



**T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİKKAT EKSİKLİĞİ VE HİPERAKTİVİTE BOZUKLUĞU OLAN
ÇOCUKLARDA, NÖROPLASTİSİTE VE NÖROPROTEKTİF SÜREÇLERİN
İNCELENMESİ**

Hamdullah BULUT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**OCAK-2016
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Hamdullah BULUT tarafından hazırlanan “Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu olan çocuklarda, nöroplastisite ve nöroprotektif süreçlerin incelenmesi” adlı tez çalışması 15.01.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Nasrettin GENLİ

Danışman

Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

Üye

Yrd. Doç. Dr. Beşir DAĞ

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Doç. Dr. M. Tahir NALBANTÇILAR
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından BTÜBAP_2015_Yüksek Lisans_3 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Hamdullah BULUT

Tarih: 15.01.2016

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ DİKKAT EKSİKLİĞİ VE HİPERAKTİVİTE BOZUKLUĞU OLAN ÇOCUKLARDA, NÖROPLASTİSİTE VE NÖROPROTEKTİF SÜREÇLERİN İNCELENMESİ

Hamdullah BULUT

**Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

2016,63 Sayfa

Jüri

Yrd. Dr. Nasrettin GENLİ

Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

Yrd. Doç. Dr. Beşir DAĞ

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun tam olarak nedeni bilinmemekte ancak, dopaminerjik ve nöradrenerjik aktivitelerin inhibitör etkisi ile serebral korteks içindeki katekolamin metabolizmasındaki düzensizlik DEHB'nin en muhtemel nedenidir. Nörobiyolojik faktörler DEHB'nin etiyolojisinde rol oynamaktadır. Fakat DEHB'nin prognozunu ve tedavisini etkileyen biyolojik markırlar çok sınırlıdır.

Bu çalışmanın Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Psikiyatri Polikliniğine başvuran, DEHB tanısı alan ve başka herhangi bir sistemik bozukluğu olmayan 30 çocuk ve 30 sağlıklı çocuk ile yapılması planlandı. Glial fibriler asidik protein (GFAP), Nogo-A, ubikuitin karboksi terminal hidrolaz-L1 (UCH-L1) ve TAR DNA bağlayıcı protein (TDP-43) serum düzeyleri Enzim-bağlı-immunosorbent yöntemi ile belirlendi.

Çalışmamızda UCH-L1 ve TDP-43 düzeylerinin kontrol grubu değerlerine göre DEHB grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde Nogo-A ve GFAP düzeyleri de DEHB grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Nöroplastik bozuklukların DEHB ile ilişkili olduğunu ve TDP-43 ve UCH-L1 düzeylerinin DEHB bozukluğunun erkenden tanılanmasını büyük oranda kolaylaştırabileceğini öne sürebiliriz. Ancak TDP-43 ve UCH-L1seroprosipal sıvı düzeylerinin DEHB bozukluğu çocuklarında henüz belirsizdir ve bu konu daha fazla araştırma yapılmayı hak etmektedir. Dahası, GFAP ve Nogo-A seviyeleri DEHB'de nöroplastisite, microglial ve astroglial değişikliklerinin de bir kanıtı olabilir.

Anahtar Kelimeler: DEHB, GFAP, Nogo-A, TDP-43, UCH-L1

ABSTRACT

MS THESIS

EXAMINATION OF NEUROPLASTICITY AND NEUROPROTECTION PROCESS IN CHILDREN WITH ATTENTION DEFICIT HYPERACTIVITY DISORDER

Hamdullah BULUT

The Graduate School of Natural and Applied Science of Batman University

the Degree of Master of Science

In Chemistry

Advisor: Asst. Prof. Dr. İhsan ÇETİN

2016, 63 Pages

Jury

Yrd. Dr. Nasrettin GENLİ

Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

Yrd. Doç. Dr. Beşir DAĞ

Although the reason for attention deficit and hyperactivity disorder is not known exactly, with inhibitor effect of dopaminergic and noradrenergic activities, disorder in catecholamine metabolism in cerebral cortex is the most possible cause of ADHD. Neurobiological factors play an important role in the ethology of ADHD. However, the biological markers effecting the prognosis and treatment of ADHD are very limited.

This study was planned to be conducted with the inclusion of 30 children who applied to Dicle University, Medicine Faculty, Psychiatry Polyclinic, and were diagnosed with ADHD yet without any systemic disease; and 30 healthy children. The serum levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP), nogo-A, ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) and TAR DNA binding protein (TDP-43) were determined by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

In our study, it was found that serum levels of UCH-L1 and TDP-43 levels were statistically significantly higher in ADHD children than those of control group. Similarly, Nogo-A and GFAP levels were also found to be statistically significantly high in ADHD group.

It can be suggested that neuroplasticity disorders are associated with ADHD and the levels of TDP-43 and UCH-L1 can ease the early diagnosis of ADHD to a great extent. Nevertheless, the cerebrospinal fluid levels of TDP-43 and UCH-L1 are yet unclear in children with ADHD; therefore, this issue deserves further investigation. In addition, GFAP and Nogo-A levels can be an evidence of neuroplasticity, microglial and astroglial changes in ADHD.

Keywords: ADHD, GFAP, Nogo-A, TDP-43, UCH-L1

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli şartların hazırlanmasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, ayrıca çalışmamın oluşum aşamasında ve sonrasında değerli görüşlerini benimle cömertçe paylaşan bilgi, birikim ve desteklerinden yararlandığım Batman Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Sağlık Yüksek Okulu'nda görev yapmakta olan değerli şefim ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN'e, bu tezin gerçekleşmesine olanak veren, birlikte yürüttüğümüz bu çalışmamızda araştırma gruplarının seçimi ve toplanmasında destek sağlayan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Psikiyatri ABD'nda ihtisas yapmakta olan Yrd. Doç. Dr. Şeref ŞİMŞEK'e, çalışmamın laboratuvar ile ilgili katkılarından ve her türlü donanım konusunda bize imkan sağlayan başta Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD başkanı Prof. Dr. Kadri GÜL'e ve tüm laboratuvar ekibine teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca mesleğimde yetişmeme katkıda bulunan, anlayış ve sabırla bana çalışma zamanı yaratan, bugünlere gelmemi sağlayan, varlıklarından güç bulduğum ve desteklerini her zaman hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Bu tez Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Fonu tarafından desteklenmiştir

Hamdullah BULUT
BATMAN-2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
GİRİŞ.....	1
1.1. Konunun Önemi	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Tarihçe	4
2.1.3 Klinik özellikler ve tanı	4
2.1.4. Sınıflandırılması.....	5
2.1.5. Epidemiyoloji.....	5
2.2 Etyopatogenezi.....	6
2.2.1. Psikodinamik ailesel etmenler	6
2.2.2. Genetik etmenler.....	7
2.2.3. Gebelik, doğum anı ve doğum sonrası etmenler.....	7
2.2.4. Nöroanatomik etmenler	8
2.2.5. Nörobiyolojik ve Nörobiyokimyasal etmenler	9
2.3. Nörodejeneratif Hastalıklar ve Gelişimsel Dönem	9
2.4. Beyin Hücreleri ve proteinleri	11
2.4.1. Makroglia hücreleri.....	12
2.4.2. Mikroglia hücreleri glial fibriller asidik protein	12
2.4.3.Nogo-A	16
2.4.4. Ubikuitin karboksil terminal hidrolaz-L1 enzimi	18
2.4.5.Ubikuitin sistem.....	19
2.4.6.Ubikuitinasyon mekanizması.....	19
2.4.7.Ubikuitinin nörodejeneratif hastalıklardaki rolü.....	21
2.4.8. Transaktif Yanıt DNA Bağlayıcı Protein-43	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1. Araştırma Grupları	25
3.1.1. DEHB grubu	25
3.2. Uygulanan Form Ve Ölçekler	26
3.3. Kontrol grubu.....	27
3.4. Numunelerin Alınması, Transferi ve Laboratuvar Çalışması.....	27
3.5. Araştırmada Kullanılan Gereçler.....	28
3.6. Serumda TDP-43 ölçümü	28

3.6.1. Kullanılan kitin içeriği	28
3.6.2. TDP-43 ölçümünün prensibi	29
3.6.3. Ölçüm prosedürü.....	29
3.6.4. Hesaplama.....	30
3.7. Serumda UCH-L1 Ölçümü	31
3.7.1. Kullanılan kitin içeriği	31
3.7.2. UCH-L1 ölçümünün prensibi	31
3.7.3. Ölçüm prosedürü.....	32
3.7.4. Hesaplama.....	32
3.8. Serumda Nogo-A Ölçümü	33
3.8.1. Kullanılan kitin içeriği	33
3.8.2. Nogo-A ölçümünün prensibi	34
3.8.3. Ölçüm prosedürü.....	34
3.8.4. Hesaplama.....	35
3.9. Serumda GFAP Ölçümü	36
3.9.1. Kullanılan kitin içeriği	36
3.9.2. GFAP ölçümünün prensibi	36
3.9.3. Ölçüm prosedürü.....	36
3.9.4. Hesaplama.....	37
3.10. Verilerin Değerlendirilmesi ve istatistikler.....	38
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	39
4.1. TDP-43 ve UCHL-1 Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları.....	40
4.2. Nogo-A ve GFAP Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları.....	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	47
5.1. Sonuçlar.....	47
5.2. Öneriler.....	47
KAYNAKLAR	48
EKLER.....	62
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

DEHB	:Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu
ABD	: Anabilim Dalı
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
APA	: American Psychological Association (Amerikan Psikiyatri Birliği)
DSM	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EEG	: Elektroensefalogram
ELISA	: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
GFAP	: Glial fibrillary acidic protein
MSS	: Merkezi sinir sistemi
TDP-43	: Transaktif Response DNA-Binding Protein-43
UCH-L1	: Ubikuitin karboksi terminal hidrolaz-L1 enzimi
YGB	: Yaygın gelişimsel bozukluk

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Şekil 2. 1. Astrosit, mikroglia ve oligodendrositlerin gösterimi.....	13
Şekil 2. 2. Sinir hücresinin şematik gösterimi	14
Şekil 2. 3. Sinaptik plastisite Nogo-A'nın regülatör olarak görev yapması	18
Şekil 2. 4. Ubikuitinasyon mekanizması	20
Şekil 2. 5. TDP-43 geni	23
Şekil 3. 1. TDP-43 standart grafiği	30
Şekil 3. 2. UCH-L1 standart grafiği.....	33
Şekil 3. 3. Nogo-A standart grafiği.....	35
Şekil 3. 4. GFAP standart grafiği.....	38
Şekil 4. 1. Kontrol ve DEHB grubuna ait temel karakteristikler	39
Şekil 4. 2. Kontrol ve DEHB grubuna ait biyokimyasal değerler	40
Şekil 4. 3. Kontrol grubu ile DEHB grubu TDP-43 düzeylerinin karşılaştırılması.....	41
Şekil 4. 4. Kontrol grubu ile DEHB grubu UCH-L1 düzeylerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4. 5. Kontrol grubu ile DEHB grubu Nogo-A düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 4. 6. Kontrol grubu ile DEHB grubu GFAP düzeylerinin karşılaştırılması.....	46

EKLERİN DİZİNİ

EK-1 Etik Kurul Onayı	62
-----------------------------	----

1. GİRİŞ

1.1 . Konunun Önemi

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun davranışsal sinaptik transmisyon, öğrenme ve fizyolojik fonsiyonları içine alan birçok gen ile ilişki olduğu ifade edilmiştir. Ubukuitin proteozon yolunun proteolizi birçok nöral fonsiyonları kontrol mekanizmalarında ve merkezi sinir sistemeleri gelişimindeki sinaptik bağlanmasında rol aldığı görülmektedir. Bununla birlikte ubukuitin karboksi terminal hidrolaz-L1 (UCH-L1) nöronların içerisinde spesifik olarak sentezlemektedir. Bu proteinlerin birçok patolojik ve psikiyatrik bozukluklarda rol oynayan yanlış katlanmaya sebep olduğu bulunmuştur.

Diğer taraftan beyin beyaz meddesinde miyelin önemli bir işleve sahiptir, miyelin sinir liflerinin gelişmesini engelleyen bazı proteinleri ihtiva etmektedir. Bu proteinlerden bir tanesinde Nogo-A transmembran proteinidir. Nogo-A'nın nörolarında bulunmasının anlaşılması ile araştırmacılar, davranışsal süreçlerin incelendiği son dönemlerdeki çalışmalarında Nogo-A'yı daha fazla dikkate aldıkları görülmektedir.

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun patafizyolojisi henüz tam olarak çözülme de genetik, çevresel ve nörofizyolojik faktörlerle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Bazı araştırmacılar, DEHB'nin patafizyolojisi ile nörodavranışsal eksikliğin, beyin beyaz maddesine ait mikro yapı anormallikleri ile ilişki olduğunu ifade etmişlerdir. Diğer taraftan bazı araştırmacılar ise DEHB'nin sitokin ilişkili nörotrofin, nörotrofik büyüme faktör sistemi ve mikro glial aktivasyonun ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca glial fonsiyon ve nörodejenarasyon markırlarının da, DEHB'li hastalarda incelenmesi gerektiğini savunmuşlardır. Ancak glial fibriller asidik protein, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 gibi birçok molekül nörodejenarasyon ile ilgili olmasına rağmen DEHB'li incelenmemiştir.

Yapılan literatür incelemesinde GFAP, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 gibi ubikuitinasyon glial hücre aktivasyonu ve miyelin ile ilişkili olan moleküllerin, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejenatif bozukluklarda incelendiği görülmüştür. Bununla birlikte bu moleküllerden bazılarının şizofrenik bozukluk, depresif bozukluk ve otizm gibi psikiyatrik rahatsızlıklarda incelendiği de anlaşılmıştır.

Ancak bu moleküllerin DEHB'deki seviyelerini inceleyen herhangi bir çalışmayla karşılaşılmamıştır. Bu  er evede DEHB tanısı alan  o uklarda serum GFAP, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu

2.1.1. Tanımı

Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB), yedi yaşından önce başlayan ve kendini dikkat eksikliği, yaşa uygun olmayan aşırı hareketlilik, dürtüsellekle gösteren nöropsikiyatrik bir bozukluktur (APB, 2007). Bireyin, ailenin ve toplumun sağlığını etkileyebilmesi nedeniyle DEHB önemli bir sağlık problemi olarak kabul edilmektedir (Polanczyk ve ark., 2008).

DEHB tıp literatüründe ilk olarak 1902 yılında İngiliz doktor George Still tarafından tanımlanmıştır. Still; bu çocukların dürtüsel, dikkat sorunları ve duygudurumu düzenleme güçlüklerinin olduğunu, bazı fiziksel kusurları ve özel öğrenme güçlüklerinin bulunduğunu bildirilmiştir. Bu konuda yazılmış olan ilk makalede, klinik durum, beyin hasarı ya da zeka geriliğine bağlı olmayan dikkatsizlik ve dürtü kontrol bozukluğu olarak tanımlanmıştır. Bu yazıda tanı “Moral Kontrol Defekti” olarak adlandırılmıştır (Weiss ve Weiss, 2002).

Birinci Dünya Savaşından sonra ortaya çıkan influenza ensefaliti salgını sırasında hastalanan çocuklarda gelişen ve Still’in tanımladığına benzeyen dürtüsellik, hiperaktivite, antisosyal davranışlar ve duygusal değişiklikleri; 1934 yılında yayınlanan makalede Kahn ve Cohen “organik sebepli” olarak tanımlamış ve bu durumun beyin sapındaki zedelenmeye bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir. 1937 yılında Bradley amfetamin tedavisiyle hiperaktif çocukların belirtilerinde düzelme tespit etmiştir. Strauss ve Lehtren ise 1947 yılında hiperaktivitenin, düşük engellenme eşiğinin ve dürtüselliğin beyin hasarından kaynaklanan belirtiler olabileceğini ileri sürmüştür. Beyin hasarı aynı anlama gelen, algısal güçlükler ve davranış problemleri bütünü “Minimal Beyin Hasarı Sendromu” olarak adlandırmışlardır (Gottlieb, 1987). 1960’lı yıllarda "Minimal Beyin Disfonksiyonu" ibaresi ile özel öğrenme bozuklukları, hiperaktivite, atılganlık, kısa süreli bellek bozukluğu, bilişsel ve algısal bozukluklar gibi belirtileri içeren bir durum tarif edilmiştir (Stubbe, 2000).

2.1.2. Tarihçe

DEHB'e ait ilk bilgiler 18. Yüzyıla dayanmaktadır. John Locke isimli fizyolog "ne kadar gayret gösterse de zihinlerini dağılmaktan alıkoyamayan" öğrenciler olduğundan söz etmiştir (Amen ve Goldberg, 1998). Tıp literatüründe DEHB ilk kez George Still adındaki bir İngiliz doktor tarafından 1902 yılında tanımlanmıştır (Still, 1902). Dr. George Still, asırı hareketli, yorulma ve öğrenme güçlükleri olan ve davranım sorunları gösteren çocuklarda "ahlaki kontrolün ileri düzeyde yetersizliği" olarak tanımlanan DEHB, yazında yıllarca değişik isimlerle tanımlanmıştır (Weiss ve Weiss, 2002).

