir ve bağırsak mikrobiyata popülasyonun %0,9 ila %5,0'ını oluşturmaktadır. *Roseburia* bolluğunun çeşitli bağırsak hastalıklarında ve Parkinson hastalarında azaldığı bildirilmiştir [146, 151]. *Roseburia*, KZYA üreterek bağırsak mikrobiyota homeostazını korumada önemli bir rol oynamaktadır. Hem in vivo hem de in vitro modellerde, anti-inflamatuar sitokin üretimini teşvik etmesi ve pro-inflamatuar sitokin üretimini baskılaması nedeniyle anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [152]. İnflamatuar bağırsak hastalıkları olan bireylerde de bütirat üreten *Roseburia* ve *Faecalibacterium* türlerinin bolluğunun azaldığı gözlemlenmiştir. Bütirat üretimindeki azalmanın, bağırsak mukozasındaki artan oksijen seviyeleri ile ilişkili olduğu ve bunun oksidatif hasar riskini artırabileceği belirtilmiştir [146]. Bu çalışmada, *Roseburia*, LEfSe analizi sonucunda KD grubuna özgü bir bakteri cinsi olarak belirlenmiş ve KD grubunda *Roseburia* bolluğunun SKOP grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.29). Yapılan bir müdahale çalışmasında, MCT'nin beyinde glukoz kullanımının yetersizliği durumunda alternatif bir enerji kaynağı olarak glukoz metabolizmasını iyileştirdiği, bunun da bilişsel fonksiyonda iyileşme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, MCT takviyesinin, bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu modüle ederek inflamatuar tepkileri hafiflettiği belirtilmiştir. Alzheimer modeli ratlarda yapılan bir çalışmada da MCT takviyesinin *Proteabacteria* bolluğunu azaltarak inflamatuar yanıtı iyileştirdiği gösterilmiştir. Bilişsel bozukluk *Proteobacteria* bolluğundaki artış ile bakteriyel lipopolisakkarit konsantrasyonlarına bağlı olabileceği ve bunun bilişsel bozulmanın başlangıcı için bir risk faktörü olabileceği bildirilmektedir [153]. Bu çalışmada, KD'de tereyağ (%47,63) ve domuz yağının (%47,63) baskın iki yağ kaynağı olarak kullanılmıştır

ancak *Proteobacteria* bolluğu açısından gruplar arasında farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.11).

Bu çalışmada mikrobiyal bolluklar ile davranış testleri sonuçları arasındaki ilişkiler incelendiğinde, NORT'a ait bulgu olan yeni nesne keşif için geçirilen süre ile aile düzeyinde *Prevotellaceae* bolluğu arasında pozitif, *Erysipelotrichaceae* bolluğu arasında ise negatif orta düzeyde ilişki belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.32). Yapılan bir çalışmada, Parkinson hastalarında *Prevotellaceae* bolluğunun azalması ve *Enterobacteriaceae* bolluğunun artması postüral instabilite ve yürüme güçlüğü ile ilişkili bulunmuştur [154]. *Prevotella*, nöroaktif KZYA'nın üretimi ile tiamin ve folat biyosentezi için yüksek bir kapasiteye sahiptir [155]. Bu nedenle bilişsel bozukluk durumunda tiamin ve folat gibi vitamin seviyelerinde azalma, *Prevotellaceae* gibi vitamin biyosentezinde rol alan kommensal bakterilerin bolluğundaki düşüş ile ilişkilendirilmektedir [156]. Bu çalışmada, yeni nesne keşfi için harcanan süre ile *Prevotellaceae* bolluğu arasındaki pozitif ilişki, daha iyi bilişsel fonksiyonla ilişkilendirilmiştir ve bu da *Prevotellaceae*'nin bilişsel performans üzerinde olumlu bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Nesne keşif için harcanan süre ile *Erysipelotrichaceae* bolluğu arasındaki negatif ilişki ise *Erysipelotrichaceae'*nın bilişsel fonksiyon üzerinde olumsuz etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada, *Erysipelotrichaceae* bolluğunun, OBB ve AH olan yaşlı bireylerde arttığı gösterilmiştir [157]. *Erysipelotrichaceae* ailesinin gastrointestinal inflamasyon ve kolorektal kanser ile de ilişkili olduğu bildirilmektedir [158]. *Erysipelatoclostridium*, enterochromaffin hücreleri tarafından bağırsakta serotonin (5-hidroksitriptamin) salınımını artırdığı bildirilmiştir [34]. Bağırsakta aşırı üretilen serotonin KBB geçememekte, ancak KBB'nin geçirgenliğini artırmaktadır. Artan KBB geçirgenliği nöroinflamasyona yol açmaktadır ve OBB ile ilişkilendirilmektedir [159].

Ayırt edicilik indeksi ile filum düzeyinde yapılan analizde, Firmicutes ile orta düzeyde pozitif bir ilişki, Bacteroidota ile ise orta düzeyde negatif bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.32). OBB ve AH spesifik bağırsak mikrobiyata kompozisyonu belirlemek için yapılan bir meta-analizde OBB ve AH olan bireylerde *Bacteroidetes* görece bolluğunda artış, Firmicutes bolluğunda ise azalma olduğu gösterilmiştir [160]. Bu sonuçlar, BB durumunda Firmicutes'in azalması ve *Bacteroidetes*'in artmasıyla gözlemlenen mikrobiyal değişimlerin, ayırt edicilik indeksi ile olan korelasyonlarla uyumlu olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, ayırt edicilik indeksi ile cins düzeyinde *Akkermansia* ve

NK4A214_group ile pozitif, *Alloprevotella* ile ise negatif orta düzeyde bir ilişki belirlenmiştir ($p<0,05$). Yapılan bir çalışmada da akut karaciğer hasarına bağlı bilişsel bozuklukta artan *Alloprevotella* bolluğu, Y-labirenti testi ile negatif, hipokampüsteki glutamin düzeyi ile pozitif korelasyon göstermiştir. *Alloprevotella*'nın, akut karaciğer hasarına bağlı bilişsel bozukluğu öngörmek için potansiyel bir biyomarker olabileceği öne sürülmüştür (AUC=0,872) [161]. Bu sonuçlar, *Alloprevotella'*nın BB ile ilişkili olabileceğini gösterebilir. Öte yandan, *Akkermansia* ve *NK4A214_group* bolluğunun bağırsak homeostazını destekleyerek beyin-bağırsak ekseni aracılığıyla ayırt edicilik indeksi ile pozitif ilişkili olduğu düşünülmektedir. Morris Su Testi sonuçlarına göre, öğrenme davranışını gösteren hedef kadranda harcanan süre ile filum düzeyinde Verrucomicrobiota ve alt türleri, cins düzeyinde ise *Prevotella* bolluğu arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur ($p <0,05$). Musin parçalayan bakteriler olarak bilinen *Akkermansia* ve *Prevotella*'nın, bağırsak bariyer bütünlüğünü koruyarak bilişsel fonksiyon üzerinde olumlu etkiler yaratabileceği ve bu nedenle öğrenme davranışı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmanın özgün değeri ve güçlü yönlerinden biri, KD'ye alternatif olarak geliştirilen AUKD'nin, ilk kez bilişsel bozukluk modeli oluşturulmuş farelerde uygulanarak, KD ile karşılaştırıldığında bağırsak mikrobiyotası aracılığıyla bilişsel fonksiyonlar üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesidir. Çalışma sırasında karşılaşılan güçlükler arasında, AUKD yeminin literatüre bağlı olarak ilk kez geliştirilmiş olması ile yüksek yağ içeriğine sahip KD ve AUKD yemlerinin tüketim zorluğu nedeniyle yem tüketiminin daha sıkı izlenmesi gerekliliği yer almaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışma, skopolamin ile o

Orta düzey bilişsel bozukluk oluşturulmuş ratlarda, yeni geliştirilen Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet (AUKD) modelinin, klasik ketojenik diyet (KD) ile karşılaştırıldığında bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini ve bilişsel fonksiyonla ilişkisini değerlendirmek amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. AUKD grubunda MWM testine göre mekânsal hafıza ve öğrenme davranışında günler içinde ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak bir gelişme olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
2. NORT sonucuna göre görsel tanıma belleğinde gruplar arasında fark görülmemiştir ($p>0,05$).
3. AUKD grubunun, Chao1 ve Gözlemlenen türler indeksine göre α çeşitliliği KD grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).
4. Grup içi tür çeşitliliği ve bolluğunu dikkate alan Shannon indeksine göre, tüm gruplar arasında α çeşitliliğin istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
5. Bray-Curtis, Jaccard ve ağırlıksız unifrac mesafe matrisine dayalı PCoA, AUKD ve KD grupları arasında bağırsak mikrobiyal kompozisyonunda anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p<0,05$).
6. Bray-Curtis, Jaccard ve ağırlıksız unifrac mesafe matrisine dayalı PCoA'e göre, KN ve SKOP gruplarının bağırsak mikrobiyal kompozisyonunun farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).
7. Bray-Curtis, Jaccard, ağırlıksız ve ağırlıklı unifrac mesafe matrisine dayalı PCoA'e göre üç grupta da bilişsel bozukluk olmasına rağmen AUKD, KD ve SKOP gruplarının bağırsak mikrobiyal kompozisyonunun istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
8. LEfSe analizine göre *Lactobacillus* AUKD grubunun, *Roseburia* ise KD grubunun, *[Ruminococcus]_torques_group*, *[Eubacterium]_coprostanolineges_group* ve *Dorea* ise SKOP grubunun karakteristik bakterileri olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).

9. AUKD grubunda, diğer gruplara kıyasla cins düzeyinde *Bacteroides* bolluğu daha düşük, *Prevotellaceae_UCG-001*, *Lachnospiraceae_NK4A136_group* ve *Akkermansia* bolluğu daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).
10. SKOP grubunda, diğer gruplara göre cins düzeyinde *[Ruminococcus]_torques_group*, *[Eubacterium]_coprostanoligenes_group*, *NK4A214_group*, *Lachnospiraceae_UCG-010*, *Dorea*, *Akkermansia* bolluğu daha yüksektir ($p<0,05$).
11. Ayırt edicilik indeksi, filum düzeyinde Firmicutes ile pozitif ve Bacteroidota ile negatif; cins düzeyinde ise *Akkermansia* ve *NK4A214_group* ile pozitif, *Alloprevotella* ile negatif ilişkidir ($p<0,05$).
12. Yeni nesne ve toplam nesne keşfi için harcanan süre ile aile düzeyinde *Prevotellaceae* ve cins düzeyinde *Phascolarctobacterium* bolluğu arasında pozitif ilişki; aile düzeyinde *Erysipelotrichaceae* bolluğu arasında ise negatif ilişki olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
13. Hedef kadranda geçirilen süre ile filum düzeyinde Verrucomicrobiota ve alt türleri, cins düzeyinde ise *Prevotella* bolluğu arasında pozitif ilişki bulunmuştur ($p<0,05$).

6.2. Öneriler

Bilişsel bozuklukta güncel bir diyet yaklaşımı olan AUKD'nin, KD'ye kıyasla bağırsak mikrobiyota modülasyonu ile bilişsel fonksiyonla ilişkili parametreler üzerindeki etkileri incelenmiştir. AUKD müdahalesi yapılan grupta BB'de artan *Bacteroides* bolluğunun düşük seviyede bulunması, Alzheimer hastalarında azalan *Lactobacillus* bolluğunun ise artması, bu diyetin bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek hastalık gelişimine karşı koruyucu bir etki sağlayabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, AUKD grubunun mekânsal hafıza ve öğrenme performansında diğer gruplara göre daha iyi sonuçlar vermesi de bilişsel fonksiyon üzerindeki olumlu etkilerini desteklemektedir. AUKD'nin klasik ketojenik diyete göre daha yüksek alfa çeşitliliğine sahip olması, bağırsak mikrobiyotası homeostazı üzerinde daha olumlu etkiler sağlayabileceğinin bir göstergesidir. Bunun yanında, literatürde bilişsel bozuklukla ilişkilendirilen *Dorea* ve *Blautia* cinslerinin AUKD ve KD gruplarında düşük seviyelerde bulunması, ketojenik diyet türlerinin bilişsel fonksiyonla ilgili spesifik bağırsak bakterileri üzerindeki etkileriyle bilişsel fonksiyonu destekleyebileceğini göstermektedir.

Gelecek çalışmalarda, AUKD modelinin BB üzerindeki etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde incelenmesi AH'ın önlenmesinde büyük önem taşımaktadır. AUKD modelinin bilişsel bozukluk üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak için, bilişsel fonksiyonla ilişkili

mikrobiyal metabolit üretimi ve beyin dokusunda ilgili proteinlerin ifadesini inceleyen çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, AUKD'nin kapsamlı değerlendirilmesi ve insanlarda uygulanabilirliğinin araştırılması amacıyla klinik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Bu tür araştırmalar, AUKD'nin uygulanabilirliğini ve potansiyel klinik faydalarını daha net bir şekilde ortaya koyarak, diyetin bilişsel fonksiyon üzerindeki etkilerini doğrulamaya katkı sağlayacaktır. Ancak, sağlıklı bireylerde bağırsak mikrobiyota homeostazının sağlanmasında Akdeniz diyet profilinin en iyi diyet yaklaşımı olabileceği ve yüksek kanıt düzeyinde önerildiği unutulmamalıdır. Bunun yanı sıra, Akdeniz diyetine kıyasla Akdeniz Uyumlu Ketojenik Diyet modelinin karşılaştırılması, sonuçların daha iyi desteklenmesi açısından önemlidir. Bilişsel bozuklukta AUKD gibi modifiye ketojenik diyetlerin önerilmesi ve uygulanmasının mutlaka diyetisyen gözetiminde sürdürülmesi; uzun vadeli olası olumsuz etkilerin ise bir hekimle birlikte değerlendirilmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Better, M. A. (2023). Alzheimer’s Disease Facts and Figures.

2. Ward, A., Tardiff, S., Dye, C. and Arrighi, H. M. (2013). Rate of conversion from prodromal Alzheimer's disease to Alzheimer's dementia: a systematic review of the literature. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra*. 3(1), 320-332.

3. International, A. s. D. (2018). World Alzheimer report 2018. The state of the art of dementia research: new frontiers. *Alzheimer’s Disease International*. 2018.

4. Hardy, J. and Allsop, D. (1991). Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends in pharmacological sciences*. 12(383-388).

5. Collaborators, G. (2019). GBD 2016 Dementia Collaborators Global, regional, and national burden of Alzheimer’s disease and other dementias, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurology*. 18(1), 88-106.

6. Le Page, A., Dupuis, G., Frost, E. H., Larbi, A., Pawelec, G., Witkowski, J. M. and Fulop, T. (2018). Role of the peripheral innate immune system in the development of Alzheimer's disease. *Experimental gerontology*. 107(59-66).