Birinci Dünya Savaşı sırasında viral ensefalit salgınından sonra asırı hareketlilik, öğrenme güçlüğü, koordinasyon zorluğu, dürtü denetim sorunları ve agresyon belirtilerinin, salgının davranışsal bir sonucu olduğu düşünülmüş ve "postensefalitik davranışsal sendrom" olarak tanımlanmıştır. Minimal beyin zedelenmesi sendromu olarak 1947 yılında adlandırılırken, zamanla belirlenmiş nörolojik bozukluğu bulunamayan bu durum için "minimal beyin disfonksiyonu" tanımı kullanılmıştır (Spetic ve Arnold, 2007). Daha sonrasında da uyarılma düzeyinin anormal olması ve duyguları ayarlama yetersizliğinin söz konusu olduğu, genetik temelli bir durum olduğu şeklinde farklı varsayımlar, bozukluğun nedenini açıklamak için öne sürülmüştür.

2.1.3. Klinik özellikler ve tanı

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, kaotik hareketlilik, yaş ile uyumlu olmayan dikkat süresi kısalığı ve dürtüsellik ile seyreden çocuk ve ergen psikiyatrisinin en önemli bozukluklarından biridir (Sadock ve Sadock , 2007; Eisenberg ve ark., 1999).

DEHB'nin temel özelliği benzer gelişim düzeylerindeki bireylere göre daha sık ve şiddetli hiperaktivite-impulsivitenin olması ve kalıcı ve sürekli dikkatsizlik örüntüsünün bulunması olarak ifade edilebilir. Bozukluğu oluşturan dikkatsizlik belirtilerinin yada hiperaktivite-impulsivitenin en azından bir kısmı 7 yaşından önce bulunmalıdır. Bununla birlikte, çoğu bireyde belirtiler uzun yıllar sürdükten sonra tanıya konulabilir. Semptomlar ve yol açtıkları sıkıntılar en az iki ortamda (örn. Okulda, işte veya evde) ortaya çıkmalıdır (Amerikan Psikiyatri Birliği., 1994).

2.1.4. Sınıflandırılması

Bu bozukluğun kronik seyri, tedavi ile büyük oranda düzelebilir olması, tedavi edilmediği takdirde çok sayıda olumsuz sonuçlar doğurması, pek çok psikiyatrik hastalıkla karışabilmesi nedeniyle çocuk ve ergen ruh sağlığı hekimlerince tanınması ve tedavi edilmesi zorunludur. Okul çağında dikkatsizlik, ders dinleyememe, uygunsuz ortamlarda aşırı hareketlilik, çok konuşma, ödevlere karşı isteksizlik, kaza ve yaralanmalara yatkınlık, yaşıtlarıyla sosyal ilişkilerde güçlük gibi belirtilerle karşımıza çıkarken ergenlik döneminde aşırı hareketlilik yerini huzursuzluğa bırakır. Bununla birlikte ergenlik döneminde dikkatsizlik, alkol-madde kötüye kullanımı gibi tehlikeli aktiviteler, zayıf sosyal ilişkiler, riskli cinsel davranışlar, zamanı organize edememe depresif yakınmalar ve antisosyal davranışlar sergilenebilir. Erişkinde dikkatin çabuk dağılması, işe başlamada ve bitirmede zorluk çekme, iş ve evlilik ilişkilerinde zorluklar, depresif ve anksiyöz yakınmalar ve öfke kontrol güçlüğü olabilir (Işık ve Taner , 2009) .

DEHB'nun tanısına özgü herhangi bir tıbbi tetkik bulunmamaktadır. Tanı araçları, klinik gözlem, fizik ve nörolojik muayene, aile ve çocuk ile yapılan görüşmeler, öğretmen gözlemleri, davranış değerlendirme ölçekleri ve bilişsel testlerdir (Şenol, 2008).

DEHB ve bipolar bozukluğun ailevi risk faktörü taşıdıkları ve birbiriyle bağlantılı bozukluklar olabileceği ifade edilmiştir (Faraone ve ark., 1997).

2.1.5. Epidemiyoloji

DEHB çocukluk çağında yaygın bir şekilde tespit edilen psikiyatrik bozukluktur. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar %1 ile %20 arasında değişen farklı oranlar bildirmiştir. 1978 ve 2005 arasında tüm dünyada, DEHB epidemiyoloji çalışmalarının sistematik 8 derleme ve metaregresyon analizi, DEHB dünya geneli birleştirilmiş prevelansını %5.29 olarak tespit edilmiştir (Polanczyk ve ark., 2007).

Araştırmalarda farklı tanı sistemlerinin kullanılması, DEHB sıklığına ilişkin farklı sonuçların elde edilmesinde başlıca nedendir. DSM-III-R ve ICD-10 kriterleri temel alındığında daha düşük oranlar elde edilirken, DSM-IV tanı ölçütleri kullanıldığında en yüksek prevalans oranları elde edilmektedir (Wolraich ve ark., 1996).

DEHB kızlara göre erkek çocuklarında iki kat daha fazla görülmektedir. Bu değer klinik örneklemede dokuz kata ulaşabilmektedir (Skounti ve ark., 2007). Cinsiyet dağılımına göre kızlarda dikkat eksikliği belirtileri, erkeklerde hiperaktivite ön planda gelmektedir (Hales ve ark., 2003). Erkeklerde saldırgan davranışların ve ataklığın daha fazla olması hekime başvuruyu artıran bir durumken kızlarda dikkat eksikliği belirtilerinin ön planda olması nedeniyle tanı daha sıklıkla gözden kaçabilmektedir (Ivanov ve Newcorn, 2005).

2.2 Etiyopatogenezi

Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu multifaktöriyel bir bozukluk olup, bozukluğun oluşumunda hem sosyal hemde organik nedenlerin olabileceği üzerinde durulmuştur.

DEHB'nun etiolojisinde prefrontal-striatal-serebellar dizgenin yapısal ve metabolik farklılığının en önemli rolü oynadığı ifade edilmiştir. DEHB'nun bireye kalıtsal olarak aktarıldığı, anne karnında, doğumda veya yaşamın ilk yıllarında toksik maddelerle karşılaşma veya travmaya kalma gibi olumsuz etkenlerle bu mirası biçimlenmekte ve sonuçta kişi DEHB olmaktadır. Sonraki yıllarda bireyin karşılaştığı psikolojik çevre DEHB'nin oluşmasına ya da ortadan kalkmasına sebep olmayıp, mevcut DEHB belirtilerinin şiddetinin artmasında veya azalmasına neden olabilmektedir (Ercan, 2010). DEHB vakalarının birbirinden nedensel olarak ayrılabilmesi gibi, aynı vakada farklı etkenler de bir arada olabilmektedir. Dolayısıyla DEHB farklı patolojilerin ortak semptomatolojisi olarak ifade edilebilir (Arnold ve Jensen, 1995).

2.2.1 Psikodinamik ve ailesel etmenler

Duygudurum bozuklukları için ileri sürülen duyarlılaşma modeli, ilk başlarda genellikle bir çevresel stres sonrası meydana gelmesi; ancak daha sonraki süreç için böyle bir olayın eşlik etmesinin azalması gözlemine dayanır (Köroğlu ve ark., 2007). İlk duygudurum bozukluğu dönemini tetikleyen yaşam olaylarının çoğunun özgül olmadığı, biyolojik ve ruhsal yatkınlık olduğunda rahatsızlığın oluşmasında önemli bir neden oldukları ileri sürülmüştür (Öztürk, 2008; Köroğlu ve ark., 2007).

2.2.2. Genetik etmenler

DEHB güçlü genetik kökenden kaynaklanabilen, ailesel bir bozukluktur. Bu genetik geçişin nasıl gerçekleştiği henüz belirlenememiştir (Ercan ve Aydın, 2007). DEHB etiyolojisinde genetik etkenlerin rolünü araştırmak için aile, ikiz, evlat edinme ve segregasyon analizi çalışmaları yapılmıştır (Turgay, 1997). Diğer araştırmacıların yaptığı, ikiz evlat edinme araştırmalarında DEHB etiyolojisindeki genetik bileşen aydınlatılmaya çalışılmıştır. Yapılan bu araştırmalar, bozukluğun genetik geçişi olduğu teorisini kuvvetlendirmektedir (Faraone ve Doyle, 2001).

DEHB tanısı alan çocuklar ile yapılan aile araştırmalarında, bu çocukların anne, baba ve kardeşlerinde DEHB riskinin sağlıklı kontrollere göre 2-8 kat artmış olduğu gösterilmiştir (Biederman ve Faraone, 2002). İkiz kardeşler arasında oldukça yüksek korelasyon bulunmuştur. DEHB'in gama amino bütirik asit (GABA), dopamin, norepinefrin ve diğer nörotransmitter sistemlerinin genleriyle ilişkili bozukluk olduğunu süren araştırmalarda vardır (Comings DE, 2000).

Pek çok güncel araştırmada, DEHB'nin ortaya çıkmasında 5. Kromozom üzerindeki dopamin taşıyıcı geninin ve 11. kromozom üzerindeki D4 dopamin alması geninin yüksek derecede ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lanau ve ark., 1997; Li ve ark., 2006). dopamin taşıyıcı geni, metilfenidat ve benzer ilaçların dopamin taşınması üzerine etkilerinin sağlandığı protein bölgesidir. Genetik çalışmalar halen araştırma amaçlı olarak devam etmektedir (Curran ve ark., 2000).

2.2.3. Gebelik, doğum anı ve doğum sonrası etmenler

Yapılan bir meta-analizde DEHB tanısı alan çocukların pre veya postnatal strese diğer çocuklara oranla daha fazla maruz kaldıkları bulunmuştur (Zapitelli ve ark., 2001).

Alkol ve sigara içerisinde bulunan zehirlerin, DEHB üzerinde etkili olduğuna dair araştırmalar vardır. Çevresel toksinler, vücuttaki yüksek kurşun oranı ile DEHB belirtileri arasında düşük ama istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu da bulunmuştur (Needleman ve ark., 1990).

2.2.4. Nöroanatomik etmenler

DEHB baskın olarak noradrenerjik olan frontokortikal bölgede ve baskın olarak dopaminerjik olan alt striatal yapılardaki inhibitör etkinin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Dopaminerjik agonist etki altında olan striatal yapılar adrenerjik ajanlara duyarlı yüksek yapılarla düzenlenir. Yürütücü işlevlerin merkezi frontal loblardır. Frontal lob işleviyle ilişkili sorunlar DEHB’de temeldir. Frontal loblar çalışma belleği (bilgiyi mantıklı basamaklarda ele alma yeteneği), soyut düşünce, dürtüsellik ve yürütücü kontrolü (gerçek dünya da başarıyı sağlayan organizasyon, odaklanma, bütünleştirme yeteneği) düzenler. Yürütücü kontrolde yetersizlik gösteren bireyler dikkat dağınıklığı sergileyebilir, dürtüsel olabilir ve görevlerini tamamlamada güçlük çeker, düşünmeden ya da pervasızca davranmaya eğilimli olur.

Çocuklarda yapılmış olan bilgisayarlı tomografi, Manyetik rezonans görüntüleme, işlevsel manyetik rezonans görüntüleme, glikoz metabolizması, bölgesel serebral kan akımı ve SPECT (Single Photon Emisyon Computerized Tomografi Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografisi) çalışmaları gözden geçirildiğinde belli bir tutarlılık görülmektedir.

Beyin görüntüleme çalışmaları özellikle de prefrontal kortekste boyut ve etkinlik azalması olduğunu düşündürmektedir. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme’da tutarlı olarak frontal korteks, serebellum ve subkortikal yapılarda hacim azalması gösterilmiştir. Korpus kallozum ve serebellumda küçüklük ile anterior singulatta etkinlik azalması olduğu öne sürülmüştür. Striatal bölgelerde ve substriatal yapılarda (talamus ve hipokampus) etkinlik azalması olduğu da gösterilmiştir. Globus pallidus’un daha az etkin ve küçük olduğu bulunmuştur. DEHB tanısı alan çocuklarda beynin tüm hacmi göreceli olarak daha küçüktür (Öner ve Arsev, 2007; Doyle, 2006; Shorter, 2006; Millichap, 2008; Tuğlu ve Şahin, 2010). Dikkati sağlayan nöral ağlar beyinde yaygın yerleşmiştir ve parietal korteks, singulat girus, prefrontal korteks, amigdalahipokampus gibi limbik yapılar, talamus, bazal gangliyonlar, retiküler formasyon ve serebellumu içerir. Serebellumun dikkatteki önemi üzerinde son yıllarda oldukça fazla durulmaktadır, motor kontrol ve inhibisyonu düzenlemesinin yanı sıra serebellum yürütücü işlevlerde dâhil bilişsel süreçlerde rol oynamaktadır. Bazal gangliyonlar yürütücü işlevlerde gerekli devrelere katılırlar. Singulat korteks yanıtları seçme ve baskılama da hatta motivasyon süreçlerinde de önemli rol oynamaktadır. Lateral prefrontal ve arietal korteks dikkatin sürdürümü ve

yönlendirilmesinde rol oynamaktadır. Parietal lob ve superior temporal sulkus uyarının hedeflenmesine yardımcı olan alanlar olduğu bilinmektedir. Beyin sapı retiküler aktive edici sistem ve özellikle talamik çekirdekler dikkatin tonunu düzenler ve engelleyicileri filtre eder. Superior ve temporal kortekslerin ve korpus striatumun dikkatin odaklanması, dış parietal ve korpus striatal bölgelerin motor yürütücü işlevlerde, hipokampusun kodlamada, dorsolateral prefrontal korteksin ise dikkatin odaklanması, kaydırılması ve çalışma belleği de dâhil planlama ve yürütücü işlevlerde önemli olduğu bildirilmiştir. Dikkat daha baskın olduğunda sağ frontal lob baskındır. DEHB’de bu belirli bölgeler de sorun olması beklenir. DEHB’de temel anormallikler frontal korteks ve striatum arasındaki bağlantılardır. Ayrıca bozukluk serebellum ve frontal lob arasındaki devreleri de içerisine alır (Hechtman ve McGough , 2007; Doyle , 2006; Wolf ve Wasserstein , 2001; Rommelse ve ark., 2007).

2.2.5. Nörobiyolojik ve nörobiyokimyasal etmenler

DEHB nörobiyolojisinde dopaminerjik ve noradrenerjik sistemlerdeki anormalliklerin belirti oluşumunda payı olduğuna dair elde edilen verilere rağmen, tamamen kesinlik kazandığı da söylenemez. Yapılan araştırmalarda psikostimulan ilaçların dopamin ve norepinefrinin sinaps aralığından presinaptik nörona geri alımı engellediği monoaminlerin nöronal aralığa salımını arttırdığı gösterilmiştir. Uyarıcıların DEHB’ndaki etkileri dopaminerjik ve noradrenerjik yollar üzerinedir. Bu etki frontal kortikal ve subkortikal yapılardaki inhibitör etkiyi artırarak olmaktadır. Ancak serotonin metabolizmasına etkisi uyarıcıların klinik etkinliği ile çok az ilişkilidir (Zametkin ve Rapoport,1987).

2.3. Nörodejeneratif Hastalıklar ve Gelişimsel Dönem

Nörodejeneratif hastalıklar, hem etiyopatolojik yönden hem de klinik yönden birçok ortak özelliğe sahiptir. Değişik türdeki hastalıklar, belli yaş gruplarında belli bir nöron grubunu tutan proteinlerle meydana gelir. Olayla ilgili protein, ilgili nöron gruplarında toplanıp nöron ölümüne (işlevsizliğine) yol açarak o hastalığa özgü semptomların ortaya çıkması sonucu hastalık ismi verilir. Modern biyokimyasal teoriler, bu ortak noktaların altındaki temel protein bozukluğunu ortaya koyup yeniden sınıflandırmayı gerekli kılmaktadır. Ancak patofizyolojik olarak, protein birikiminin

belirleyici faktör olup olmadığı birçok sporadik hastalıkta kesinlik kazanmamıştır (Gültekin, 2009).

Yetişkinlerin nörodejeneratif hastalıkları genellikle ilerleyen yaşlarda görülür. Spesifik nöron gruplarının kaybı sonucu merkezi sinir sisteminde (MSS) belli bölgelerde atrofi görülür. Histopatolojide ise, nöron kaybı, *reaktif gliozis* ve bazı hastalıklarda spesifik nöronal veya glial inklüzyonlar gözlenebilir. Bu hastalıklar klinik, patolojik ve biyokimyasal yönden değişik şekillerde sınıflandırılabilir. Klinikte akinetik-rijid ve hiperkinetik hareket bozuklukları, demanslar, otonom bozukluklar, ataksiler gibi sınıflamalar yapılabilirken, biyokimyasal anlamda sinir hücrelerinde biriken proteinin türüne veya birikimin genetik mekanizmasına göre; alfa-sinükleinopatiler, tauopatiler, poliglutamin bozuklukları olarak sınıflandırma yapılabilir.

Çocuklukta bir takım anatomik-histolojik farklılıklara paralel, gelişim basamakları meydana gelir. Beyin sapına inen inhibitör yolların gelişimi ile hayatın 2-3. ayında endojen ağlama azalır, çevreye olan ilgi artar, yenidoğan refleksleri kaybolur, , melatonin sentezinin artması ile uyku düzene girer, 7-10. ayında prefrontal korteks tabakaları arasında yatay bağlantıların artışı ile işlevsel bellek (working memory) gelişir (Herschkowitz, 1997). Öğrenme sürecinde uzun süreli hafıza yeni mRNA ve protein sentezi ile sağlanırken, kısa süreli hafıza ise sık aktive olan nöronlarda aktivasyon eşiğinin düşmesi ve mevcut proteinlerin modifikasyonu ile sağlanır (Anlar, 2006). Sinapsların nöronal aktiviteye bağlı olarak yeniden yapılanması, aynı zamanda depolarize olan nöronların aralarındaki sinaptik bağlantıların artması gibi beyindeki kalıcı değişikliklerle gelişimsel basamaklar oluşturur. Bu düzenlemelerin oluşmasında ekstatör nörotransmitterler ve büyüme faktörleri etkilidir. Büyüme faktörlerinin yapımı nöronal uyarım sırasında presinaptik uçtan glutamat salınımı tarafından arttırılır. Aktif olmayan nöronlar büyüme faktörlerini almadıkları için küçülürler. Beynin gelişimini, yaptığı etkinliklerin derecesi ve türüne bağlı olarak geliştirir (Anlar, 2006).

Erken yaşlarda beyinde daha fazla plastisite olduğunu gösteren gelişimsel nörobilim alanındaki araştırmalar, hastalığa müdahale çalışmalarının mümkün olduğunca erken başlaması gerektiğini savunmaktadırlar. Nöronların büyümesi doğumdan sonra pek fazla artmaz iken hücreler arasındaki sinirsel bağlantılar (sinaps) 3 yaşına kadar hızla oluşur (Hanno, 2003). Çocuğun beyin dokusunun doğumda olgunlaşmamış olması ve belirgin şekilde deneyimlerle değiştirilebilir olduğunun

gösterilmesiyle hem erken müdahalenin hem de bu deneyimlerin zamanlama önemi ortaya koymuştur (Halfon, 2001). Bu sonuçla birlikte, hassas dönemler veya bazı gelişmelerin oluşması için fırsat pencereleri adı verilen dönemler tespit edilmiştir (Wynder, 1998). Örneğin, fonoloji (ses bilimi) için hassas dönemler fetal hayatın 6. ayından bir yaşa kadar olan zamandır (Ruben, 1997). Dili öğrenme için 1-7 yaş, sosyal-emosyonel gelişimde 0-2 yaş kritik dönemler olarak kabul edilir (Ruben, 1997). Bu sebeplerden ötürü 0-3 yaş dönemi sinapsin üretimi ve sonraki dönemde korunması için hayati önem taşımaktadır. Bu nedenle bu dönemde yetersiz stimülasyonun sonraki gelişim dönemleri üzerinde büyük ve kalıcı olumsuz etkilerini ortaya koyabilir (Koltuk, 1998)..

2.4. Beyin Hücreleri ve Proteinleri

Nöronların rejenerasyon kapasitesi oldukça düşüktür ve zarar verici immün reaksiyonlar, MSS nöronlarını zedeleyebilir. Kafatası, beyin dokusunun şişmesini ve bunun getireceği ödem ve inflamasyonu önler.

Fetal dönemde sinir sisteminde meydana gelen hücresel hasarlar en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir ve klinik, radyolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerle anlaşılmaktadır. Biyokimyasal ölçümlerin avantajı henüz klinik ve radyolojik bulgular ortaya çıkmadan önce beyin lezyonları hakkında bilgi verebilmesidir. Beyin hasarını tanımlayıcı biyokimyasal bir belirteç; duyarlı, özgül, tekrarlanabilir ve yüksek prediktif değere sahip olmalı, konsantrasyonu beyin hasarının yaygınlığı ile uyumlu olmalı ve birçok biyolojik sıvıda (kordon kanı, amnion sıvısı, beyin omurilik sıvısı, idrar) ölçülebilmelidir. Beyine özgü proteinler düşük moleküler ağırlığa sahiptir, santral sinir sisteminde yüksek konsantrasyonda bulunur ve hücresel hasar oluştuğunda erken dönemde biyolojik sıvılarda saptanabilirler. Dolayısıyla beyine özgü proteinlerin prenatal (doğum öncesi) ve perinatal dönemde (gebelikte 28. aydan doğuma kadar) fetomaternal biyolojik sıvılarda saptanması beyin hasarının erken tanı ve takibinde doğrudan gösterge olarak önemli bir ölçüt olabilir (Portakal ve Deren, 2010).

Beyine özgü proteinler ilk olarak Moore ve McGregor tarafından 1965 yılında araştırılmıştır. Araştırmacılar sığır, fare, tavşan ve maymunların beyin ve karaciğer dokularında yaptıkları protein saflaştırma çalışmaları sırasında üç proteinin beyin fraksiyonlarında yüksek konsantrasyonda olduğunu ancak karaciğer fraksiyonlarında bulunmadığını saptamışlardır. Kromatografik ve elektroforetik ayrılma özelliklerine

göre bu proteinleri 14-3-2 ve 14-3-3 olarak adlandırmışlar ve beyin dokusu ile ilgili sonraki çalışmalarda glial fibriller asidik protein (GFAP), büyüme ile ilişkili protein, miyelin bazik proteini ve N-asetil aspartat beyin dokusundan izole edilmiştir. Bu proteinler genellikle küçük ve asidik yapıdadır, geniş protein ailelerine sahiptir ve beyin dokusunun yanı sıra diğer dokularda da bulunur (Portakal ve Deren, 2010).

Beyine özgü proteinler hücre içi ve dışı fonksiyonları nedeniyle travmatik, infeksiyöz ve dejeneratif kaynaklı birçok nöropatolojide yer alır. Dolayısıyla son 30 yıldır nörobilimcilerin ilgisini çekmektedir. Pre/perinatal dönemde kord kanı, maternal serum, amniyon sıvısı ve beyin omurilik sıvısında (BOS) beyine özgü proteinlerin ölçümü risk tayini, tedavi hedeflerinin belirlenmesi ve prognoz takibinde önemli rol almaktadır (Portakal ve Deren, 2010).

A) Makroglia hücreleri

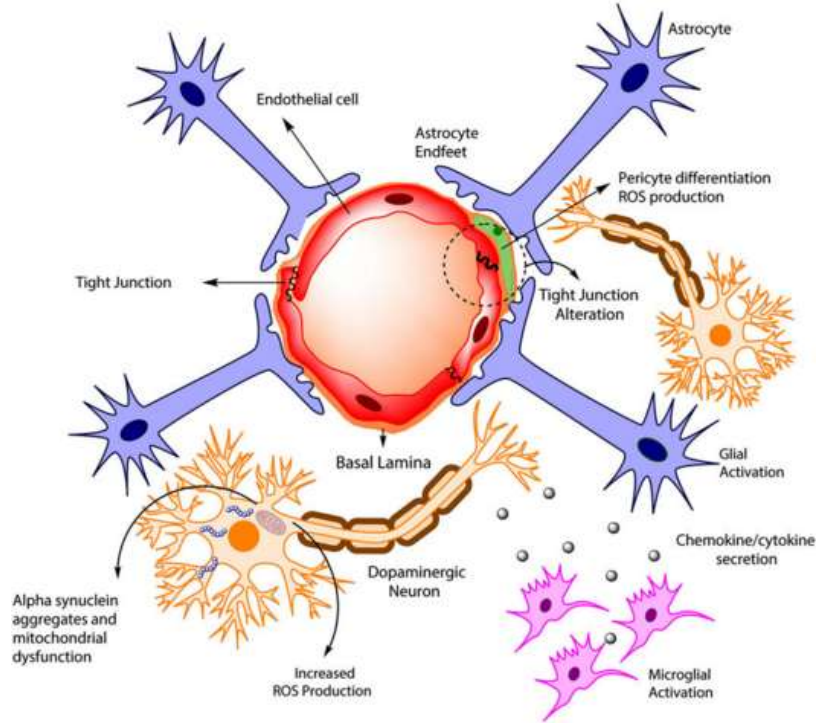
B) Mikroglia hücreleri

2.4.1. Makroglia hücreleri

1. **Astrositler:** Çok sayıdaki uzantıları nedeniyle yıldız şeklinde GFAP yapılmış ara filamanlar içerir (Şekil 2.1).
2. **Oligodendrositler:** MSS’de aksonların elektriksel yalıtımını sağlayan miyelini yapar (Şekil 2.2).
3. **Ependim Hücreleri:** Beyin ventrikülleri ve omurilik kanalını döşeyen, epitelyum hücreleridir.

2.4.2. Mikroglia hücreleri ve glial fibriller asidik protein

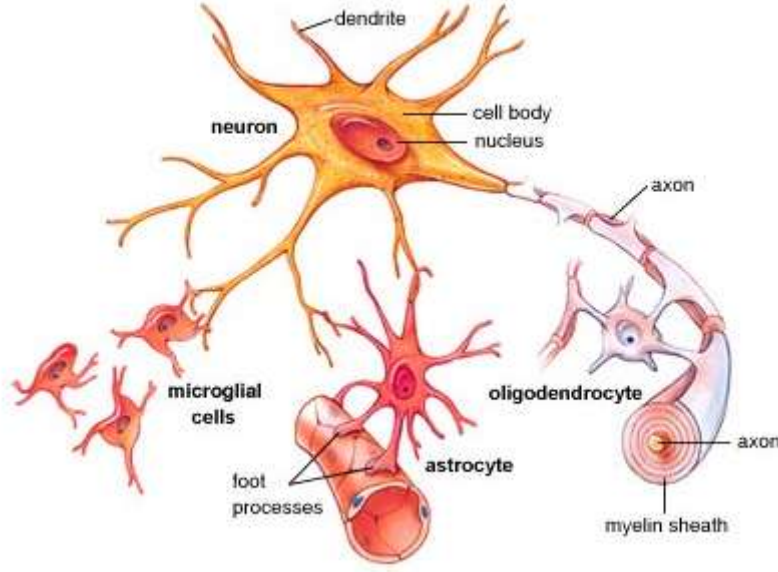
Kısa uzantılara sahip, küçük hücrelerdir. Sinir dokusunda, fagositik ve antijen sunan hücreler olarak davranırlar (Duman ve Yılmaz, 2008) (Şekil 2.1 ve 2.2).



Şekil 2. 1. Astrosit, mikrogliya ve oligodendrositlerin gösterimi

GFAP, 50 kDa ağırlığında intraselüler bir proteindir. Normal beyinde bulunan fibröz astrositlerin stoplazmalarında bol miktarda bulunmaktadır. GFAP esas olarak astrositlerden eksprese edilen bir intermediyer filamentdir. Bundan dolayı selektif bir marker olarak kullanılmaktadır. Ratlarda yapılan çalışmalarda astrositik intermediyer filamentlerin *reaktif gliozisde* çok önemli bir rol oynadıkları gösterilmiştir (Gomi ve ark., 1995). GFAP, MSS’de uzun dönem sağlıklı miyelinizasyonun gerçekleşmesi için şart olan bir proteindir (Liedtke ve ark., 1996).

Astrositler, beyin hacminin yaklaşık % 20-50'sini oluşturur (Eng ve ark., 2000). Astrositlerin özelleşmiş formları serebellar kortekste Bergamann Hücresi, retinada Müller Hücresi, nörohipofizde Pitüsit’ler ve 3. ventrikülün duvarında Tanisit’ler olarak adlandırılır (Garcia-Segura ve ark., 1996). Astrosit, Şekil 2.2’de gösterildiği gibi MSS’de çok önemli fonksiyonlara sahiptir. Bu hücreler hücre göçünü etkiler, matrix proteinlerinin, adhezyon moleküllerinin ve büyüme faktörünün önemli bir kaynağıdır. Nörotransmisyonunda önemli bir rol oynayarak extraselüler ortamın iyonik kompozisyonunu düzenler, kan-beyin bariyerinin fonksiyonuna ve stabilitesine katkı sağlar. Sinir hücrelerine metabolik destek sağlar ve nörodejeneratif hastalıklar patofizyolojisinde de rolü vardır (Morte ve ark., 2004).



Şekil 2. 2. Sinir hücresinin şematik gösterimi

MSS’de hasar olduğu zaman glial hücreler, hücrel cevapı başlatırlar. MSS, glial hücrelerin reaksiyonunu *gliosis* olarak verir. Dolayısıyla GFAP ekspresyonunda artış olur. Astrositler, nöronal hasara cevap olarak ekspresyonu artırırılar. GFAP, MSS’nin hasarı sonrası gelişecek olan morfojenizde önemli bir materyaldir. Fetal dönemde son derece az miktarlarda iken, beynin gelişimiyle yoğunluğu artmaktadır (Baydas ve ark., 2003). MSS’nin reaktif süreçlerindede astrosit stoplazmaları içinde artmış miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir. Oligodendria ve ependim hücrelerinde de bulunur. Cerrahi patolojide kullanımı yararlı olduğu bilinmektedir.

GFAP, ekstraaksiyel yerleşimli tümörlerin invazyonlarının tanımlanmasında faydalı olduğu gibi normal koroid pleksusta bulunmadığı halde koroid pleksus tümörlerinde GFAP salınımı bulunmuştur. GFAP’ın bir hücre içinde tespit edilmesi o hücrenin GFAP ürettiğini göstermez. Örneğin; makrofajlar, *fagositoz* sayesinde stoplazmaları içinde GFAP içerebilirler. GFAP kullanımı ile neoplastik ve reaktif glia hücresi birbirinden ayrılamaz. Normalde beyaz cevherde bulunan GFAP+ fibröz astrositler, korteks yerleşimli olan aynı tipteki hücelere oranla daha yoğun olarak bulunmaktadır. Bu nedenle beyaz cevherin reaktif süreçlerinin değerlendirilmesinde GFAP yarar sağlamaz. GFAP boyanma şiddeti ile astrositik tümör derecelendirmesi arasında ilişki bulunmamaktadır. Astrosit kökenli tümörlerde GFAP ile eş zamanlı olarak vimentin de salınabilir. GFAP’ın fazla ekspresyonu *kronik reaktif gliosis*e neden olmaktadır. MSS hasarlarından sonra GFAP’ın yararlı ve nöroprotektif etkileri mevcut olup bunun yanı sıra *reaktif gliosis*e yol açması nedeniyle MSS rejenerasyonunu

engellediği düşünülmektedir (Anderson ve ark., 2003). Beyin iskemisinin *ciddi reaktif gliozisi* tetiklediği bildirilmiştir (Olson ve McKeon, 2004). Bu nedenle bazı nöropatolojik durumların, GFAP regülasyonu ve dolayısıyla da *reaktif gliozisle* ilişkili olduğu düşünülebilir (Gençer, 2007).

Daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi, McCall ve ark. (1996) GFAP'ın, olgun astrositlerin major intermediyer filament proteini olduğunu ve astrosit farklılaşmasındaki anahtar olaylardan birinin GFAP ekspresyonunun başlangıcı olduğunu göstermişlerdir. MSS'de olgunlaşmamış astrositler genellikle major intermediyer protein olan vimentin olarak ifade edilir. Astrositlerin olgunlaşması, vimentin ve GFAP ekspresyonu arasında bir geçiş olur. Astrositler olgunlaştıkça GFAP ekspresyonu artmaktadır (Gomes ve ark., 1999). Olgunlaşmamış astrositler başlangıçta vimentin salgılayan, olgun astrositler GFAP salgılayanlar (Dahl, 1981). Bundan dolayı GFAP astrosit olgunlaşma belirteci olarak tanımlanır. Nöronal-gliyal etkileşimde GFAP'ın rol oynadığı bildirilmiştir (McCall ve ark., 1996). Böylece GFAP düzeyindeki değişiklikler nöron-nöron ve nöron-glia arasındaki bağlantıda bozulma ile sonuçlanabilir.

Bir başka çalışmada GFAP'ın astroglialara özgü Tip III ara filament protein olduğu açıklanmıştır. Ara filament proteinler, yüksek ökaryotlarda bulunan 8-10 nm'lik fibröz proteinlerdir. Hücre iskeletinin oluşması, sitoplazmik alan organizasyonu, mitoz ve hücre hareketinin sağlanmasında rol oynar. Fosforilasyon, proteoliz, asetilasyon, glikolizasyon ve deiminasyon en sık gözlenen transkripsiyon sonrası değişikliklerdir (Lazarides, 1982).

GFAP küçük ve asidik bir proteindir (pI 4.6). En az beş izoformu vardır: α , β , γ , σ ve ϵ . İzofomu α olanı, astroglialarda en fazla bulunur (Reeves ve ark., 1989). GFAP çeşitli uyarılara yanıt olarak N-terminalindeki beş bölgeden fosforillenir ve bu fosforolisyanlar Thy7, Ser8, Ser13, Ser17 ve Ser38 şeklindedir (Inagaki ve ark., 1990).

GFAP, hücre yapı ve hareketi, mitoz, sinyal iletimi, kan-beyin bariyerinin fonksiyonel olması gibi birçok hücreyel olayda rolü vardır. Astrositin şekil ve mekanik dayanıklılığını sağlar. Olgun hücrelerdeki GFAP fonksiyonları “knockout” fare çalışmaları ile ortaya konmuştur. Bu farelerde hipokampus ve spinal kordun beyaz maddesi yoktur, astrosit fonksiyonları dejeneredir, miyelinizasyon anormaldir ve kan-beyin bariyeri bozulmuştur. Bu çalışma GFAP'ın miyelinizasyonun uzun süreli devamlılığında rol oynadığını göstermektedir (Goss ve ark., 1991). Antisens RNA çalışmalarında GFAP içermeyen astrositlerin nöronlar ile bağlantı oluşturmadıkları

saptanmıştır. Yine bu çalışmalarda GFAP'ın purkinje hücre iletiminin devamlılığında önemli olduğu gösterilmiştir (Weinstein ve ark., 1991).