7. Bronzuoli, M. R., Iacomino, A., Steardo, L. and Scuderi, C. (2016). Targeting neuroinflammation in Alzheimer’s disease. *Journal of inflammation research*. 199-208.

8. Cryan, J. F., O'Riordan, K. J., Cowan, C. S., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cussotto, S., Fulling, C. and Golubeva, A. V. (2019). The microbiota-gut-brain axis. *Physiological reviews*.

9. Junges, V. M., Closs, V. E., Nogueira, G. M. and Gottlieb, M. G. (2018). Crosstalk between gut microbiota and central nervous system: a focus on Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*. 15(13), 1179-1190.

10. Szablewski, L. (2018). Human gut microbiota in health and Alzheimer’s disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 62(2), 549-560.

11. Ma, D., Wang, A. C., Parikh, I., Green, S. J., Hoffman, J. D., Chlipala, G., Murphy, M. P., Sokola, B. S., Bauer, B. and Hartz, A. M. (2018). Ketogenic diet enhances neurovascular function with altered gut microbiome in young healthy mice. *Scientific reports*. 8(1), 6670.

12. McDonald, T. J. W. and Cervenka, M. C. (2018). Ketogenic Diets for Adult Neurological Disorders. *Neurotherapeutics*. 15(4), 1018-1031.

13. Rusek, M., Pluta, R., Ułamek-Kozioł, M. and Czuczwar, S. J. (2019). Ketogenic diet in Alzheimer’s disease. *International journal of molecular sciences*. 20(16), 3892.

14. Nagpal, R., Neth, B. J., Wang, S., Craft, S. and Yadav, H. (2019). Modified Mediterranean-ketogenic diet modulates gut microbiome and short-chain fatty acids

in association with Alzheimer's disease markers in subjects with mild cognitive impairment. *EBioMedicine*. 47(529-542).

15. Park, G., Kadyan, S., Hochuli, N., Pollak, J., Wang, B., Salazar, G., Chakrabarty, P., Efron, P., Sheffler, J. and Nagpal, R. (2024). A modified Mediterranean-style diet enhances brain function via specific gut-microbiome-brain mechanisms. *Gut Microbes*. 16(1), 2323752.

16. Puşuroğlu, M. (2023). Hafif Bilişsel Bozukluk. *Eskisehir Medical Journal*. 4(2), 73-79.

17. Petersen, R. C. (2016). Mild cognitive impairment. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*. 22(2 Dementia), 404.

18. Chen, P., Cai, H., Bai, W., Su, Z., Tang, Y.-L., Ungvari, G. S., Ng, C. H., Zhang, Q. and Xiang, Y.-T. (2023). Global prevalence of mild cognitive impairment among older adults living in nursing homes: a meta-analysis and systematic review of epidemiological surveys. *Translational psychiatry*. 13(1), 88.

19. Brodaty, H., Heffernan, M., Kochan, N. A., Draper, B., Trollor, J. N., Reppermund, S., Slavin, M. J. and Sachdev, P. S. (2013). Mild cognitive impairment in a community sample: the Sydney Memory and Ageing Study. *Alzheimer's & dementia*. 9(3), 310-317.

20. Busse, A., Angermeyer, M. C. and Riedel-Heller, S. G. (2006). Progression of mild cognitive impairment to dementia: a challenge to current thinking. *The British Journal of Psychiatry*. 189(5), 399-404.

21. Yang, Q.-h., Lyu, X., Lin, Q.-r., Wang, Z.-w., Tang, L., Zhao, Y. and Lyu, Q.-y. (2022). Effects of a multicomponent intervention to slow mild cognitive impairment progression: A randomized controlled trial. *International journal of nursing studies*. 125(104-110).

22. Petersen, R. C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of internal medicine*. 256(3), 183-194.

23. Ma, L. (2020). Depression, anxiety, and apathy in mild cognitive impairment: current perspectives. *Frontiers in aging neuroscience*. 12, 9.

24. Ganguli, M., Fu, B., Snitz, B. E., Hughes, T. F. and Chang, C.-C. H. (2013). Mild cognitive impairment: incidence and vascular risk factors in a population-based cohort. *Neurology*. 80(23), 2112-2120.

25. Polito, L., Poloni, T. E., Vaccaro, R., Abbondanza, S., Mangieri, M., Davin, A., Villani, S. and Guaita, A. (2016). High homocysteine and epistasis between MTHFR and APOE: association with cognitive performance in the elderly. *Experimental gerontology*. 76(9-16).

26. Durmaz, A., Kumral, E., Durmaz, B., Onay, H., Aslan, G. I., Ozkinay, F., Pehlivan, S., Orman, M. and Cogulu, O. (2019). Genetic factors associated with the predisposition to late onset Alzheimer's disease. *Gene*. 707(212-215).

27. Cai, X.-y., Qian, G.-p., Wang, F., Zhang, M.-y., Da, Y.-j. and Liang, J.-h. (2023). Association between sedentary behavior and risk of cognitive decline or mild cognitive impairment among the elderly: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Neuroscience*. 17(

28. Shahnawaz, Z., Reppermund, S., Brodaty, H., Crawford, J., Draper, B., Trollor, J. and Sachdev, P. (2013). Prevalence and characteristics of depression in mild cognitive impairment: the Sydney Memory and Ageing Study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 127(5), 394-402.

29. Singh, B., Parsaik, A. K., Mielke, M. M., Erwin, P. J., Knopman, D. S., Petersen, R. C. and Roberts, R. O. (2014). Association of mediterranean diet with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's disease*. 39(2), 271-282.

30. Scarmeas, N., Anastasiou, C. A. and Yannakoulia, M. (2018). Nutrition and prevention of cognitive impairment. *The Lancet Neurology*. 17(11), 1006-1015.

31. Zhang, P., Yu, Y., Qin, Y., Zhou, Y., Tang, R., Wang, Q., Li, X., Wang, H., Weston-Green, K. and Huang, X.-F. (2019). Alterations to the microbiota–colon–brain axis in high-fat-diet-induced obese mice compared to diet-resistant mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 65(54-65).

32. Aburto, M. R. and Cryan, J. F. (2024). Gastrointestinal and brain barriers: unlocking gates of communication across the microbiota–gut–brain axis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 1-26.

33. Cox, L. M. and Weiner, H. L. (2018). Microbiota signaling pathways that influence neurologic disease. *Neurotherapeutics*. 15(1), 135-145.

34. Huang, Y., Wang, Y. F., Miao, J., Zheng, R. F. and Li, J. Y. (2024). Short-chain fatty acids: Important components of the gut-brain axis against AD. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 175(116601.

35. Hajjo, H. and Geva-Zatorsky, N. (2020). Gut microbiota–host interactions now also brain-immune axis. *Current opinion in neurobiology*. 62(53-59).

36. Zhuang, Z.-Q., Shen, L.-L., Li, W.-W., Fu, X., Zeng, F., Gui, L., Lü, Y., Cai, M., Zhu, C. and Tan, Y.-L. (2018). Gut microbiota is altered in patients with Alzheimer’s disease. *Journal of Alzheimer's disease*. 63(4), 1337-1346.

37. Liu, P., Wu, L., Peng, G., Han, Y., Tang, R., Ge, J., Zhang, L., Jia, L., Yue, S. and Zhou, K. (2019). Altered microbiomes distinguish Alzheimer’s disease from amnestic mild cognitive impairment and health in a Chinese cohort. *Brain, behavior, and immunity*. 80(633-643).

38. Li, J.-M., Yu, R., Zhang, L.-P., Wen, S.-Y., Wang, S.-J., Zhang, X.-Y., Xu, Q. and Kong, L.-D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*. 7(1-14).

39. Neto, J., Jantsch, J., Rodrigues, F., Squizani, S., Eller, S., Oliveira, T. F., Silveira, A. K., Moreira, J. C. F., Giovenardi, M. and Porawski, M. (2023). Impact of cafeteria diet and n3 supplementation on the intestinal microbiota, fatty acids levels, neuroinflammatory markers and social memory in male rats. *Physiology & Behavior*. 260(114068.

40. Kennedy, P. J., Cryan, J. F., Dinan, T. G. and Clarke, G. (2017). Kynurenine pathway metabolism and the microbiota-gut-brain axis. *Neuropharmacology*. 112(399-412).

41. Chen, Y., Xu, J. and Chen, Y. (2021). Regulation of neurotransmitters by the gut microbiota and effects on cognition in neurological disorders. *Nutrients*. 13(6), 2099.

42. B Estrela, A. and Abraham, W.-R. (2011). Adenosine in the inflamed gut: a Janus faced compound. *Current medicinal chemistry*. 18(18), 2791-2815.

43. Dilmore, A. H., Martino, C., Neth, B. J., West, K. A., Zemlin, J., Rahman, G., Panitchpakdi, M., Meehan, M. J., Weldon, K. C. and Blach, C. (2023). Effects of a ketogenic and low-fat diet on the human metabolome, microbiome, and foodome in adults at risk for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*.

44. Hegelmaier, T., Lebbing, M., Duscha, A., Tomaske, L., Tönges, L., Holm, J. B., Bjørn Nielsen, H., Gatermann, S. G., Przuntek, H. and Haghikia, A. (2020). Interventional influence of the intestinal microbiome through dietary intervention and bowel cleansing might improve motor symptoms in Parkinson’s disease. *Cells*. 9(2), 376.

45. Dissanayaka, D. M. S., Jayasena, V., Rainey-Smith, S. R., Martins, R. N. and Fernando, W. M. A. D. B. (2024). The Role of Diet and Gut Microbiota in Alzheimer’s Disease. *Nutrients*. 16(3), 412.

46. Chianese, R., Coccurello, R., Viggiano, A., Scafuro, M., Fiore, M., Coppola, G., Operto, F. F., Fasano, S., Laye, S. and Pierantoni, R. (2018). Impact of dietary fats on brain functions. *Current neuropharmacology*. 16(7), 1059-1085.

47. Pistollato, F., Sumalla Cano, S., Elio, I., Masias Vergara, M., Giampieri, F. and Battino, M. (2016). Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutrition reviews*. 74(10), 624-634.

48. Maggi, S., Ticinesi, A., Limongi, F., Noale, M. and Ecarnot, F. (2023). The role of nutrition and the Mediterranean diet on the trajectories of cognitive decline. *Experimental gerontology*. 173(112110.

49. Morris, M. C., Tangney, C. C., Wang, Y., Sacks, F. M., Bennett, D. A. and Aggarwal, N. T. (2015). MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 11(9), 1007-1014.

50. Marć, M. A., Jastrząb, R. and Mytych, J. (2022). Does the gut microbial metabolome really matter? The connection between GUT metabolome and neurological disorders. *Nutrients*. 14(19), 3967.

51. Solch, R. J., Aigbogun, J. O., Voyiadjis, A. G., Talkington, G. M., Darensbourg, R. M., O'Connell, S., Pickett, K. M., Perez, S. R. and Maraganore, D. M. (2022).

Mediterranean diet adherence, gut microbiota, and Alzheimer's or Parkinson's disease risk: A systematic review. *Journal of the Neurological Sciences*. 434(120166.

52. Fung, T. T., McCullough, M. L., Newby, P., Manson, J. E., Meigs, J. B., Rifai, N., Willett, W. C. and Hu, F. B. (2005). Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction–. *The American journal of clinical nutrition*. 82(1), 163-173.

53. Singh, R. B., Dubnov, G., Niaz, M. A., Ghosh, S., Singh, R., Rastogi, S. S., Manor, O., Pella, D. and Berry, E. M. (2002). Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomised single-blind trial. *The Lancet*. 360(9344), 1455-1461.

54. Cowell, O. R., Mistry, N., Deighton, K., Matu, J., Griffiths, A., Minihane, A. M., Mathers, J. C., Shannon, O. M. and Siervo, M. (2021). Effects of a Mediterranean diet on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials and observational studies. *J Hypertens*. 39(4), 729-739.

55. Shannon, O. M., Ashor, A. W., Scialo, F., Saretzki, G., Martin-Ruiz, C., Lara, J., Matu, J., Griffiths, A., Robinson, N., Lillà, L., Stevenson, E., Stephan, B. C. M., Minihane, A. M., Siervo, M. and Mathers, J. C. (2021). Mediterranean diet and the hallmarks of ageing. *Eur J Clin Nutr*. 75(8), 1176-1192.

56. Pelletier, A., Barul, C., Féart, C., Helmer, C., Bernard, C., Periot, O., Dilharreguy, B., Dartigues, J.-F., Allard, M. and Barberger-Gateau, P. (2015). Mediterranean diet and preserved brain structural connectivity in older subjects. *Alzheimer's & dementia*. 11(9), 1023-1031.

57. Song, S., Gaynor, A. M., Cruz, E., Lee, S., Gazes, Y., Habeck, C., Stern, Y. and Gu, Y. (2022). Mediterranean Diet and White Matter Hyperintensity Change over Time in Cognitively Intact Adults. *Nutrients*. 14(17),

58. Sánchez-Villegas, A., Galbete, C., Martinez-González, M. Á., Martinez, J. A., Razquin, C., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Buil-Cosiales, P. and Martí, A. (2011). The effect of the Mediterranean diet on plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels: the PREDIMED-NAVARRA randomized trial. *Nutritional neuroscience*. 14(5), 195-201.

59. Morris, M. C. (2006). Docosahexaenoic acid and Alzheimer disease. *Archives of neurology*. 63(11), 1527-1528.

60. Ajith, T. A. (2018). A recent update on the effects of omega-3 fatty acids in Alzheimer's disease. *Current clinical pharmacology*. 13(4), 252-260.

61. Gaudreault, R. and Mousseau, N. (2019). Mitigating Alzheimer’s disease with natural polyphenols: A review. *Current Alzheimer Research*. 16(6), 529-543.

62. Marseglia, A., Xu, W., Fratiglioni, L., Fabbri, C., Berendsen, A. A., Bialecka-Debek, A., Jennings, A., Gillings, R., Meunier, N. and Caumon, E. (2018). Effect of the NU-AGE diet on cognitive functioning in older adults: a randomized controlled trial. *Frontiers in physiology*. 349.

63. Ghosh, T. S., Rampelli, S., Jeffery, I. B., Santoro, A., Neto, M., Capri, M., Giampieri, E., Jennings, A., Candela, M. and Turroni, S. (2020). Mediterranean diet intervention alters the gut microbiome in older people reducing frailty and improving health status: the NU-AGE 1-year dietary intervention across five European countries. *Gut*.

64. Soltani, S., Chitsazi, M. J. and Salehi-Abargouei, A. (2018). The effect of dietary approaches to stop hypertension (DASH) on serum inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Clinical Nutrition*. 37(2), 542-550.