Glial nedbe dokusu, dejeneratif durumların bir sonucudur ve glial fibriler asidik proteinin up-regülasyonu ile oluşur (Eng ve Ghirnikar, 1994). Çoğunlukla astrositler, ependimal hücreler, schwann hücreleri ve duysal ganglionların satellit hücrelerinden ekspresse olur. Glial hücre hasarına yol açan birçok durumda GFAP regülasyonu bozular. Akut serebral hasar sonrası GFAP salınır ve hasarlı olan kan-beyin bariyerini geçerek dolaşıma ulaşır. İskemik inme sonrasında iki-dört günde serum GFAP düzeyleri yükselir, bu artış beyindeki infarkt alanı ile paraleldir (Herrmann ve ark., 2000). İntraserebral kanama sonrası serum GFAP hızla artar (Foerch ve ark., 2006). Subaraknoid kanama sonrası akut dönemde serum GFAP konsantrasyonu ile beyin hasarının şiddeti arasında korelasyon saptanmıştır (Vos ve ark., 2006). GFAP, fokal beyin hasarının uzun süreli izlenimi ve prognozu tayininde önemlidir (Nylén ve ark., 2007). Astroglial tümörlerde serum GFAP'ın yükseldiği bildirilmiştir (Jung ve ark., 2007).

Yapılan araştırmalarda GFAP'ın astrosit olgunlaşmasında önemli bir belirteç olduğu gösterilmiştir. Astrosit olgunlaşmasının eksikliğinde GFAP düzeyinin azaldığı görülmüştür (Gomes ve ark., 1999; Gençer, 2007).

Glial fibriller asidik protein molekülüne ait bilgileri kavrayabilmemiz için öncelikle sinir hücresinin yapısını tanımamız ve bu proteinin hücrelerdeki konumunu bilmemiz gerekiyor.

Sinir hücreleri, nöronlar ve glia hücreleri olarak 2 ana sınıfa ayrılabilir. Glia hücreleri, beyinde nöronlardan 10 kat fazla bulunur ve bu nöronların arasına yerleşerek sinir hücresini sarar (Duman ve Yılmaz, 2008).

MSS'deki glialar iki ana gruba ayrılabilir:

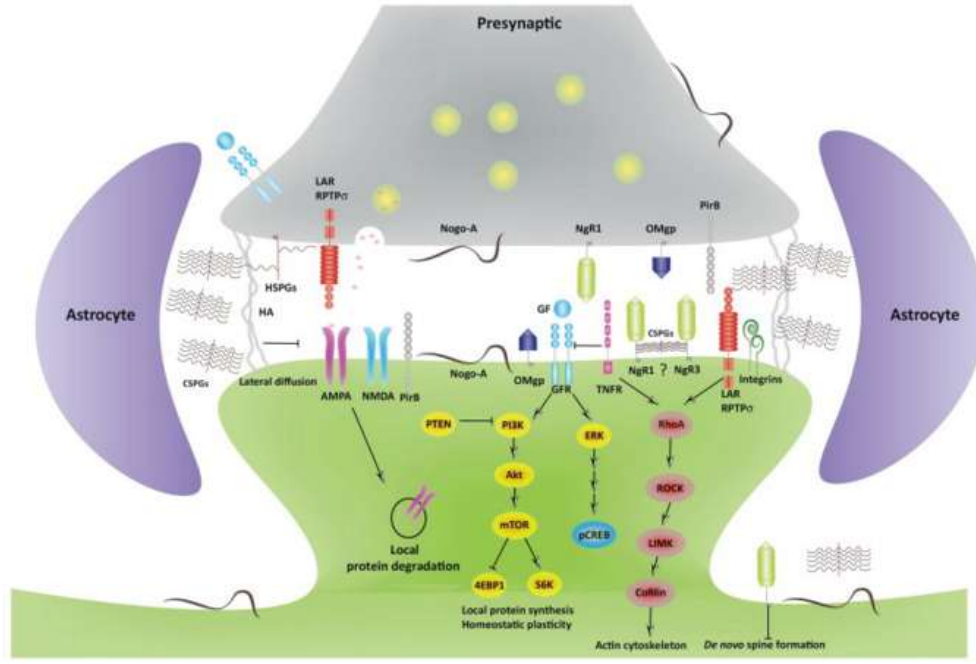
2.4.3. Nogo-A

Nörodejenerasyon ve nöroplastisite sürecinde rol oynayan faktörlerden birisi ve Nogo ailesinin bir üyesi olan Nogo-A molekülüdür. Nogo ailesinin A, B ve C gibi birçok üyesi olmasına rağmen bunlardan sadece Nogo-A, MSS'de hasar sonrasında sinir liflerinin büyümesini engeller ve güçlü bir şekilde inhibitör etki göstermektedir

(GranPre ve ark.,2002; Huber ve ark.,2002). Bu etkinin Nogo-A'nın amino terminalindeki spesifik ucundan kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Nogo-A, C-terminalinde 200-aa retikulon dahil olmak üzere yaklaşık 1200 amino asitten oluşmuş bir trans membran proteinidir (Chen ve ark., 2000; GrandPre ve ark., 2000). Bu protein memelilerin MSS'deki miyelinlerinde bulunur ve buradan saflaştırılmış en güçlü nöron büyüme inhibitörlerinden birisidir (Spillmann ve ark., 1998). Nogo-A, yetişkinlerin MSS'sinde ağırlıklı olarak oligodendrositlerde sentezlenir. (Huber ve ark., 2002; Wang ve ark., 2002). Nogo-A'nın oligodendrositler tarafından endojen yüksek ekspresyonu, yaralanmış omurilik bölgesi etrafında biraz daha artmaktadır (Huber ve ark., 2002). Nogo-A, miyelin oluşumundan önce gelişmekte olan ve olgunlaşmamış nöronlar tarafından güçlü bir şekilde eksprese edilir. Bu nedenle Nogo-A; korteks, hipokampus ve dorsal kök gangliyon gibi MSS'nin bölgelerinde yüksek bir seviyeye ulaşır (Huber ve ark., 2002; Peng ve ark., 2011).

Yapılan literatür taramasında, Alzheimer gibi bazı nörodejeneratif rahatsızlıklarda Nogo-A molekülünün düzeylerinin incelendiği görülmüştür (Bordet ve ark., 2010). Bazı çalışmalarda Nogo-A'nın nöronların büyüme ve fibroblastların uzama durumlarına karşı inhibitör etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Huebner ve ark., 2011). Yapılan deneysel bir çalışmada Nogo-A ekspresyonunun kainik asid ile indüklenerek epilepside artmış olduğu gösterilmiş ve bu ratlarda Nogo-A'nın hipokampustaki nöronal büyümeyi inhibe ettiği yönünde bulgular elde edilmiştir (Meier ve ark., 2003). Başka bir çalışmada temporal lob epilepsisinde Nogo-A ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (Bandtlow ve ark., 2004). Öte yandan kindling oluşturulan rat modelinde, hipokampusta artan Nogo-A'nın *epileptogenesis* sürecindeki sinaptik düzenlemeden kısmen sorumlu olduğu bildirilmiştir (Takeda ve ark., 2007).



Şekil 2. 3. Sinaptik plastisite Nogo-A'nın regülatör olarak görev yapması (Mironova ve Giger, 2013).

Nöronlarda ya da glial hücrelerde eksprese edilen Nogo-A, lezyon sonrası sinapsın oluşum ve temaslarının stabilitesini sağlamada kontrolü sağlayabilecek bulgulara ulaşıldı. Nogo-A'nın *sinaptogenez* ve sinaptik iletim üzerindeki etkileri konusunda bilginin çoğu hipokampusun elektrofizyolojik incelemeleri ve gelişimi üzerindeki çalışmalarından elde edilmiştir. Buna karşın, eldeki verilerden çok az bir kısmı da Nogo-A blokajında yaralanmış yetişkin MSS'deki sinapsları fonksiyonel olarak teşvik etmesidir. Oligodendrositlerden eksprese edilen Nogo-A aynı zamanda gelişmekte olan büyüyen beyinde büyüme kısıtlayıcı olarak rol oynamaktadır (Şekil 2.3).

2.4.4. Ubikuitin karboksi terminal hidrolaz-L1 enzimi

Ubikuitin, tüm ökaryotik hücrelerde bulunan ısıya dayanıklı, küçük (8.5 kDa) bir proteindir (Ciechanover ve ark., 1978). 76 aminoasiten oluşan ubikuitinin primer yapısı yüksek oranda korunmuştur (Rodwell, 2000).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ubikuitin-proteazom yolağının hücre döngüsü proteinlerinin tümör baskılayıcı moleküller, onkogenler, transkripsiyon faktörleri ve anti-apoptotik proteinlerin regülasyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir (Inoue ve ark., 2006). Hücre içi protein döngüsünden iki ana proteolitik sistem

sorumludur. Bunlar, Lizozomal Sistemi ve Ubikuitin-Proteazom Sistemi'dir. Lizozomlar, keşfedilen ilk proteolitik sistemlerdir. 1980'lerin başında da ubikuitin-proteazom sisteminin önemi anlaşılmıştır. Proteazom prokaryot ve ökaryotlarda bulunan multikatalitik olan enzimatik bir komplextir. Protein yıkımının rolü sadece toparlanma olmakla kalmayıp hücre döngüsü ve hücre bölünmesi gibi başlıca hücre içi işlemlerin düzenlenmesine kadar geniş bir göreve sahiptir (Martinez ve ark., 2005).

2.4.5. Ubikuitin sistem

Ubikuitin-proteazom sistemi ökaryot hücrelerde önemli bir proteolitik yoldur. Yıkım için substratların izlenmesi ve bunların o anki proteolitik kırılması iki ana aşamadır. Ubikuitin-proteazom sistemi hücresel homeostazın devamlılığına ve protein kalite kontrolüne yardımcı olur. Fakat bu sistemi hücre canlılığı için vazgeçilmez yapan, temel hücre içi işlemlerindeki düzenleyici rolü olmasındandır. Bu temel işlemler arasında hücre döngüsünün ilerlemesi, hücre bölünmesi, transkripsiyon ve sinyal mekanizmaları sayılabilir (Martinez ve ark., 2005).

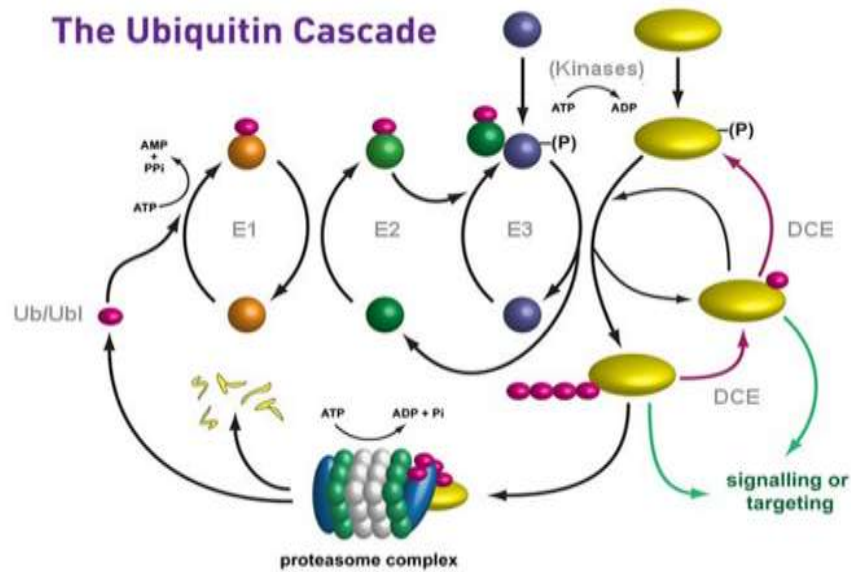
Ubikuitin-proteazom sistemi hücresel homeostaz için gerekli olan hücre döngüsü düzenlenmesi, apoptoz, reseptör sinyalleşmesi, endositoz ve diğerleri gibi çok sayıda önemli süreçte rol oynar. Hücre büyümesi ve proliferasyonu; tümör baskılayıcıların, protoonkogenlerin ve sinyal ileti komponentlerin ubikuitin aracılı yıkımı ile kontrol edilir. Bunların doğal sonucu olarak ubikuitin-proteazom sistem bileşenlerinden biri ya da daha fazlasındaki bozukluk insan hastalıklarındaki önemli sebeplerden biri olarak düşünülmektedir (Dawson, 2008).

2.4.6. Ubikuitinasyon mekanizması

Regülatör proteinlerin ubikuitin aracılı yıkımı birçok metabolik olayda önemli rol oynar (King ve ark., 1996). Diğer proteinler için bir post-translasyonel modifikasyon işareti olarak etki eder. Ubikuitin, hedef proteinlerin bir çoğuna adenosintrifosfat (ATP) eşliğinde kovalent bağlanarak çeşitli regülatör prosesleri yönlendiren yüksekçe korunmuş bir proteindir (Kızıltunç ve Şahin, 1997). Kısa ömürlü ve hatalı proteinler, sitozolde ATP bağımlı ubikuitin aracılı sistem ile yıkılır (Güney ve Bilgihan, 2002). Hedef proteinlere ubikuitin eklenmesi ATP bağımlı arka arkaya çalışan üç esansiyel enzim gerektirmektedir. Bunlar, ubikuitin aktive edici enzim (E1), ubikuitin konjuge edici enzim (E2) ve ubikuitin ligazdır (E3).

Ubikuitinin karboksil (C)-terminalindeki glisin kalıntısı, E1 tarafından uyarılır ve burada ATP gereklidir (Dawson, 2008). Ubikuitin adenilatın ara formu oluşur ve PPi salınır. Bunu takiben ubikuitin E1'deki sistein kalıntısına tioester bağı ile bağlanır ve adenozinmonofosfat (AMP) açığa çıkar. Aktif ubikuitin, E2 enziminin sistein kalıntısına transfer edilir (Spataro ve ark., 1998). E3 enzimi, sistemin en önemli substrat belirleyici faktörü olarak çalışır. Ubikuitin, hedef proteinlerin lizin rezidülerine esas olarak ϵ -amino gruplarından, kendi C-terminal grubu ile izo-peptid bağı oluşturarak konjuge olur. Ubikuitinin kendisinde 7 tane lizin rezidüsü bulunur. Önceki ubikuitinde bulunan bu lizin rezidülerine yeni ubikuitinler eklenerek devam eden ubikuitin eklenme döngüsü oluşur. Bu yolla, bir hedef proteininde poli-ubikuitin zincirleri oluşturulabilir. Eğer hedef protein üzerindeki poli-ubikuitin zinciri bağlanmayı başarsa ve ubikuitin parçaları dört veya daha fazla ise bu 26S proteazom için tanıma sinyali olarak etki eder. Proteazom daha sonra hedef proteini ATP'ye bağımlı yolla parçalar (Dawson, 2008) (Şekil. 2.4).

Ubikuitin toksik hasar, yüksek sıcaklık, viral enfeksiyon ve besin yoksunluğu gibi stresli koşullar altında anormal ve kısa ömürlü proteinlerin yıkımında görev alır (Osada ve ark., 1997). Ubikuitin molekülü anormal bir hücrenin malign hücreye dönüşümüyle ilgili hücre içi sinyaller, hücre proliferasyonu, bağışıklık yanıtı ve transkripsiyonun düzenlenmesi gibi birçok moleküler homeostatik mekanizmaya katılır (Spataro ve ark., 1998).



Şekil 2. 4. Ubikuitinasyon mekanizması

2.4.7. Ubikuitinin nörodejeneratif hastalıklardaki rolü

Ubikuitinlenmiş proteinlerin dejenere olmuş nöronlar içinde anormal nörofilamentlerin meydana getirdiği hücre içi inklüjin'lere bağlandığı tespit edilmiştir (Lowe ve ark., 1988; Perry ve ark., 1987). Bu inklüjinler değişik nörodejeneratif hastalıklarda değişik isimler almaktadırlar. Alzheimer hastalığına 'Spesifik Nörofibrilleri Tangıls', Parkinson hastalığında 'Lewy Badiler' ve motor nöron hastalığında 'İnklüjin Badiler' isimlerini alırlar (Cole ve Timiras, 1987; Manetto ve ark., 1989). Genel olarak hastalıktaki anormal hücre içi filamentlerin immünohistokimyasal metodlarla ubikuitinlendiği ve ubikuitinin bu yapılara bağlanarak bu anormal yapıları ortadan kaldırmak için görev yaptığı sanılmaktadır (Brion ve ark., 1991).