65. Berendsen, A. A., Kang, J. H., van de Rest, O., Feskens, E. J., de Groot, L. C. and Grodstein, F. (2017). The dietary approaches to stop hypertension diet, cognitive function, and cognitive decline in American older women. *Journal of the American Medical Directors Association*. 18(5), 427-432.

66. Hosking, D. E., Eramudugolla, R., Cherbuin, N. and Anstey, K. J. (2019). MIND not Mediterranean diet related to 12-year incidence of cognitive impairment in an Australian longitudinal cohort study. *Alzheimer's & dementia*. 15(4), 581-589.

67. Yaghi, N., El Hayeck, R., Boulos, C., Abifadel, M. and Yaghi, C. (2023). Effect of Mediterranean Dietary Pattern on Cognitive Status in Community-Dwelling Older Adults. *Nutrients*. 15(18), 3911.

68. Paoli, A., Rubini, A., Volek, J. and Grimaldi, K. (2013). Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. *European journal of clinical nutrition*. 67(8), 789-796.

69. Pietrzak, D., Kasperek, K., Rękawek, P. and Piątkowska-Chmiel, I. (2022). The Therapeutic Role of Ketogenic Diet in Neurological Disorders. *Nutrients*. 14(9),

70. Stafstrom, C. E. and Rho, J. M. (2012). The ketogenic diet as a treatment paradigm for diverse neurological disorders. *Front Pharmacol*. 3(59.

71. Miranda, M. J., Turner, Z. and Magrath, G. (2012). Alternative diets to the classical ketogenic diet—Can we be more liberal? *Epilepsy Research*. 100(3), 278-285.

72. Roehl, K. and Sewak, S. L. (2017). Practice Paper of the Academy of Nutrition and Dietetics: Classic and Modified Ketogenic Diets for Treatment of Epilepsy. *J Acad Nutr Diet*. 117(8), 1279-1292.

73. Lange, K. W., Lange, K. M., Makulska-Gertruda, E., Nakamura, Y., Reissmann, A., Kanaya, S. and Hauser, J. (2017). Ketogenic diets and Alzheimer’s disease. *Food Science and Human Wellness*. 6(1), 1-9.

74. Puchalska, P. and Crawford, P. A. (2017). Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metab*. 25(2), 262-284.

75. Pinto, A., Bonucci, A., Maggi, E., Corsi, M. and Businaro, R. (2018). Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Activity of Ketogenic Diet: New Perspectives for Neuroprotection in Alzheimer's Disease. *Antioxidants (Basel)*. 7(5),

76. Mosconi, L. (2005). Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of Alzheimer's disease. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 32(4), 486-510.

77. Veech, R. L. (2004). The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*. 70(3), 309-319.

78. Verdile, G., Keane, K. N., Cruzat, V. F., Medic, S., Sabale, M., Rowles, J., Wijesekara, N., Martins, R. N., Fraser, P. E. and Newsholme, P. (2015). Inflammation and oxidative stress: the molecular connectivity between insulin resistance, obesity, and Alzheimer's disease. *Mediators of inflammation*. 2015(

79. Taggart, A. K., Kero, J., Gan, X., Cai, T.-Q., Cheng, K., Ippolito, M., Ren, N., Kaplan, R., Wu, K. and Wu, T.-J. (2005). (D)-β-hydroxybutyrate inhibits adipocyte lipolysis via the nicotinic acid receptor PUMA-G. *Journal of Biological Chemistry*. 280(29), 26649-26652.

80. Zandi-Nejad, K., Takakura, A., Jurewicz, M., Chandraker, A. K., Offermanns, S., Mount, D. and Abdi, R. (2013). The role of HCA2 (GPR109A) in regulating macrophage function. *The FASEB journal*. 27(11), 4366.

81. Shimazu, T., Hirschey, M. D., Newman, J., He, W., Shirakawa, K., Le Moan, N., Grueter, C. A., Lim, H., Saunders, L. R. and Stevens, R. D. (2013). Suppression of oxidative stress by β-hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*. 339(6116), 211-214.

82. Chorley, B. N., Campbell, M. R., Wang, X., Karaca, M., Sambandan, D., Bangura, F., Xue, P., Pi, J., Kleeberger, S. R. and Bell, D. A. (2012). Identification of novel NRF2-regulated genes by ChIP-Seq: influence on retinoid X receptor alpha. *Nucleic Acids Res*. 40(15), 7416-7429.

83. Yang, Y. and Sauve, A. A. (2016). NAD+ metabolism: Bioenergetics, signaling and manipulation for therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 1864(12), 1787-1800.

84. Sullivan, P. G., Rippy, N. A., Dorenbos, K., Concepcion, R. C., Agarwal, A. K. and Rho, J. M. (2004). The ketogenic diet increases mitochondrial uncoupling protein levels and activity. *Annals of neurology*. 55(4), 576-580.

85. Park, S., Zhang, T., Wu, X. and Yi Qiu, J. (2020). Ketone production by ketogenic diet and by intermittent fasting has different effects on the gut microbiota and disease progression in an Alzheimer's disease rat model. *J Clin Biochem Nutr*. 67(2), 188-198.

86. Luiskari, L., Launonen, H., Lindén, J., Lehto, M., Vapaatalo, H., Salmenkari, H. and Korpela, R. (2023). Ketogenic Diet High in Saturated Fat Promotes Colonic Claudin Expression without Changes in Intestinal Permeability to Iohexol in Healthy Mice. *Nutrients*. 16(1), 18.

87. Olson, C. A., Vuong, H. E., Yano, J. M., Liang, Q. Y., Nusbaum, D. J. and Hsiao, E. Y. (2018). The gut microbiota mediates the anti-seizure effects of the ketogenic diet. *Cell*. 173(7), 1728-1741. e1713.

88. Ang, Q. Y., Alexander, M., Newman, J. C., Tian, Y., Cai, J., Upadhyay, V., Turnbaugh, J. A., Verdin, E., Hall, K. D. and Leibel, R. L. (2020). Ketogenic diets alter the gut microbiome resulting in decreased intestinal Th17 cells. *Cell*. 181(6), 1263-1275. e1216.

89. Stenman, L. K., Holma, R. and Korpela, R. (2012). High-fat-induced intestinal permeability dysfunction associated with altered fecal bile acids. *World J Gastroenterol*. 18(9), 923-929.

90. Müller, V. M., Zietek, T., Rohm, F., Fiamoncini, J., Lagkouvardos, I., Haller, D., Clavel, T. and Daniel, H. (2016). Gut barrier impairment by high-fat diet in mice depends on housing conditions. *Molecular nutrition & food research*. 60(4), 897-908.

91. Graff, E. C., Fang, H., Wanders, D. and Judd, R. L. (2016). Anti-inflammatory effects of the hydroxycarboxylic acid receptor 2. *Metabolism*. 65(2), 102-113.

92. Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M. and Burcelin, R. (2008). Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 57(6), 1470-1481.

93. Ebert and Kirch (1998). Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *European journal of clinical investigation*. 28(11), 944-949.

94. Klinkenberg, I. and Blokland, A. (2010). The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 34(8), 1307-1350.

95. Yoo, J.-M., Lee, B. D., Sok, D.-E., Ma, J. Y. and Kim, M. R. (2017). Neuroprotective action of N-acetyl serotonin in oxidative stress-induced apoptosis through the activation of both TrkB/CREB/BDNF pathway and Akt/Nrf2/Antioxidant enzyme in neuronal cells. *Redox biology*. 11,592-599.