Diğer taraftan Ubikuitin Karboksi Terminal Hidrolaz-L1 enzim (UCH-L1) molekülü de, nöronal yaralanma ve kan beyin bariyeri bozukluklarında son zamanlarda kullanılan önemli ve yeni bir biyomarker olarak kabul edilmiştir (Thompson ve ark., 1983). UCH-L1 nöronlar, nöroendokrin sistem ve beyin tümör hücrelerine son derece özgün olan ubikuitin polimerlerini monomerik forma dönüştüren bir enzimdir. Bu görevi dolayısıyla da ubikuitin-proteazom sisteminde önemli bir rol oynar. UCH-L1 enziminin Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, Alzheimer hastalığı, Amyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkisi araştırılarak çoğunlukla nöronlarda yoğunlaşmış sitoplazmik bir enzimdir (Lewis ve ark., 1983; Liu ve ark., 2010). UCH-L1'in BOS ve kandaki artan konsantrasyonu, nöron yıkımı ve kan beyin bariyeri geçirgenliğindeki artış ile ilişkilendirilmiştir (Blyth ve ark., 2011). Anevrizmal subaraknoid kanama, travmatik beyin hasarı (TBI), felç ve neonatal hipoksik-iskemik ensefalopatinin de dahil olduğu çok sayıda nörolojik rahatsızlıklarda UCH-L1 konsantrasyonunun yüksek olduğu bildirilmiştir. TBI sonrası, kan UCH-L1 seviyesi yaralanmanın şiddeti, taburcu edilme süresi ve yaralanmadan sonraki 6 aylık süreçle ilişkilendirilir (Mondello ve ark., 2012a). Dikkate değer bir şekilde bu nöronal protein kaybı yaralanmadan hemen sonra, BOS ve kanda kolayca saptanabilir. Bu durumda potansiyel nöroprotektif stratejiler için değerli bir zaman kazanımı sağlar (Brophy ve ark., 2011).

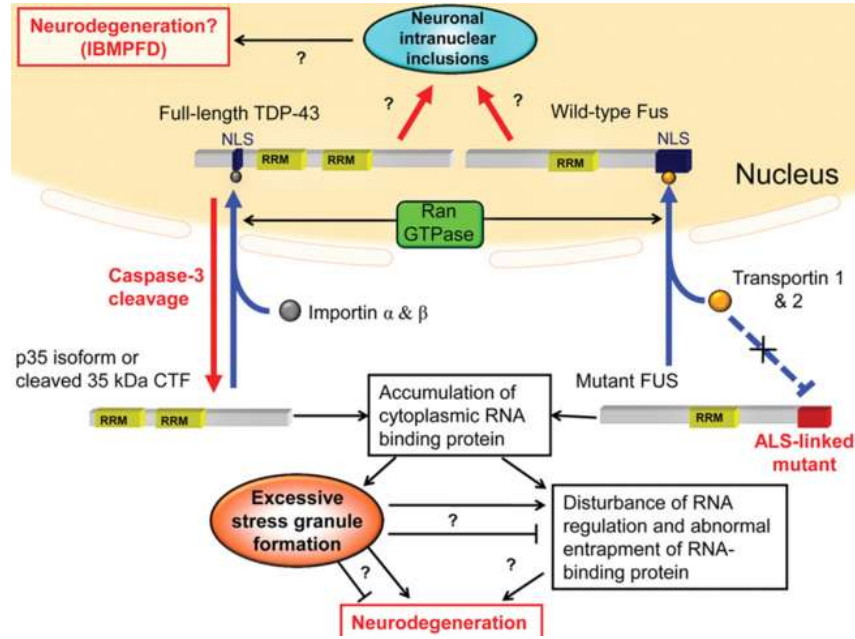
Yapılan bir çalışmada epileptik bozukluğu bulunan hastalarda nöbet sonrası BOS'taki UCH-L1 seviyelerinin yükseldiği ve tekrar eden tonik-klonik nöbet geçiren hastalar ile tek nöbet geçiren hastaların karşılaştırılmasında, tekrar eden tonik-klonik

nöbet geçiren hastaların seviyelerinin diğer gruba göre daha yüksek UCH-L1 seviyelerine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışma ile UCH-L1'in epileptik bozukluk sonrası nöronal hasar için bir markır olabileceği ileri sürülmüştür (Li ve ark., 2013). Yine başka bir çalışmada epileptik bozukluğu bulunan hastalarda geçirilen nöbet sayısının artması ile hem BOS hem de plazma UCH-L1 düzeylerinin arttığı bildirilmiş ve bu sonuçların klinisyenlerin daha doğru bir tanı yapmada yardımcı olabileceği belirtilmiştir (Mondello ve ark., 2012b).

2.4.8 Transaktif yanıt DNA bağlayıcı protein-43

Transaktif Yanıt DNA Bağlayıcı Protein-43 (TDP-43), 43 kDa ağırlığında bir proteindir. İlk olarak HIV1 virüsünün TDP-43 dizisine bağlanarak transkripsiyonun baskılama özelliğine sahip bir protein olarak tanımlandı. Daha sonra *Kistik Fibrozis*'de alternatif kırılma işlemini düzenleyen bir faktör olduğu görüldü. Tüm dokularda yüksek miktarda sentezlenen 414 aminoasit uzunluğundaki TDP-43 proteini, omurgasızlardan memelilere kadar bütün canlılarda evrimsel olarak çok iyi korunmuştur. Sağlıklı hücredeki lokalizasyonu çekirdekte olan TDP-43, DNA/RNA bağlayıcı, heterojen ribonükleer protein A/B (hnRNP) ailesine ait bir proteindir ve bir dizi farklı görevi vardır (Cohen ve ark., 2011; Ou ve ark., 1995, He ve Smith., 2009).

TDP-43'ün C-terminal kısmı işlevsel bölgeleri, nükleer lokalizasyon ve nükleer eksport sinyalleri, nükleik asitlere bağlandığı iki RNA tanıyıcı motifi, glisin amino asitince zengin ve protein-protein ilişkilerinden sorumlu yerdir (Şekil 2.5).



Şekil 2. 5. TDP-43 geni ve nörodejenerasyon

TDP-43'ün, bir nükleer lokalizasyon sinyali (NLS), iki RNA tanıma motifi, bir nükleer eksport dizisi (NES) ve C-terminal bölgesi vardır. Nörodejenerasyona neden olan mutasyonların büyük çoğunluğunu içeren C-terminal bölgesi, hem TDP-43'ün diğer proteinlerle olan ilişkilerinden sorumludur, hem de alternatif kırılma ve transkripsiyonel baskılama için gereklidir, dolayısıyla bu bölgedeki mutasyonlar protein işlevini olumsuz etkiler (Cohen ve ark.,2011; Baloh, 2011).

C-terminal bölgesi hem diğer hnRNP proteinleri ile olan ilişkiler için, hem de alternatif kırılmanın ve transkripsiyonel baskılamanın kontrolü için gereklidir. mRNA'ya ve DNA'ya bağlanabilen TDP-43, RNA metabolizmasının farklı aşamalarını (mRNA kırılması, stabilitesi, translasyonu ve gen transkripsiyonunu) çekirdek ile stoplazma arasında mekik dokuyarak (NLS ve NES sayesinde) düzenler. C-terminal bölgesi TDP-43 agregasyonu için kritiktir. Normal şartlarda çekirdekte bulunan protein, patolojik durumda inklüzyonlar halinde stoplazmada ve distrofik nöronların uzantılarında (nöritlerde) agrege olur. Buna karşılık TDP-43 inklüzyonları hücre çekirdeğinde oldukça nadirdir. TDP-43'ün hücre çekirdeğinden eksilmesi, stoplazma ve nöritlerdeki inklüzyonların neden olduğu toksik işlev kazanma mekanizmasına ek olarak, bir işlev kaybı türü mekanizmanın varlığına da işaret etmektedir (Cohen ve ark., 2011; Baloh, 2011; Buratti ve Baralle, 2009).

TDP-43'de tanımlanmış olan, biri hariç tüm mutasyonların C-terminalinde bulunması, bu bölgedeki yapı ve işlev değişikliğinin -henüz bilinmeyen bir mekanizmayla- nörodejenerasyonu tetiklediğini düşündürmektedir. Hastalık durumunda sadece C-terminalini içeren, farklı uzunluklarda fragmentlere parçalanan ve fosforile

olan TDP- 43 proteini bu haliyle agregasyona çok yatkındır (Baloh, 2011; Kwong ve ark., 2008).

İnsanda TDP-43 patolojisi çalışmaları üç farklı sonuç halinde özetlenebilir:

- TDP-43 proteininin normalde lokalize olduğu çekirdekten çıkarak sitoplazmada agregat oluşturması, bugüne kadar bilinen TDP-43 hastalıklarında ortak ve tutarlı bir patolojidir.
- TDP-43 patolojisinin hücre-içi dağılımı farklı nörodejeneratif hastalıklarda değişkenlik göstermektedir.
- TDP-43 patolojisi, ALS veya Frontotemporal Lober Dejenerasyonu'na yani sinir hücrelerinin ilerleyici bozulma süreci ile tanımlanan rahatsızlığa özgü değildir. Pek çok nörodejeneratif hastalıkta ve 65 yaş üstü sağlıklı bireylerde sıklıkla görülmektedir (Calamini ve ark., 2011; Baloh, 2011; Geser ve ark., 2010; Neumann ve ark., 2006).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma 27.02.2015 tarihli etik kurul onayı sonrası, Mart 2015 ve Haziran 2015 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Psikiyatri Polikliniğine başvuran, ailesinin onayı alınmış, yaşları 6-15 arasında değişen 60 çocuk ile yapıldı. Kan örneklerinin alınması sırasında hastaların herhangi bir alerjik durumlarının, akut infeksiyonlarının, sistemik hastalıklarının olmamasına, ayrıca son zamanlarda kullanmış oldukları ilaçların olmadığına dikkat edilmiştir. Bu araştırma projesi için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve ilaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan 27.02.2015/167 tarih ve karar no ile onay almıştır.

Çalışma Dicle Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Psikiyatri bölümünde yürütüldü. Çalışmaya ait veriler Mart 2015-Haziran 2015 tarihleri arasında toplandı.

Zekâ puanı 70'in altında olanlar, nöbet öyküsü, bilinç kaybı olan kafa travması öyküsü, ensefalit öyküsü, Tourette sendromu, yaygın gelişimsel bozukluk, bipolar bozukluk, psikotik bozukluk ve kronik sistemik hastalığı olanlar biyokimyasal parametrelerini etkileyeceği için çalışmaya dahil edilmedi. Hasta grubunda Karşıt Olma Karşı Gelme Bozukluğu (Oppositional Defiant Disorder) ve Davranım Bozukluğu (Conduct Disorder) olanlar da çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu, hasta grubu ile benzer adreste yaşayan, psikiyatrik ve tıbbi hastalık öyküsü olmayan, yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuna benzer çocuklardan oluşturuldu. Çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı. Katılımcıların ebeveynlerinden çalışmaya gönüllü katıldıklarına dair yazılı onay alındı.

3.1. Araştırma Grupları

3.1.1. DEHB grubu

Araştırmaya, DSM IV'e göre DEHB tanısı konan, daha önce tedavi almamış, 6 ile 15 yaş arası, Katılımcılar ile öncelikli olarak sosyodemografik ve klinik veri formu dolduruldu. Daha sonra yapılandırılmış psikiyatrik görüşme (K-SADS-PL) yapıldı. Ebeveynler ve öğretmenler, dikkat eksikliği ve davranış bozuklukları için hazırlanmış olan DSM-IV tabanlı dikkat eksikliği ve yıkıcı davranış bozuklukları tarama ve değerlendirme ölçeği formunu doldurdular. Daha sonra frontal bölge faaliyetini yansıtan

nöropsikolojik bir test olan Stroop testi uygulandı. Son olarak da biyokimyasal testler için 2 ml venöz kan örneği alındı.

3.2. Uygulanan Form ve Ölçekler

Sosyodemografik ve Klinik Veri Formu

Bu formda, yaş, cinsiyet, eğitim durumu, anne babanın yaş, eğitim düzeyi ve mesleği, anne baba arasında akrabalık bağı, kardeş sayısı, aile ve akrabalarda psikiyatrik hastalık ve suç öyküsü, ailede madde kullanımı, aile içi şiddet varlığı, boy ve kilo değerleri yer aldı.

Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia, Present and Lifetime version (K-SADS-PL)

Orijinali (K-SADS-PL), Kaufman ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Kaufman ve ark., 1997). 2004 yılında Gökler ve arkadaşları tarafından Türkçeye uyarlanmıştır (Gökler ve ark., 2004). K-SADS-PL, anne-baba ve çocuğun kendisiyle görüşme yoluyla uygulanır ve en sonunda tüm kaynaklardan alınan bilgiler doğrultusunda değerlendirme yapılır. Başka DEHB olmak üzere çocuk ve ergenlerde sık görülen psikopatolojilerin varlığı araştırıldı.

Turgay DSM-IV Based Child and Adolescent Behavior Disorders Screening and Rating Scale (T-DSM-IV-S):

DSM-IV ölçütlerine göre Turgay tarafından geliştirilen bu ölçek, dikkat eksikliğini sorgulayan 9, aşırı hareketliliği sorgulayan 6, dürtüselliliği sorgulayan 3, karşıt olma karşı gelme bozukluğunu sorgulayan 8 ve davranım bozukluğunu sorgulayan 15 toplam 41 maddeden oluşmaktadır (Turgay, 1994). Bu ölçeğin geçerlilik ve güvenilirlik çalışması Ercan ve ark. tarafından yapılmıştır (Ercan ve ark., 2001).

Stroop Testi TBAG Formu

Stroop Testi frontal bölge faaliyetini yansıtan nöropsikolojik testtir. Stroop Testi TBAG Formu 14.0 x 21.5 cm boyutlarındaki dört beyaz karttan oluşmaktadır. Her kartın üzerinde seçkisiz olarak sıralanmış 4'er maddeden oluşan 6 satır bulunmaktadır. Bu kartlar testin “uyarıcı” maddeleri olup bu uyarıcılara karşı deneğin vermesi gereken tepkiler, yani yerine getirmesi gereken “görevler” (task), testin bölümlerini

oluşturmaktadır. Testin temel puanları, bu bölümlerin ayrı ayrı puanlanmasıyla elde edilmektedir. Dikkat edilen uyarıcılarla edilmeyenlerin paralel işlenmesi yeteneğini, bilgi işleme hızını ve otomatik süreçlerin bozucu etkisine karşı koyabilme yeteneğini değerlendirir (Stroop, 1935). Türkçe geçerlik ve güvenirlik çalışması Karakaş ve ark tarafından yapılmıştır (Karakaş ve ark., 1999; Karakaş, 2004). Kartın tamamlama süresinin algısal problemler, psikomotor hız gibi değişkenlerden etkilenebileceği düşüncesiyle, bozucu etki skoru bozucu etki kartını tamamlama süresinden renk tanıma süresi çıkarılarak hesaplandı.

3.3. Kontrol grubu

Herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 30 sağlıklı çocuk (15 erkek, 15 kız) çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırmanın kontrol grubu, ruhsal ya da kronik bedensel bir hastalık nedeniyle hastanede izlemi olmayan aşı ya da kontrol amaçlı olarak Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvurmuş, yaş ve cinsiyet bakımından hasta grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermeyen bir grup sağlıklı çocuktan oluşmuştur.

3.4. Numunelerin Alınması, Transferi ve Laboratuvar Çalışması

Kan örnekleri, 12 saat açlıktan sonra 08.00–10.00 saatleri arasında serum için antikoagülanlı olan etilen diamin tetra asetik asit'li (EDTA) tüplere alındı. Oda sıcaklığında yarım saat bekletilen kanlar 4000 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra analiz anına kadar -70 °C'de muhafaza edildi.

Alınacak kan örnekleri, köpük kutular içerisinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına transfer edildi. Köpük kutular 24 saat öncesinde buzdolabında bekletilerek, içerisinde ise dört bir tarafına, -80 derecede bekletilmiş buz aküleri yerleştirilecek ve ağzı koli bantları ile kapatılarak ısı teması kesildi.

Kan örnekleri Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışılmıştır. Bu amaçla -80 °C'de saklanan serum örnekleri, buz akülerinin olduğu strafor köpük kutuda ve 3,5 saat içerisinde Dicle Tıp Fakültesi Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalından, örneklerin çalışılacağı Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına transfer edilmiştir.

Klinik gruplardan alınacak kan, ticari olarak satılmakta olan GFAP, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 moleküllerine ait ELISA kitleri ile kantitatif analiz yapılarak, dehb grubu ve kontrol grubu değerleri karşılaştırıldı.

3.5. Araştırmada Kullanılan Gereçler

- 1- Human TAR DNA bağlayıcı protein 43 (TDP-43) ELISA Kit
- 2- Human ubikuitin karboksi terminal hidrolaz L1 (UCHL1) ELISA Kit
- 3- Human anti-Nogo-A antibody (Nogo-A Ab) ELISA Kit
- 4- Human glial fibriler asidik protein (GFAP) ELISA Kit
- 5-1000 ml ölçütte olan cam mezür
- 6-Vorteks
- 7-Çözelti kabı
- 8-Distile su
- 9-ELISA test cihazı
- 10-10 adet cam tüp
- 11-Doz ayarlı multi kanallı pipet
- 12-Santrifüj
- 13-Shakerlı Etüv Cihazı
- 14-ELISA plate yıkama cihazı
- 15-Plate Bandı
- 16-ELISA Plate Yıkama Sıvısı

3.6. Serumda TDP-43 ölçümü

3.6.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1- TDP-43 monoklonal antikoru ile kaplanmış 96'lık plate
- 2- Standart Çözeltisi (6400ng/L-0.5ml×1)
- 3- Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4- Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5- Kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6- Kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7- Biotinle işaretlenmiş anti TDP-43 antikoru (1ml×1)

- 8- Standart seyreltme çözeltisi (3ml×1)
- 9- Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.6.2. TDP-43 ölçümünün prensibi

Bu kit (SHANGHAI YEHUA Biological Technology, Katalog No : YHB2918Hu) insana ait biyolojik sıvı örneklerinde TDP-43 konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandiviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. TDP-43 içeren örnekler, TDP-43 monoklonal antikoru ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş TDP-43 antikoru ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdaki yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti mavi renkten sarı renge dönüşür. Örneklerdeki renk şiddeti, örneklerdeki TDP-43 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

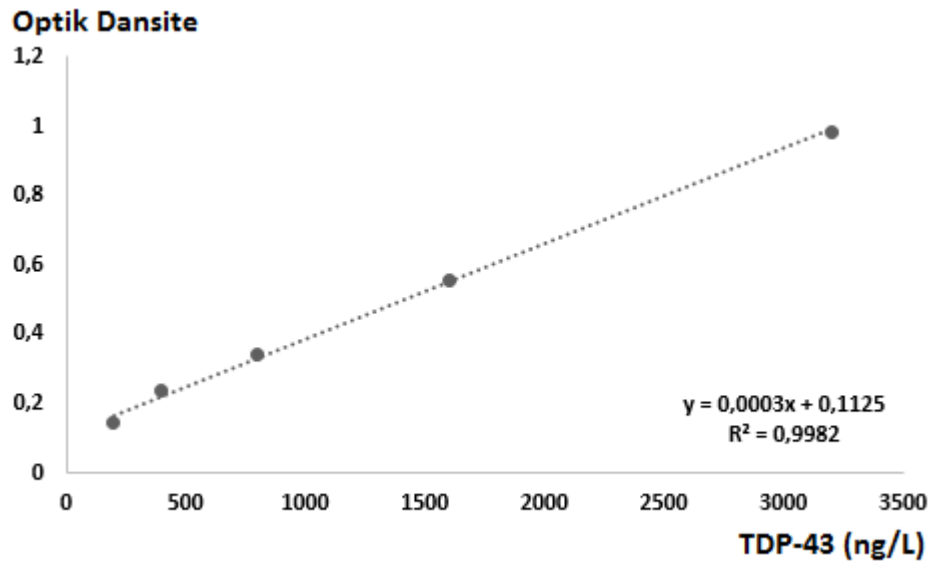
3.6.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok solusyonu (6400ng/L), standart dilüsyon çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (3200 ng/L-1600 ng/L-800-ng/400 ng/L-200 ng/L) dilüe edildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Stantardlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl TDP-43 antikorundan eklendi.
- 6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.
- 8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.

9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl (hidroklorik asit) içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.6.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek TDP-43 konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. TDP-43 standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

$$CV(\%) = SD/mean \times 100$$

Intra-Assay: CV<10%

Inter-Assay: CV<12%

Paket boyutu : 96'lık plate.

Kit Ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

Ölçüm Aralığı : 20 ng/L→6000 ng/L.

Ölçüm Hassasiyeti : 10.49 ng/L.

3.7. Serumda UCH-L1 Ölçümü

3.7.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1- UCH-L1 monoklonal antikorlu ile kaplanmış 96'lık plate
- 2- Standart Çözeltisi (40ng/ml-0.5ml×1)
- 3- Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4- Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5- Kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6- Kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7- Biotinle işaretlenmiş anti UCH-L1 antikorlu (1ml×1)
- 8- Standart seyreltme çözeltisi (3ml×1)
- 9- Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.7.2. UCH-L1 ölçümünün prensibi

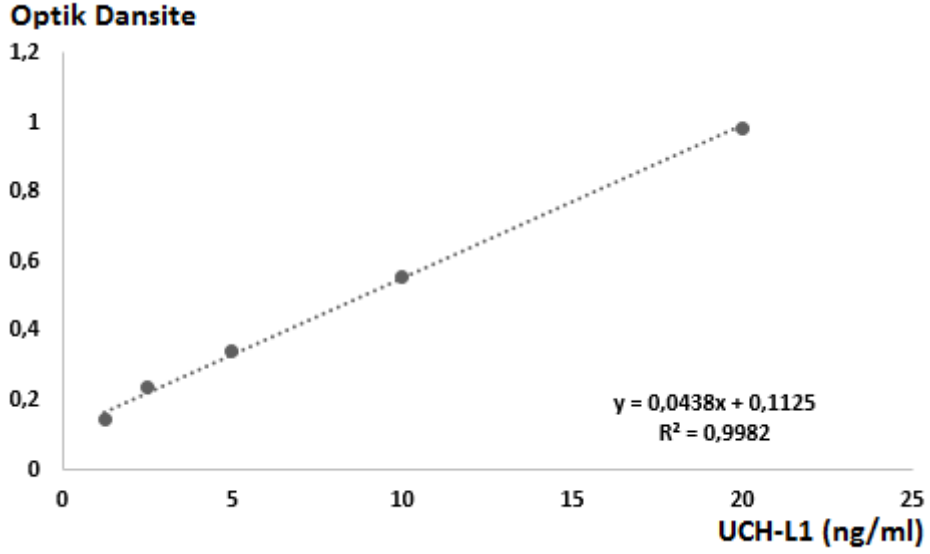
Bu kit (SHANGHAI YEHUA Biological Technology, Katalog No : YHB3139Hu) insana ait biyolojik sıvı örneklerinde UCH-L1 konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. UCH-L1 içeren örnekler, UCH-L1 monoklonal antikorlu ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş UCH-L1 antikorlu ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti mavi renkten sarı renge dönüşür. Örneklerdeki renk şiddeti, örneklerdeki UCH-L1 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır

3.7.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok çözelti (40ng/ml), standart seyreltik çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (20 ng/ml-10 ng/ml-5 ng/ml-2,5 ng/ml-1,25 ng/ml) seyreltildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Stantardlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl UCH-L1 antikorundan eklendi.
- 6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.
- 8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl (hidroklorik asit) içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlandı ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.7.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek UCH-L1 konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. UCH-L1 standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

$$CV(\%) = SD/mean \times 100$$

Intra-Assay: CV<10%

Inter-Assay: CV<12%

Paket boyutu : 96'lık plate.

Kit ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

Ölçüm Aralığı : 0.1 ng/ml→38 ng/ml.

Ölçüm Hassasiyeti : 0.05 ng/ml.

3.8. Serumda Nogo-A Ölçümü

3.8.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1- Nogo-A monoklonal antikorlu ile kaplanmış 96'lık plate
- 2- Standart Çözeltisi (320 pg/mL-0.5ml×1)
- 3- Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4- Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5- kromojenik reaktif A (6ml×1)

- 6- kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7- Biotinle işaretlenmiş anti Nogo-A antikoru (1ml×1)
- 8- Standart seyreltik çözeltisi (3ml×1)
- 9- Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.8.2. Nogo-A ölçümünün prensibi

Bu kit (SHANGHAI YEHUA Biological Technology, Katalog No: YHB0304Hu) insana ait biyolojik sıvı örneklerinde Nogo-A konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. Nogo-A içeren örnekler, Nogo-A monoklonal antikoru ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş Nogo-A antikoru ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti mavi renkten sarı renge dönüşür. Çözeltinin renk şiddeti, örneklerdeki Nogo-A konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

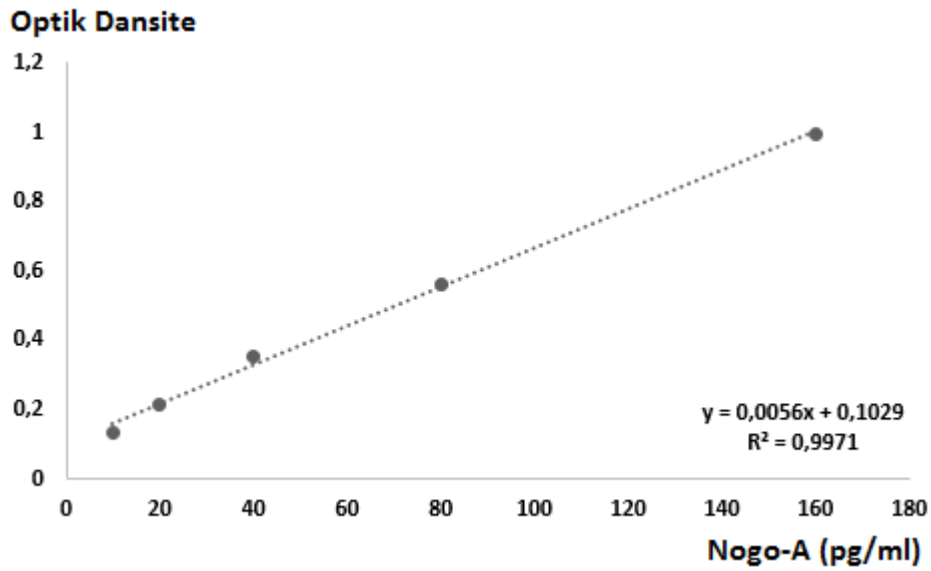
3.8.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok çözeltisi (320 pg/mL), standart seyreltik çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (160 pg/mL-80 pg/mL-40 pg/mL-20 pg/mL-10 pg/mL) seyreltilir.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Standartlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl Nogo-A antikorundan eklendi.
- 6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.
- 8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.

9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl (hidroklorik asit) içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.8.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek Nogo-A konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Nogo-A standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

$$CV(\%) = SD/mean \times 100$$

Intra-Assay: CV<10%

Inter-Assay: CV<12%

Paket Boyutu : 96'lık plate.

Kit ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

Ölçüm Aralığı : 1 pg/ml-300 pg/ml.

Ölçüm Hassasiyeti : 1 pg/ml

3.9. Serumda GFAP Ölçümü

3.9.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1) GFAP monoklonal antikoru ile kaplanmış 96'lık plate
- 2) Standart Çözeltisi (20 ng/mL-0.5ml×1)
- 3) Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4) Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5) Kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6) Kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7) Biotinle işaretlenmiş anti GFAP antikoru (1ml×1)
- 8) Standart seyreltik çözeltisi (3ml×1)
- 9) Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.9.2. GFAP ölçümünün prensibi

Bu kit (SHANGHAI YEHUA Biological Technology, Katalog No:YHB1327Hu insana ait biyolojik sıvı örneklerinde GFAP konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandiviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. GFAP içeren örnekler, GFAP monoklonal antikoru ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş GFAP antikoru ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti rengi mavi renkten sarı renge dönüşür. Örneklerdeki renk şiddeti, örneklerdeki GFAP konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.9.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok çözelti (20 ng/mL), standart seyreltik çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (20 ng/mL-10 ng/mL-5 ng/mL-2,5 ng/mL-1,25 ng/mL) seyreltildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Standartlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.

4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.

5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl GFAP antikorundan eklendi.

6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.

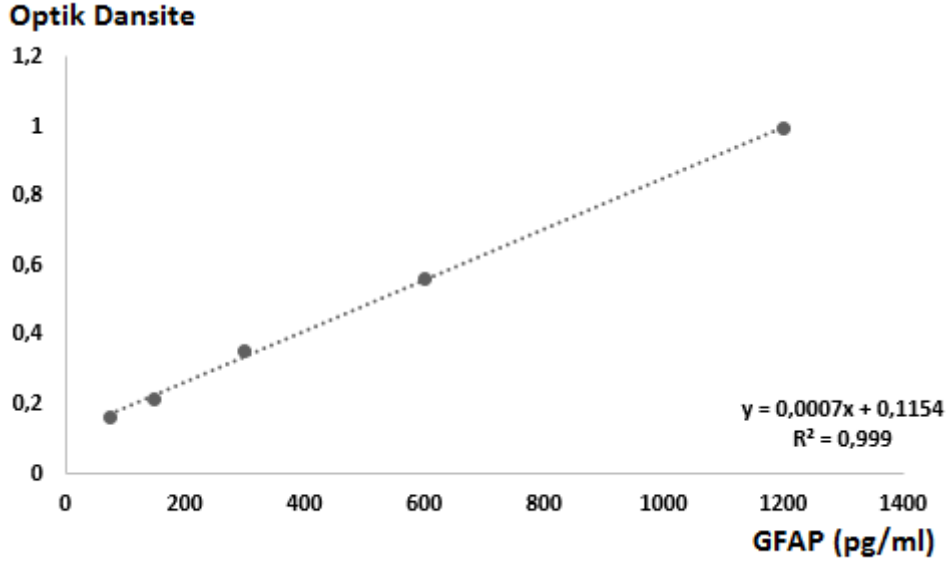
7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.

8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.

9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl (hidroklorik asit) içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.9.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek GFAP konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.4).



Şekil 3. 4. GFAP standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

$CV(\%) = SD/mean \times 100$

Intra-Assay: $CV < 10\%$

Inter-Assay: $CV < 12\%$

Paket boyutu : 96'lık plate

Kit ömrü ve Depolama : $2-8^{\circ}C$ 'de 6 ay, $-20^{\circ}C$ de 12 ay

Ölçüm Aralığı : 5 pg/ml → 2000 pg/ml.

Ölçüm Hassasiyeti : 2.48 pg/ml.

3.10. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistikler

Tüm istatistik analizler SPSS 17.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar kategorikal değişkenler için yüzde değerler olarak, sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Demografik ve klinik özelliklere ait tek değişkenli verilerin karşılaştırılması için Ki-Kare testi, sürekli değişkenlerin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizi için Spearman Korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık 0.05 olarak belirlendi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

6-15 yaş arası herhangi bir psikiyatrik bozukluğu ve gelişimsel gecikmesi olmayan 15 kız (%50,0) ve 15 erkek (%50,0) olmak üzere toplam 30 çocuk kontrol grubu olarak çalışmamıza dâhil edilmiştir. DEHB grubuna 14 kız (%46,7) ve 16 erkek (%53,3) olmak üzere toplam 30 çocuk dâhil edilmiştir.

Çalışmaya katılan kontrol grubundaki çocukların yaş ortalaması ($8,48 \pm 1,44$ yıl) iken, DEHB grubunun yaş ortalaması ($8,92 \pm 2,20$ yıl) olarak bulunmuştur. Çalışmaya katılan DEHB grubundaki çocuklara stroop testi uyguladı ve ortalaması ($23,85 \pm 9,70$) olarak bulundu. DEHB bozukluğu grubunun dikkat düzeyi ebeveyne göre 17.7 ± 4.3 iken öğretmene göre 16.4 ± 5.0 olarak bulunmuştur. DEHB grubunun hiperaktivite ve impulsivite düzeyleri incelendiği zaman, ebeveyne göre 12.8 ± 8.6 iken öğretmene göre 13.5 ± 5.5 olarak bulunmuştur. DEHB grubunun karşıt gelme düzeyleri incelendiği zaman, ebeveyne göre 9.8 ± 7.7 iken öğretmene göre 10.3 ± 7.1 olarak bulunmuştur (Tablo 4. 1).

Tablo 4. 1. Kontrol ve DEHB grubuna ait temel karakteristikler

Parametereler	Kontrol Grubu (n=30)	DEHB Grubu (n=30)	p
Cinsiyet (K/E)	15/15	14/16	P>0,05
Yaş (Yıl)	$8,48 \pm 1,44$	$8,92 \pm 2,20$	P>0,05
Girişim Etkisi	-	$23,85 \pm 9,70$	-
Dikkat	-	17.7 ± 4.3^E 16.4 ± 5.0^O	-
Hiperaktivite ve İmpulsivite	-	12.8 ± 8.6^E 13.5 ± 5.5^O	-
Karşıt Gelme	-	9.8 ± 7.7^E 10.3 ± 7.1^O	-

T-DSM-IV-S: Turgay DSM-IV Based Child and Adolescent Behavior Disorders Screening and Rating Scale. F: Female, M: Male, E: Ebeveyne Göre / Ö: Öğretmene Göre. Veriler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma, diğerleri yüzdeler dilimlerinde gösterilmiştir

4.1. TDP-43 ve UCH-L1 Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları

Çalışmamızda kontrol grubu ile DEHB grubunun, TDP-43 düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda; DEHB grubunun TDP-43 düzeylerinin 840,23 (597,5-3432,3) kontrol grubu TDP-43 düzeylerine göre 770,8 (114,6-1293,2) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p=0,022$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2; Şekil 4.1). Benzer şekilde, çalışmamızda kontrol grubu ile DEHB grubunun, UCH-L1 düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda; DEHB grubunun UCH-L1 düzeylerinin 7.46 (3,97-30,2) kontrol grubu UCH-L1 düzeylerine göre 4.97(2,90-12,0) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p<0,001$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2; Şekil 4.2).