96. Lee, J. C., Park, J. H., Ahn, J. H., Park, J., Kim, I. H., Cho, J. H., Shin, B. N., Lee, T. K., Kim, H., Song, M., Cho, G. S., Kim, D. W., Kang, I. J., Kim, Y. M., Won, M. H. and Choi, S. Y. (2018). Effects of chronic scopolamine treatment on cognitive impairment and neurofilament expression in the mouse hippocampus. *Mol Med Rep*. 17(1), 1625-1632.

97. Rahimzadegan, M. and Soodi, M. (2018). Comparison of Memory Impairment and Oxidative Stress Following Single or Repeated Doses Administration of Scopolamine in Rat Hippocampus. *Basic Clin Neurosci*. 9(1), 5-14.

98. Camarasa, J., Marimón, J. M., Rodrigo, T., Escubedo, E. and Pubill, D. (2008). Memantine prevents the cognitive impairment induced by 3, 4-

methylenedioxymethamphetamine in rats. *European journal of pharmacology*. 589(1-3), 132-139.

99. Prakash, A., Medhi, B. and Chopra, K. (2013). Granulocyte colony stimulating factor (GCSF) improves memory and neurobehavior in an amyloid-β induced experimental model of Alzheimer's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 110, 46-57.

100. Tuzcu, M. and Baydas, G. (2006). Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *European journal of pharmacology*. 537(1-3), 106-110.

101. Ennaceur, A. and Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural brain research*. 31(1), 47-59.

102. Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M. and Asnicar, F. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*. 37(8), 852-857.

103. Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A. and Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*. 13(7), 581-583.

104. Schloss Patrick, D. (2021). Amplicon Sequence Variants Artificially Split Bacterial Genomes into Separate Clusters. *mSphere*. 6(4), 191-121.

105. Werner, J. J., Koren, O., Hugenholtz, P., DeSantis, T. Z., Walters, W. A., Caporaso, J. G., Angenent, L. T., Knight, R. and Ley, R. E. (2012). Impact of training sets on classification of high-throughput bacterial 16s rRNA gene surveys. *The ISME journal*. 6(1), 94-103.

106. Team, R. C. (2020). RA language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical. *Computing*.

107. McMurdie, P. J. and Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*. 8(4), 612-617.

108. Lozupone, C. A., Hamady, M., Kelley, S. T. and Knight, R. (2007). Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and environmental microbiology*. 73(5), 1576-1585.

109. Lozupone, C. and Knight, R. (2005). UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*. 71(12), 8228-8235.

110. Kruskal, W. H. and Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association*. 47(260), 583-621.

111. Love, M. I., Huber, W. and Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome biology*. 15,1-21.

112. Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W. S. and Huttenhower, C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome biology*. 12,1-18.

113. Brownlow, M. L., Jung, S. H., Moore, R. J., Bechmann, N. and Jankord, R. (2017). Nutritional ketosis affects metabolism and behavior in Sprague-Dawley rats in both control and chronic stress environments. *Frontiers in molecular neuroscience*. 10,129.

114. Baek, S. Y., Li, F. Y., Kim, D. H., Kim, S. J. and Kim, M. R. (2020). Enteromorpha prolifera extract improves memory in scopolamine-treated mice via downregulating amyloid-β expression and upregulating BDNF/TrkB pathway. *Antioxidants*. 9(7), 620.

115. Yıldırım, S., Nalbantoğlu, Ö. U., Bayraktar, A., Ercan, F. B., Gündoğdu, A., Velioğlu, H. A., Göl, M. F., Soylu, A. E., Koç, F. and Gülpınar, E. A. (2022). Stratification of the gut microbiota composition landscape across the Alzheimer's disease continuum in a Turkish cohort. *Msystems*. 7(1), 4-22.

116. Xu, K., Sun, X., Eroku, B. O., Tsipis, C. P., Puchowicz, M. A. and LaManna, J. C. (2010). Diet-induced ketosis improves cognitive performance in aged rats. *Oxygen Transport to Tissue XXXI*. *Springer*, 71-75.

117. Borsom, E. M., Conn, K., Keefe, C. R., Herman, C., Orsini, G. M., Hirsch, A. H., Palma Avila, M., Testo, G., Jaramillo, S. A. and Bolyen, E. (2023). Predicting neurodegenerative disease using prepathology gut microbiota composition: a longitudinal study in mice modeling Alzheimer's disease pathologies. *Microbiology Spectrum*. 11(2), e03458-03422.

118. Zheng, J. Y., Kang, T., Jiang, C., Lin, L. K., Gao, L., Jin, L. H., Shu, Y., Zhang, J. J., Li, C. and Chen, B. (2023). Gut microbiome and brain transcriptome analyses reveal the effect of walnut oil in preventing scopolamine-induced cognitive impairment. *Food & Function*. 14(21), 9707-9724.

119. Zhao, T., Zhong, S., Xu, J., Jiao, W., Liu, W., Huang, L., Zhang, Y. and Zhang, Y. (2022). PAYCS alleviates scopolamine-induced memory deficits in mice by reducing oxidative and inflammatory stress and modulation of gut microbiota-fecal metabolites-brain neurotransmitter axis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 70(9), 2864-2875.

120. Marizzoni, M., Mirabelli, P., Mombelli, E., Coppola, L., Festari, C., Lopizzo, N., Luongo, D., Mazzelli, M., Naviglio, D. and Blouin, J.-L. (2023). A peripheral signature of Alzheimer's disease featuring microbiota-gut-brain axis markers. *Alzheimer's Research & Therapy*. 15(1), 101.

121. Lu, X., Xue, Z., Qian, Y., Wei, S., Qiao, Y., Zhang, W. and Lu, H. (2022). Changes in intestinal microflora and its metabolites underlie the cognitive impairment in preterm rats. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 12,945851.

122. Cheung, S. G., Goldenthal, A. R., Uhlemann, A.-C., Mann, J. J., Miller, J. M. and Sublette, M. E. (2019). Systematic review of gut microbiota and major depression. *Frontiers in psychiatry*. 10,34.

123. Katz Sand, I., Zhu, Y., Ntranos, A., Clemente, J. C., Cekanaviciute, E., Brandstadter, R., Crabtree-Hartman, E., Singh, S., Bencosme, Y. and Debelius, J. (2018). Disease-modifying therapies alter gut microbial composition in MS. *Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 6(1), e517.

124. 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. and Blennow, K. (2017). Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientific reports*. 7(1), 13537.

125. Sheng, C., Yang, K., He, B., Du, W., Cai, Y. and Han, Y. (2022). Combination of gut microbiota and plasma amyloid-β as a potential index for identifying preclinical Alzheimer's disease: a cross-sectional analysis from the SILCODE study. *Alzheimer's Research & Therapy*. 14(1), 35.

126. Lukiw, W. J. (2016). Bacteroides fragilis lipopolysaccharide and inflammatory signaling in Alzheimer's disease. *Frontiers in microbiology*. 7,1544.

127. Li, B., He, Y., Ma, J., Huang, P., Du, J., Cao, L., Wang, Y., Xiao, Q., Tang, H. and Chen, S. (2019). Mild cognitive impairment has similar alterations as Alzheimer's disease in gut microbiota. *Alzheimer's & Dementia*. 15(10), 1357-1366.

128. Park, J.-Y., Choi, J., Lee, Y., Lee, J.-E., Lee, E.-H., Kwon, H.-J., Yang, J., Jeong, B.-R., Kim, Y.-K. and Han, P.-L. (2017). Metagenome analysis of bodily microbiota in a mouse model of Alzheimer disease using bacteria-derived membrane vesicles in blood. *Experimental neurobiology*. 26(6), 369.