Tablo 4. 2. Kontrol ve DEHB grubuna ait biyokimyasal değerler

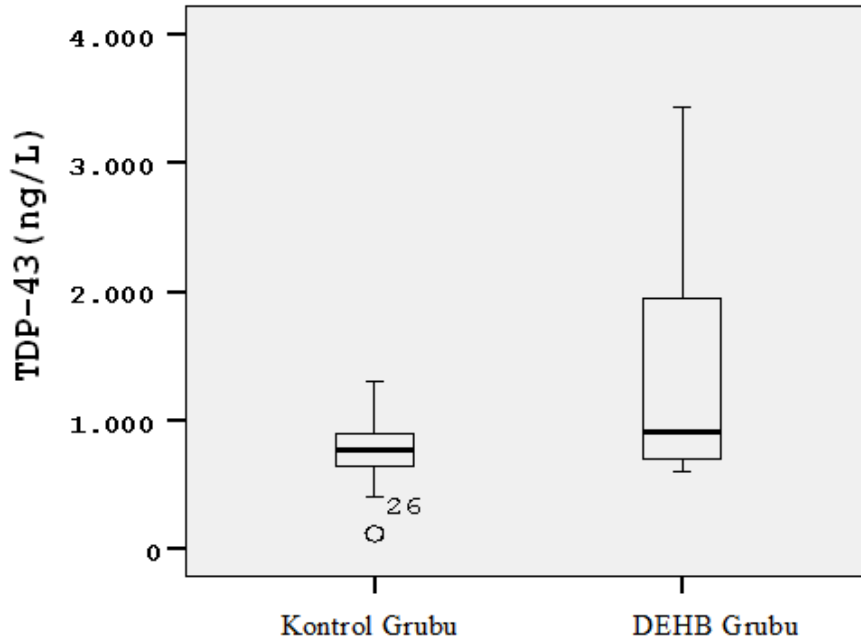
N	Kontrol Grubu 30	DEHB Grubu 30	P
TDP-43 (ng/L)	770,8 (114,6-1293,2)	840,23 (597,5-3432,3)	P=0,022
UCH-L1 (ng/mL)	4.97(2,90-12,0)	7.46 (3,97-30,2)	P<0,001
Nogo-A (pg/mL)	47,5(9,85-71,4)	64,0(13,5-120)	P=0,041
GFAP (pg/mL)	428,50(175,0-708,5)	629,0(371,5-1724,0)	P<0,001

Veriler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma şeklinde gösterilmiştir.

Ubikuitin proteozom sistemin nörodejenerasyonundaki varlığı, ubikuitinasyon agregatlarının varlığı ile birçok hastalıkta kanıtlanmıştır. Bununla birlikte TDP-43 agregasyonu ubikuitin proteozom sistemi ve otofaji aracılığı ile parçalanabildiği görülmüştür (Brady ve ark., 2011). Diğer taraftan, Fredriksson ve ark. beyin hücrelerinin bölgesel dejenerasyonunun DEHB ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Dahası Fredriksson ve ark. böyle dejenerasyonların; duygusal semptomlar, karar verme süreci kısa süreli hafıza davranışsal engellenme gibi durumlarla ilişkili olduğu da göstermişlerdir (Fredriksson ve ark., 2004). Ubikuitin proteozom sistem yanlış katlanmış, hasara uğramış ve aşırı üretilmiş proteinlerin hücreden temizlenmesi yoluyla sanki bir hücrenin kalite kontrol sistemi gibi çalışmakta olduğu ve bu sistemin birçok rahatsızlıkla da bağlantılı olduğu bulunmuştur. UCH-L1, ubikuitinasyon sürecinde rol alan ve yanlış katlanmış oksidasyona uğramış normal ve patolojik durumlardaki proteinlerin yok edilmesinde rol almaktadır (Sultana ve Perluigi, 2006). UCH-L1

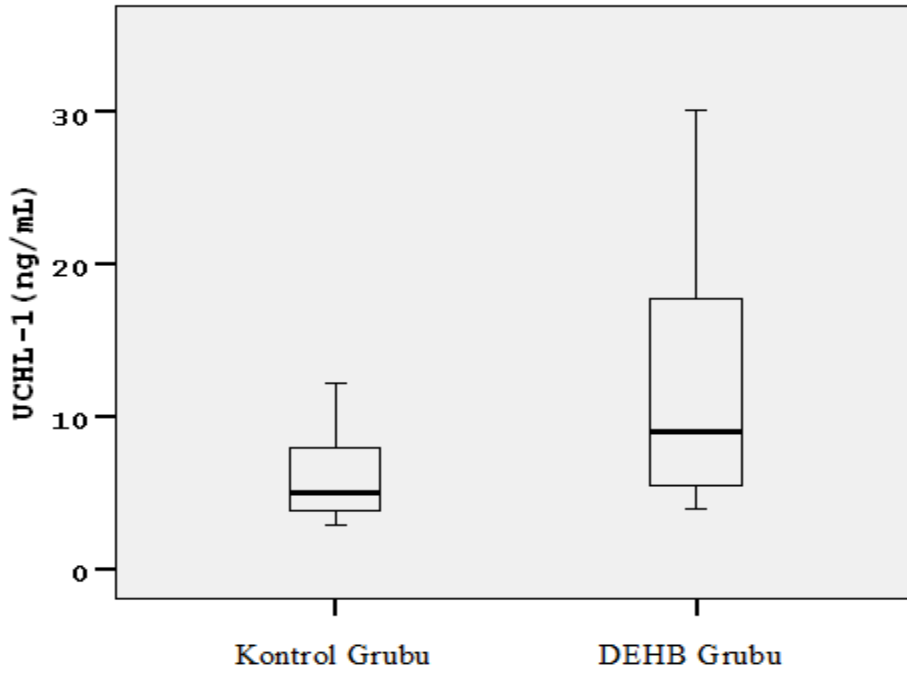
insanlardaki nörodejeneratif hastalıklarla sorumlu tutulmaktadır ve son yıllarda yapılan çalışmalar travmatik beyin hasarı, iskemi, ve subaraknoid kanama gibi insan ve hayvan çalışmalarında serebrospinal sıvı içindeki varlığı gösterilmiştir (Brophy ve ark., 2011; Lewis ve ark., 2010; Liu ve ark., 2009; Papa ve ark., 2010; Svetlov ve ark., 2010).

Bizim çalışmamızda TDP-43 ve UCH-L1 moleküllerinin temel olarak ekstrasellüler boşluğa serbestleştirildiği ve DEHB'li olan çocukların serumlarında tespit edilebileceği gösterilmiştir. DEHB tanısı alan çocuklarda, serum düzeyleri artmış olan TDP-43 ve UCH-L1 seviyelerinin tam olarak nedenini anlamak belki mümkün değildir. Ancak DEHB tanısı alan bu çocuklarda ubikuitinasyon sürecindeki ve protein TDP-43'ün patolojisindeki bir değişikliğin belirtisi olduğu öne sürülebilir. Daha önceki çalışmalarda TDP-43 proteininin serebrospinal sıvıdaki ve plazmadaki rolü, amyotrofik laterel siklerozis ve frontotemporal bunama rahatsızlığı olan kişilerde bir biyomarkır olarak incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (Foulds ve ark., 2008; Kasai ve ark., 2009). Esther ve ark. ALS'li hastalarda TDP-43 plazma düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını göstermişlerdir. Ayrıca Esther ve arkadaşları bu sonuçla birlikte, TDP-43'ün plazma düzeylerinin ALS hastaları için potansiyel markır olabileceğini ifade etmişlerdir (Verstraete ve ark., 2012).



Şekil 4. 1. Kontrol grubu ile DEHB grubu TDP-43 düzeylerinin karşılaştırılması

Julio ve ark. ise TDP-43 proteinopatisinin davranışsal eksiklikle ilişki olduğunu, kavramayı, sosyal etkileşimi ve motor gelişimin bozulmasına neden olduğunu göstermişlerdir. Ve bu sonuçlar neticesinde julio ve ark. nörodejenerasyonun farelerdeki davranışsal mekanizmayı etkilediğini belirtmişlerdir (Alfieri ve ark., 2014). Fareler üzerinde yapılan diğer çalışmalarda TDP-43 molekülü ile ilişkili olarak davranışsal değişikliklerin ve muhakeme ve kavrama yeteneğinin değiştiğini göstermişlerdir (Tsai ve ark., 2010; Swarup ve ark., 2011; Caccamo ve Majumder, 2012). Bu açıdan düşünüldüğünde çalışma bulgularımızda elde edilen serum TDP-43 ve UCH-L1 düzeylerinin farklı hasta gruplarında yapılan önceki çalışmalarla uyumlu olduğu görülmekte ve bu moleküllerin DEHB tanısı alan çocuklardaki serum düzeylerinin tespit edilebileceği anlaşılmaktadır. Bu sebeple biz TDP-43 ve UCH-L1 seviyelerinin DEHB'nin erken aşamalarında artmış olabileceğini söyleyebiliriz. TDP-43 ve UCH-L1 molekül düzeylerindeki bu değişikliğin DEHB'deki ubiquitinasyon süreçlerinde bir bozulmanın meydana geldiğinin bir kanıtı olabilir.



Şekil 4. 2. Kontrol grubu ile DEHB grubu UCH-L1 düzeylerinin karşılaştırılması

4.2. Nogo-A ve GFAP Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları

Çalışmamızın kontrol grubu ile DEHB grubu Nogo-A düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda, DEHB grubu Nogo-A düzeylerinin 64,0(13,5-120) kontrol

grubu Nogo-A düzeylerine göre 47,5(9,85-71,4) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($P=0,041$; Tablo 4.2; Şekil 4.3).

Kontrol grubu ile DEHB grubu, GFAP düzeyleri açısından karşılaştırılınca, DEHB grubu GFAP düzeylerinin 629,0(371,5-1724,0)) kontrol grubu GFAP düzeylerine göre 428,50(175,0-708,5) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p<0,001$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2; Şekil 4.4).

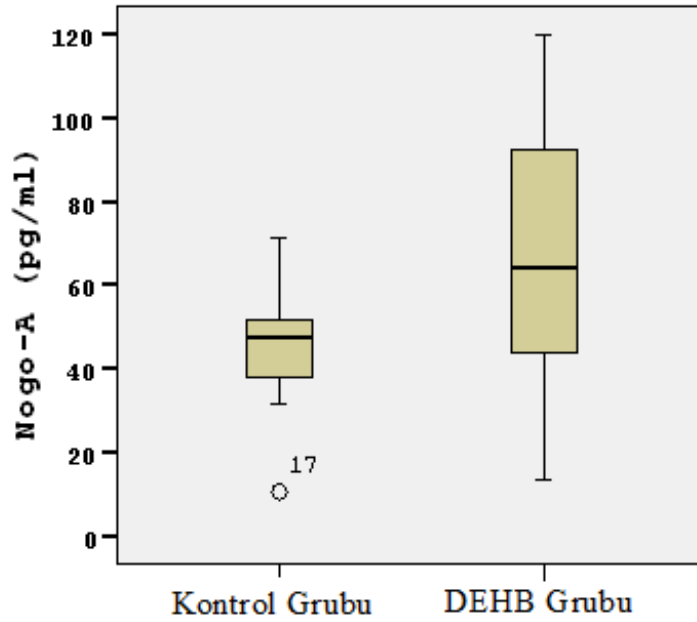
Stabil mikrogial aktivasyonun akson bağlantı kaybını önemli düzeyde engellediği gösterilmiştir. Ruhsal bozuklukları araştıran postmortem histopatolojik çalışmalar prefrontal korteksin birçok bölgesinde bulunan glial hücredeki morfolojik bozuklukları önemli ölçüde kanıtlamıştır (Rajkowska ve ark., 1998; Öngür ve Drevets, 1998). Diğer taraftan DEHB, prefrontal kortekste dopamin transportunun disfonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (Bymaster ve ark., 2002; Krause ve ark., 2000). Bu açıdan bakıldığında mikro glial aktivasyonun DEHB’de rol aldığı söylenebilir (Kern JK ve ark., 2015; Mitchell RH ve Goldstein, 2014).

Bu sebeble çalışmamızda GFAP serum seviyelerinin DEHB’deki düzeylerinin değişebileceği hipotezini inceledik. Ve gerçekten hipotezimizin doğruluğu kanıtlanmış oldu. Bu çalışmada GFAP seviyeleri DEHB tanısı olan çocuklarda kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Shim ve ark. DEHB’li hastaların, plazma glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör düzeylerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör düzeylerinin DEHB tanısı alan hastalardaki dikkat, hiperaktivite, stroop total skoru ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (Shim ve ark., 2015).

Oades ve arkadaşları serum S100B (glial fonksiyon bütünlüğünün bir markırı) düzeylerindeki değişimin DEHB’deki nöronal aktivitenin enerji kaynağındaki bozukluğun ve disfonksiyonunun bir aynası olabileceğini öne sürmüşlerdir (Oades ve ark., 2010). Oades ve arkadaşları S100B düzeylerinin DEHB’de bir azalma eğiliminde olduğunu bulmuşlardır. Oades ve ark. ayrıca glial fonksiyonun diğer markırlarının da DEHB’li hastalarda incelenmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir (Shim ve ark., 2015 ; Oades ve ark., 2010).

S100B ve GFAP özellikle beyin yaralanmalarındaki astroglial plastisitenin bir markırı olarak kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda, oades ve ark.’nın S100B sonuçlarından farklı olarak GFAP düzeyleri DEHB tanısı alan çocuklarda istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. S100B ve GFAP’ın astroglial plastisite de kullanılan markırlar olmasına rağmen ikisinde aynı yönde yada zamanda değişmek

zorunda olmadığında bildirilmiştir (Batassini ve ark., 2015). Önemli olarak şunu da ifade etmek gerekirken, GFAP, astrositik süreç içerisindeki intermedit filament genişlemesinden ve birleşmesinden sorumlu tutulduğu için reaktif gliozisteki kalınlaşmış ve genişlemiş astrositik süreçlerin oluşmasında GFAP'ın tetiklenmesinin çok önemli olduğu ve kritik olduğuna inanılmaktadır. Astroglial aktivasyonunun hızlı GFAP sentezine de yol açtığı gösterilmiştir (Eng ve ark., 2000). Bu sebeple çalışmamızda tespit edilen GFAP düzeylerindeki artışın bu çocuklardaki mikro glial ve astroglial aktivasyonun bir sonucu olduğu söylenebilir.



Şekil 4. 3. Kontrol grubu ile DEHB grubu Nogo-A düzeylerinin karşılaştırılması

Miyelin içerisinde bulunan ve aksonal büyümeyi inhibe eden bazı faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlere inhibitör denir. Bu faktörlere, Nogo-A (Hsieh ve ark., 2006) ve oligodentrosit miyelin glikoprotein örnek verilebilir (Wang ve ark., 2002). Ek olarak aksonal yeniden oluşumun aksaklığı nöronal büyümeyi engelleyen glial kusurun (patofizyolojinin) varlığından da kaynaklanabilir. GFAP spesifik olarak glial scar'ın ana komponentini oluşturan astrositlerde eksprese edilmektedir. Miyelin beyaz maddenin önemli bir bileşenidir ve beyaz madde hacminin azalması DEHB'de rapor edilmiştir (Yiu ve He, 2006; Fitch ve Silver, 2008; Durston ve ark., 2009; Valera ve ark., 2007).

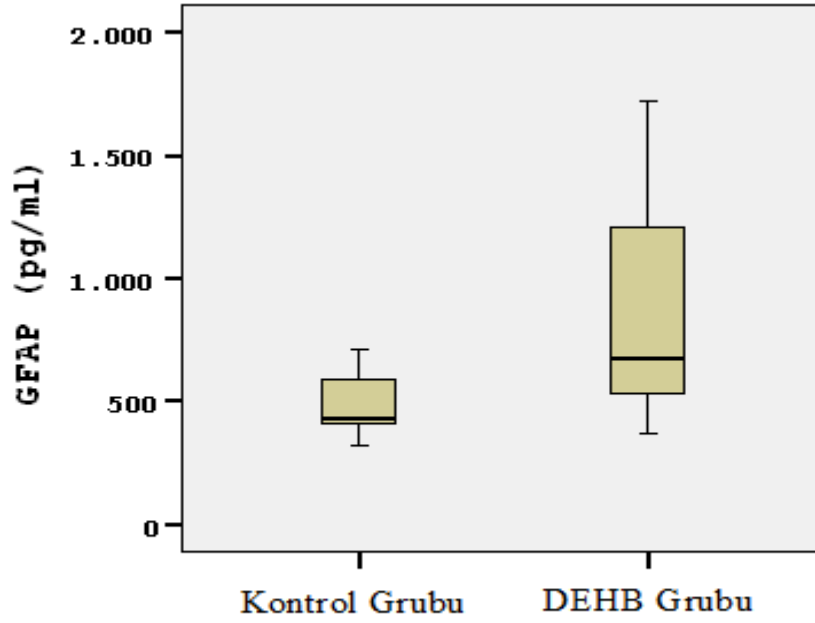
Bununla birlikte artmış GFAP ve Nogo-A ekspresyonu kemirgenlerdeki merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin deneysel yaralanma modelleriyle gösterilmiştir (Brenneman ve ark., 2008; Wang ve Yao., 2006; Stichel ve Müller, 1998). Dahası Liu ve ark. Nogo-A ve GFAP ekspresyonunun inhibe edilmesiyle travmatik beyin hasarı sonrasında progesteronun nöroproteksiyonu artırdığını göstermektedir (Liu ve ark., 2014). Bu bilgiler Nogo-A ve GFAP'ın birlikte hareket ettiğini ya da GFAP ve Nogo-A arasındaki potansiyel sinerjinin bir göstergesi olabilir. Bu bulgular, GFAP ve Nogo-A'nın serum düzeylerinin DEHB'de incelemesinin ne kadar uygun olduğunun bir göstergesidir.