129. Hou, Y.-f., Shan, C., Zhuang, S.-y., Zhuang, Q.-q., Ghosh, A., Zhu, K.-c., Kong, X.-k., Wang, S.-m., Gong, Y.-l. and Yang, Y.-y. (2021). Gut microbiota-derived propionate mediates the neuroprotective effect of osteocalcin in a mouse model of Parkinson's disease. *Microbiome*. 9,1-17.

130. Zhai, Q., Feng, S., Arjan, N. and Chen, W. (2019). A next generation probiotic, Akkermansia muciniphila. *Critical reviews in food science and nutrition*. 59(19), 3227-3236.

131. Li, Z., Zhu, H., Zhang, L. and Qin, C. (2018). The intestinal microbiome and Alzheimer's disease: A review. *Animal Models and Experimental Medicine*. 1(3), 180-188.

132. Lei, W., Cheng, Y., Gao, J., Liu, X., Shao, L., Kong, Q., Zheng, N., Ling, Z. and Hu, W. (2023). Akkermansia muciniphila in neuropsychiatric disorders: friend or foe? *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 13,1224155.

133. Badal, V. D., Vaccariello, E. D., Murray, E. R., Yu, K. E., Knight, R., Jeste, D. V. and Nguyen, T. T. (2020). The gut microbiome, aging, and longevity: a systematic review. *Nutrients*. 12(12), 3759.

134. Huang, H.-J., Chen, J.-L., Liao, J.-F., Chen, Y.-H., Chieu, M.-W., Ke, Y.-Y., Hsu, C.-C., Tsai, Y.-C. and Hsieh-Li, H. M. (2022). Correction: Lactobacillus plantarum PS128 prevents cognitive dysfunction in alzheimer's disease mice by modulating propionic acid levels, glycogen synthase kinase 3 beta activity, and gliosis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 21, 11-16.

135. Song, X., Zhao, Z., Zhao, Y., Wang, Z., Wang, C., Yang, G. and Li, S. (2022). Lactobacillus plantarum DP189 prevents cognitive dysfunction in D-galactose/AlCl3 induced mouse model of Alzheimer's disease via modulating gut microbiota and PI3K/Akt/GSK-3β signaling pathway. *Nutritional neuroscience*. 25(12), 2588-2600.

136. Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P., Cani, P. D. and Bäckhed, F. (2015). Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell metabolism*. 22(4), 658-668.

137. Zhao, Z., Shi, A., Wang, Q. and Zhou, J. (2019). High oleic acid peanut oil and extra virgin olive oil supplementation attenuate metabolic syndrome in rats by modulating the gut microbiota. *Nutrients*. 11(12), 3005.

138. Luisi, M. L. E., Lucarini, L., Biffi, B., Rafanelli, E., Pietramellara, G., Durante, M., Vidali, S., Provensi, G., Madiai, S. and Gheri, C. F. (2019). Effect of Mediterranean diet enriched in high quality extra virgin olive oil on oxidative stress, inflammation and gut microbiota in obese and normal weight adult subjects. *Frontiers in pharmacology*. 10,1366.

139. Hidalgo, M., Prieto, I., Abriouel, H., Villarejo, A. B., Ramírez-Sánchez, M., Cobo, A., Benomar, N., Gálvez, A. and Martínez-Cañamero, M. (2018). Changes in gut microbiota linked to a reduction in systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats fed an extra virgin olive oil-enriched diet. *Plant foods for human nutrition*. 73,1-6.

140. Millman, J. F., Okamoto, S., Teruya, T., Uema, T., Ikematsu, S., Shimabukuro, M. and Masuzaki, H. (2021). Extra-virgin olive oil and the gut-brain axis: influence on gut microbiota, mucosal immunity, and cardiometabolic and cognitive health. *Nutrition Reviews*. 79(12), 1362-1374.

141. Chen, F., Zhang, L., Liu, Y., Zhang, A. and Wang, W. (2024). Resveratrol alleviates perinatal methylmercury-induced neurobehavioral impairments by modulating the gut microbiota composition and neurotransmitter disturbances. *Environmental toxicology*. 39(1), 329-340.

142. Szewczyk, A., Andres-Mach, M., Zagaja, M., Kaczmarczyk-Ziemba, A., Maj, M. and Szala-Rycaj, J. (2023). The effect of a diet enriched with Jerusalem artichoke, inulin, and fluoxetine on cognitive functions, neurogenesis, and the composition of the intestinal microbiota in mice. *Current Issues in Molecular Biology*. 45(3), 2561-2579.

143. Song, X., Zhong, L., Lyu, N., Liu, F., Li, B., Hao, Y., Xue, Y., Li, J., Feng, Y. and Ma, Y. (2019). Inulin can alleviate metabolism disorders in ob/ob mice by partially restoring leptin-related pathways mediated by gut microbiota. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*. 17(1), 64-75.

144. Nakayama, J., Yamamoto, A., Palermo-Conde, L. A., Higashi, K., Sonomoto, K., Tan, J. and Lee, Y.-K. (2017). Impact of westernized diet on gut microbiota in children on Leyte Island. *Frontiers in microbiology*. 8,197.

145. Bello-Medina, P. C., Corona-Cervantes, K., Zavala Torres, N. G., González, A., Pérez-Morales, M., González-Franco, D. A., Gómez, A., García-Mena, J., Díaz-Cintra, S. and Pacheco-López, G. (2022). Chronic-antibiotics induced gut microbiota dysbiosis rescues memory impairment and reduces β-amyloid aggregation in a preclinical Alzheimer's disease model. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(15), 8209.

146. Haikal, C., Chen, Q.-Q. and Li, J.-Y. (2019). Microbiome changes: an indicator of Parkinson's disease? *Translational Neurodegeneration*. 8(1), 38.

147. Coffey, M. J., Nielsen, S., Wemheuer, B., Kaakoush, N. O., Garg, M., Needham, B., Pickford, R., Jaffe, A., Thomas, T. and Ooi, C. Y. (2019). Gut microbiota in children with cystic fibrosis: a taxonomic and functional dysbiosis. *Scientific reports*. 9(1), 18593.

148. Wu, M.-R., Chou, T.-S., Huang, C.-Y. and Hsiao, J.-K. (2020). A potential probiotic-Lachnospiraceae NK4A136 group: Evidence from the restoration of the dietary pattern from a high-fat diet.

149. Xie, J., Li, L. f., Dai, T. y., Qi, X., Wang, Y., Zheng, T. z., Gao, X. y., Zhang, Y. j., Ai, Y. and Ma, L. (2022). Short-Chain fatty acids produced by Ruminococcaceae mediate α-linolenic acid promote intestinal stem cells proliferation. *Molecular nutrition & food research*. 66(1), 2100408.

150. van Trijp, M. P., Schutte, S., Esser, D., Wopereis, S., Hoevenaars, F. P., Hooiveld, G. J. and Afman, L. A. (2021). Minor changes in the composition and function of the gut microbiota during a 12-week whole grain wheat or refined wheat intervention correlate with liver fat in overweight and obese adults. *The Journal of nutrition*. 151(3), 491-502.

151. Hiippala, K., Jouhten, H., Ronkainen, A., Hartikainen, A., Kainulainen, V., Jalanka, J. and Satokari, R. (2018). The potential of gut commensals in reinforcing intestinal barrier function and alleviating inflammation. *Nutrients*. 10(8), 988.

152. Hoffmann, T. W., Pham, H.-P., Bridonneau, C., Aubry, C., Lamas, B., Martin-Gallausiaux, C., Moroldo, M., Rainteau, D., Lapaque, N. and Six, A. (2016). Microorganisms linked to inflammatory bowel disease-associated dysbiosis differentially impact host physiology in gnotobiotic mice. *The ISME journal*. 10(2), 460-477.

153. Wang, Z., Sun, Y., Zhang, D., Wang, Y., Zhou, D., Li, W., Yan, J., Chen, Y., Luo, S. and Qian, Z. (2024). Gut microbiota and inflammation analyses reveal the protective effect of medium-chain triglycerides combined with docosahexaenoic acid on cognitive function in APP/PS1 and SAMP8 mice. *Nutrition research*.

154. Scheperjans, F., Aho, V., Pereira, P. A., Koskinen, K., Paulin, L., Pekkonen, E., Haapaniemi, E., Kaakkola, S., Eerola-Rautio, J. and Pohja, M. (2015). Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders*. 30(3), 350-358.

155. Cryan, J. F. and Dinan, T. G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature reviews neuroscience*. 13(10), 701-712.

156. McCann, A., Jeffery, I. B., Ouliass, B., Ferland, G., Fu, X., Booth, S. L., Tran, T. T., Paul, W. T. and Eibhlís, M. C. (2019). Exploratory analysis of covariation of microbiota-derived vitamin K and cognition in older adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 110(6), 1404-1415.

157. Hatayama, K., Ebara, A., Okuma, K., Tokuno, H., Hasuko, K., Masuyama, H., Ashikari, I. and Shirasawa, T. (2023). Characteristics of intestinal microbiota in Japanese patients with mild cognitive impairment and a risk-estimating method for the disorder. *Biomedicines*. 11(7), 1789.

158. Palm, N. W., De Zoete, M. R., Cullen, T. W., Barry, N. A., Stefanowski, J., Hao, L., Degnan, P. H., Hu, J., Peter, I. and Zhang, W. (2014). Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. *Cell*. 158(5), 1000-1010.

159. Radjabzadeh, D., Bosch, J. A., Uitterlinden, A. G., Zwinderman, A. H., Ikram, M. A., van Meurs, J. B., Luik, A. I., Nieuwdorp, M., Lok, A. and van Duijn, C. M. (2022). Gut microbiome-wide association study of depressive symptoms. *Nature communications*. 13(1), 7128.

160. Chen, G., Zhou, X., Zhu, Y., Shi, W. and Kong, L. (2023). Gut microbiome characteristics in subjective cognitive decline, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Neurology*. 30(11), 3568-3580.

161. Sun, T., Du, H., Li, Z., Xiong, J., Liu, Y., Li, Y., Zhang, W., Liang, F., He, J. and Liu, X. (2023). Decoding the contributions of gut microbiota and cerebral metabolism in acute liver injury mice with and without cognitive dysfunction. *CNS neuroscience & therapeutics*. 29(31-42.

EKLER

EK-1. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 02.02.2023-E.579070

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

Sayı : E-66332047-604.01.02-579070 02.02.2023
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Saniye BİLİCİ
Toplu Beslenme Sistemleri Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Saniye BİLİCİ, Şerife AYTEN ve Atiye Seda SAĞLAM YAR'dan oluşan, G.Ü.ET-23.010 kod numaralı ve ***"Orta Düzey Bilişsel Bozuklukta Farklı Tip Ketojenik Diyet Modellerinin Bağırsak Mikrobiyomu ile İlişkisi"*** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-23.010 and entitled ***"The Interaction of Different Types of Ketogenic Diets With the Gut Microbiome in the Mild Cognitive Impairment"*** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Commitee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar
Hayvan Sayısı : 36

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

EK-1. (devam) Çalışma Etik Komisyon Raporu

~~Evrak Tarih ve Sayısı: 02.02.2023-E.579070~~

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 20/01/2023	TOPLANTI SAYISI : 01
ADI-SOYADI	**İMZA**
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.İlker ŞEN	
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.İpek SÜNTAR	
Prof.Dr.Serkan YAVUZ	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER	
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN	
Doç.Dr.Elvan ANADOL	
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ	
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN	
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ	
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN	
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYTEN, Şerife

Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti

Eğitim Derecesi	**Okul/Program**	**Mezuniyet Yılı**
Doktora	Gazi Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik	2020
Lisans	Başkent Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik	2018
Lise	Fethiye Kemal Mumcu Anadolu Lisesi	2013

İş Deneyimi

2020-devam ediyor	Gazi Üniversitesi	Araştırma Gör.
2024-2024	Teagasc	Misafir Araştırmacı
2022-2022	University of Copenhagen	Misafir Araştırmacı
2021-2021	University Valencia	Misafir Araştırmacı
2019-2020	Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi	Araştırma Gör.

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Tek, N.A., Ayten, Ş., Gövez, N.E. (2024) Acute change in resting energy expenditure and vital signs in response to white tea consumption in females: a pilot study. *Nutr Metab* 21, 88.
2. Ayten, Ş., & Bilici, S. (2024). Modulation of Gut Microbiota Through Dietary Intervention in Neuroinflammation and Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Current Nutrition Reports*, 1-15.
3. Gövez, N. E., Şentüre, Ş. A., Ayten, Ş., & Köksal, E. (2023). Evaluation of the Turkey Nutrition and Health Surveys according to the mediterranean adequacy index and sustainability through water footprints. *Public health nutrition*, *26*(12), 2927-2935.

4. Ağagündüz, D., Şahin, T. Ö., Ayten, Ş., Yılmaz, B., Güneşliol, B. E., Russo, P., & Özogul, F. (2022). Lactic acid bacteria as pro-technological, bioprotective and health-promoting cultures in the dairy food industry. *Food Bioscience*, *47*, 101617.
5. Ağagündüz, D., Yılmaz, B., Şahin, T. Ö., Güneşliol, B. E., Ayten, Ş., Russo, P., & Özogul, F. (2021). Dairy lactic acid bacteria and their potential function in dietetics: The food–gut-health axis. *Foods*, *10*(12), 3099.
6. Ulaş Kadıoğlu, B., & Ayten, Ş. (2021). Akdeniz Diyetine Uyum ve Üniversite Öğrencilerinin Bazı Antropometrik Özellikleri. *Online Turkish Journal of Health Sciences (OTJHS)*, *6*(1).

Bilimsel Toplantı ve Kongrelerde Yayınlanan Bildiriler

1. Yılmaz, B., Şahin, T. Ö., Güneşliol, B. E., Ayten, Ş., Kalyoncu Atasoy, Z. B., & Ağagündüz, D. (2023). *Dietitians' Expectations From The Food Industry Regarding Preventing Obesity During The Covid-19 Pandemic*. 2. Uluslararası Gıda Kimyası Kongresi, Antalya, Turkey.
2. Erzurum Alim, N., & Ayten, Ş. (2019). *Uyku Bozuklukları ve Kardiyovasküler Hastalıklar.* 3rd International Symposium on Innovative Approaches in Scientific Studies, Ankara, Turkey.

Projeler

1. Orta Düzey Bilişsel Bozuklukta Farklı Tip Ketojenik Diyet Modellerinin Bağırsak Mikrobiyomu ile İlişkisi: Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir.
2. Orta Düzey Bilişsel Bozuklukta Farklı Tip Ketojenik Diyet Modellerinin Bağırsak Mikrobiyomu ile İlişkisi: TUBİTAK 1002B Acil Destek Modülü ile desteklenmektedir.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...