Farklı hasta grupları ile yapılan önceki çalışmalarla uyumlu olarak bizim çalışmamızda DEHB grubunda incelenmemiş olan Nogo-A ve GFAP 'ın düzeylerindeki artmanın varlığı gösterilmiştir. Nogo-A protein ekspresyonu engellenmiş ratlar; davranışsal stabilite, kısa süreli hafızada bozukluklar, referans davranışların yönetiminde problemler gibi davranışsal anormallikler sergilemektedir (Tews B ve ark., 2013; Willi R ve ark., 2009; Weinmann ve ark., 2010). Bu açıdan düşünüldüğünde serum Nogo-A seviyelerinin DEHB tanısı alan çocuklardaki değişikliği; Nogo-A ve davranışsal anormallikler ilişkisinin bir kanıtı olabilir. Bu düşüncemiz çalışmamızın diğer bir bulgusu ile desteklenmektedir. Çünkü bizim çalışmamızın en önemli bulgusu Nogo-A serum düzeyleri ve farklı hemodinamik sağ dorsolateral prefrontal kortekste oluşan stroop interferansı ile ilişkili bulunmuştur (Van Mourik ve ark., 2005; Schwartz ve Verhaeghen, 2008).

Moser ve ark. yaptıkları çalışmalarında foton emisyonu ile bilgisayarlanmış tomografi yönteminde DEHB tanısı alan hastaların dorsolateral prefrontal korteksinin dinlenme sırasında serebral kan akımındaki azalmayı göstermişlerdir (Spalletta ve ark., 2001). Daha da ilginç Enkel ve arkadaşları Nogo-A'nın ratlardaki eksikliğinde ortaya çıkan davranışsal profili, motivasyon ve duyarlılık açısından genişleterek monoaminlerden dopamin ve serotoninin preferantal korteks dorsal striatum ve nükleus akkumbensteki konsantrasyonlarını tespit etmişlerdir (Enkel ve ark., 2014). Kalıcı DEHB medial prefrontal korteksin sabitleşmiş düşüncelerdeki karakterizasyonu ile DEHB'de prefrontal korteksin bozukluğunu ortaya koymaktadır (Proal ve ark., 2011; Shaw ve ark., 2006).

Literatür bu açıdan düşünüldüğü zaman Nogo-A ve stroop interferansının her ikisinin de preforantal korteks ile ilişkili olduğu öne sürülebilir. Bu bilgiler bize Nogo-A

düzeylerinin stroop interferans etkisinin DEHB'deki ilişkisini ortaya koyabilir. Sonuç olarak artmış Nogo-A seviyeleri DEHB'li çocuklarda noroplastisit süreçlerin ve bu süreçlerden önceki bir yüksekliğin işareti olabilir.



Şekil 4. 1. Kontrol grubu ile DEHB grubu GFAP düzeylerinin karşılaştırılması

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

- 1- Bu çalışmada TDP-43 ve UCH-L1 moleküllerinin temel olarak ekstrasellüler boşluğa serbestleştirildiği ve DEHB tanısı alan çocukların serumlarında tespit edilebileceği gösterilmiştir.
- 2- TDP-43 ve UCH-L1 serum düzeylerinin DEHB tanısı alan çocuklarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur.
- 3- TDP-43 ve UCH-L1 seviyelerinin DEHB'nin erken aşamalarında artmış olabileceği söylenebilir.
- 4- TDP-43 ve UCH-L1 molekül düzeylerindeki bu değişiklik DEHB'deki ubikuitinasyon süreçlerinde meydana gelen bozulmanın bir kanıtı olabilir.
- 5- Farklı hasta grupları ile yapılan önceki çalışmalarla uyumlu olarak bizim çalışmamızda daha önce DEHB grubunda incelenmemiş olan Nogo-A ve GFAP moleküllerinin serumdaki varlığı gösterilmiştir.
- 6- Çalışmamızda bulunan GFAP düzeylerindeki artışın bu çocuklardaki mikrogial ve astroglial aktivasyonun bir sonucu olduğu söylenebilir.
- 7- Çalışmamızda bulunan Nogo-A serum düzeylerindeki bu artışın DEHB tanısı alan çocuklardaki davranış anomalileri ile ilişkili olabileceği söylenebilir.

5.2. Öneriler

- 1- Bütçemizdeki kısıtlılıktan dolayı çalışmaya dâhil ettiğimiz katılımcı sayısı bulgularımızın kesin bir sonuç ortaya koymasına izin vermemektedir. Bu sebeple daha fazla sayıda katılımcının yer alacağı sonraki çalışmalar ile bu moleküllerin DEHB'deki rolünün anlaşılacağı kanaatindeyiz.
- 2- DEHB tanısı alan çocuklarda, serum düzeyleri artmış olan TDP-43 ve UCH-L1 seviyelerinin bu çocuklarda ubikuitinasyon sürecindeki ve protein TDP-43'ün patalojisinin belirtisi olduğu öne sürülebilir. Ancak GFAP, Nogo-A, TDP-43 ve UCH-L1 moleküllerinin BOS ve serebrospinal sıvı düzeylerindeki bulunmasının, bu moleküllerin DEHB'de rolünü anlamada önemli olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Alfieri, J.A., Pino N.S, Igaz L.M., 2014, Reversible behavioral phenotypes in a conditional mouse model of TDP-43 proteinopathies. *J Neurosci*, 34(46), 15244-59.
- Amen, D.G., Goldberg, P., 1998, Attention deficit hyperactivity disorder: a guie for primary care physicians. *Primary Psychiatry*, 7, 76-80.
- Amerikan Psikiyatri Birliği, 1995, Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı, Dördüncü baskı (DSM-IV) (çev.ed.: Köroğlu E) Hekimler Yayın Birliği, Ankara.
- Amerikan Psikiyatri Birliği:Ruhsal Bozuklukların Tanımsal ve Sayımsal El Kitabı, 2007, 4 Baskı Yeniden Gözden Geçirilmiş Tam Metin (DSM –IV-TR), (çev. ed Köroğlu E.) Ankara: Hekimler Yayın Birliği, 116-130
- Anderson, M.F., Blomstrand, F., Blomstrand, C., Eriksson, P.S., Nilsson, M., 2003, Astrocytes and stroke: networking for survival? *Neurochem Res*, 28(2), 293-305.
- Anlar, B., Uysal, S., 2006, Mental-Motor Gelişme İçinde Çocuk Nörolojisi, *Alpoşet*, Ankara,151-158.
- Arnold L.E., Jensen P.S., 1995, Attention-deficit disorder. In: HI Kaplan, BJ Sadock, editors. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. 6nd ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 2295-310.
- Baloh, R.H., 2011, TDP-43: The relationship between protein aggregation and neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration, *Febs j.*, 278 (19), 3539-49.
- Bandtlow, C.E., Dlaska, M., Pirker, S., Czech, T., Baumgartner, C., Sperk, G., 2004, Increased expression of Nogo-A in hippocampal neurons of patients with temporal lobe epilepsy, *Eur J Neurosci*, 20 (1), 195-206.
- Barkley R.A., Murphy K.R., Fischer M., 2008, Attention deficit hyperactivity disorder in adults. What the science says. 1st ed. Newyork, London: The Guilford Press., p.1-467.
- Batassini C., Broetto N., Tortorelli L.S., Borsoi M., Zanotto C., Galland F., Souza T.M., Leite M.C., Gonçalves C.A., 2015, Striatal Injury with 6-OHDA Transiently Increases Cerebrospinal GFAP and S100B. *Neural Plast.*, 387028.
- Baydas, G., Nedzvetskii, V.S., Tuzcu, M., Yasar, A., Kirichenko, S.V., 2003, Increase of glialfibrillary acidic protein and S100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effectsof vitamin E. *Eur J Pharmacol*, 462 (1-3), 67-71.
- Biederman J.F., Faraone S.V., 2002, Current concepts on the neurobiology of ADHD. *J.Atten. Dis.*, 6, 7.

- Blyth, B.J., Farahvar, A., He, H., Nayak, A., Yang, C., Shaw, G., Bazarian, J.J., 2011, Elevated serum ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 is associated with abnormal blood-brain barrier function after traumatic brain injury, *J Neurotrauma*, 28 (12), 2453-62.
- Bordet, R., Dartigues, J.F., Dubois, B., Goehrs, J.M., Vernoux, L., Semah, F., Pasquier, F., Bidaut-Mazel, C., 2010, Participants of Round Table n°3 of the 25th Annual Meeting of the European Association of Neurologists. Biomarkers for the early stages of clinical development in Alzheimer's disease, *Therapie*, 65, 285-90.
- Brady, O.A., Meng, P., Zheng, Y., Mao, Y., Hu, F., 2011, Regulation of TDP-43 aggregation by phosphorylation and p62/SQSTM1. *J. Neurochem*, 116: 248–59.
- Brenneman M.M., Wagner S.J., Cheatwood J.L., Heldt S.A., Corwin J.V., Reep R.L., Kartje G.L., Mir A.K. and Schwab M.E., 2008, Nogo-A inhibition induces recovery from neglect in rats. *Behav Brain Res* 187:262–272
- Brion, J.P., Power, D., Hue, D., Couck, A.M., Anderton, B.H., Flament-Durand, J., 1989, Heterogeneity of ubiquitin immunoreactivity in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease, *Neurochem Int*, 14 (2), 121-8
- Brophy, G.M., Mondello, S., Papa, L., Robicsek, S.A., Gabrielli, A., Tepas, J., Buki, A., Robertson, C., Tortella, F.C., Hayes, R.L., Wang, K.K., 2011, Biokinetic Analysis of Ubiquitin C-Terminal Hydrolase-L1 UCH-L1 in Severe Traumatic Brain Injury Patient Biofluids, *J Neurotrauma*, 28, 861–870.
- Buratti, E., Baralle, F.E., 2009, The molecular links between TDP-43 dysfunction and neurodegeneration, *Adv Genet*, 66, 1-34.
- Bymaster F.P., Katner J.S., Nelson D.L., Hemrick-Luecke S.K., Threlkeld P.G., Heiligenstein J.H., Morin S.M., Gehlert D.R., Perry K.W., 2002, Atomoxetine increases extracellular levels of norepinephrine and dopamine in prefrontal cortex of rat: a potential mechanism for efficacy in attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology* 27:699-711.
- Caccamo A., Majumder S., Oddo S., 2012, Cognitive decline typical of frontotemporal lobar degeneration in transgenic mice expressing the 25-kDa C-terminal fragment of TDP-43. *Am J Pathol*, 180:293–302.
- Calamini, B., Silva, M.C., Madoux, F., Hutt, D.M., Khanna, S., Chalfant, M.A., 2011, Small molecule proteostasis regulators for protein conformational diseases. *Nat Chem Biol*, 8, 185-96.
- Chen, M.S., Huber, A.B., van der Haar M.E., Frank, M., Schnell, L., Spillmann, A.A., Christ, F., Schwab, M.E., 2000, Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1., *Nature*, 403, 434–439.
- Ciechanover, A., Hod, Y. and Hershko, A., 1978, A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes, *Biochem Biophys Res Commun*, 81,4, 1100-5 p.

- Cohen, T.J., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., 2011, TDP-43 functions and pathogenic mechanisms implicated in TDP-43 proteinopathies, *Trends Mol Med*; 17, 659-67.
- Cole, G.M., Timiras, P.S., 1987, Ubiquitin-protein conjugates in Alzheimer's lesions, *Neurosci Lett*, 79 (1-2), 207-12.
- Comings D.E., Gade-Andavolu R., Gonzalez N., Wu S., Muhleman D., Blake H., Dietz G., Saucier G., MacMurray J.P., 2000, Comparison of the role of dopamine, serotonin, and noradrenaline genes in ADHD, ODD and conduct disorder: multivariate regression analysis of 20 genes. *Clin Genet.*, 57:178-96.
- Curran S., Newman S., Taylor E., Asherson P., 2000, Hypescheme: an operational criteria checklist and minimum data set for molecular genetic studies of attention deficit and hyperactivity disorders. *Am J Med Genet.*, 96: 244-50. 107
- Döngür W.C., Drevets, J.L., 1998, Price Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders, *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:13290–13295.
- Dahl, D., 1981, The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination, *J Neurosci Res*, 6, 741-748.
- Dawson, S.P., 2008, Hepatocellular carcinoma and the ubiquitin-proteasome system, *Biochim Biophys Acta*, 1782 (12), 775-84.
- Doyle B.B., 2006, Understanding and Treating Adults with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. 1st Ed., Washington, London, American Psychiatric Publishing., 1-313.
- Duman, C., Yılmaz, S., 2008, Travmatik Beyin Hasarı Belirteçleri, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 6, 1, 33-41.
- Durston S., Zeeuw P., Staal W.G., 2009, Imaging genetics in ADHD: A focus on cognitive control. *Neurosci Biobehav Rev.*, 33:674–689.
- Eisenberg J., Mei-Tal G., Steinberg A., Tartakovsky E., Zohar A., Gritsenko I., Nemanov L., Ebstein R.P., 1999, Haplotype relative risk study of catechol-O-methyltransferase (COMT) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): Association of the high-enzyme activity Val allele with ADHD impulsive-hyperactive phenotype. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)*, 88:497-502.
- Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L., 2000, Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* 25, 1439-145
- Eng, L.F. ve Ghirnikar, R.S., 1994, Glial fibrillary acidic protein and astrogliosis. *Brain Pathol*, 4, 229-237.
- Enkel T., Berger S.M., Schöning K., Tews B., Bartsch D., 2014, Reduced expression of nogo-a leads to motivational deficits in rats. *Front Behav Neurosci* 22;8:10.

- Ercan E.S, Aydın C., 2000, Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Özellikleri-Tedavisi, Çocuklarda ve Erişkinlerde Belirtileri. Üçüncü Baskı, İstanbul, Gendaş.
- Ercan E.S, Aydın C., 2007, Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Özellikleri-Tedavisi Çocuklarda ve erişkinlerdeki belirtileri. 14. Baskı, İstanbul:Gendaş A. Ş.,: 72-74.
- Ercan E.S., 2010, Erişkin Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu. İstanbul: Dönence Yayınevi,.
- Ercan E.S., Amado S., Somer O., Çıkoğlu S., 2001, Development of a test battery for the assessment of attention deficit hyperactivity disorder. *Turk J Child Adolesc Ment Health*. 8(3):132–44.
- Faraone S.V., Biederman J., Mennin D., Wozniak J., Spencer T., 1997, Attention-deficit hyperactivity disorder bipolar disorder: a familial subtype? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 36: 1378–1390.
- Faraone S.V., Doyle A.E., 2001, The nature and heritability of attention deficit/hyperactivity disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin North Am.*, 10: 299-316.
- Fitch M.T. and Silver J., 2008, CNS injury, glial scars, and inflammation: Inhibitory extracellular matrices and regeneration failure. *Exp Neurol*, 209:294–301
- Foerch, C., Curdt, I., Yan, B., Neumann-Haefelin, T., Steinmetz, H., Sitzer, M., 2006, Serum glial fibrillary acidic protein as a biomarker for intracerebral haemorrhage in patients with acute stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 77, 181-4.
- Foulds P., McAuley E., Gibbons L., Davidson Y., Pickering-Brown S.M., Neary D., Snowden J.S., Allsop D., Mann D.M., 2008, TDP-43 protein in plasma may index TDP-43 brain pathology in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Acta Neuropathol*, 116(2):141-6.
- Fredriksson A., Archer T., 2004, Neurobehavioural deficits associated with apoptotic neurodegeneration and vulnerability for ADHD. *Neurotox Res.*, 6(6):435-56.
- Garcia-Segura, L.M., Chowen, J.A., Naftolin, F., 1996, Endocrine glia: roles of glial cells in the brain actions of steroid and thyroid hormones and in the regulation of hormone secretion, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 17, 180–211.
- Geller B., Williams M., Zimmerman B., 1998, Prepubertal and early adolescent bipolarity differentiate from ADHD by manic symptoms, grandiose delusions, ultra-rapid or ultradian cycling. *J Affect Disorder*, 51: 81–91.
- Gençer, V., 2007, Gebelik Döneminde Oluşturulan Deneysel Hipotiroidinin 10., 15. Gün ve Yenidoğanda Fetal Beyin Dokusunda Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) ve S100B Protein Ekspresyonuna Etkisi, Uzmanlık Tezi, *Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı*, Elazığ, 22. p.

- Geser, F., Robinson, J.L., Malunda, J.A., Xie, S.X., Clark, C.M., Kwong, L.K., 2010, Pathological 43-kDa transactivation response DNA-binding protein in older adults with and without severe mental illness, *Arch Neurol*, 67, 1238-50.
- Gomes, F.C., Paulin, D., Moura Neto, V., 1999, Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation, *Braz J Med Biol Res*, 32, 619-631.
- Gomi, H., Yokoyama, T., Fujimoto, K., Ikeda, T., Katoh, A., Itoh, T., Itohara, S., 1995, Mice devoid of the glial fibrillary acidic protein develop normally and are susceptible to scrapie prions, *Neuron*, 14, 29-41.
- Goss, J.R., Finch, C.E., Morgan, D.G., 1991, Age-related changes in glial fibrillary acidic protein mRNA in the mouse brain, *Neurobiol Aging*, 12, 165-70.
- Gottlieb, M.I., 1987, *The Hyperactive Child. Textbook of Developmental Pediatrics*, Gottlieb, M.I., Williams, J.E. (Ed), Plenum Medical Book Company, New York,.
- Gökler B., Ünal F., Pehlivan Türk B., Kültür E.Ç., Akdemir D., Taner Y., 2004, Reliability and Validity of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School Age Children-Present and Lifetime Version-Turkish Version (K-SADS-PL-T). *Turk J Child Adolesc Ment Health*, 11(3):109-16.
- GrandPre, T., Li, S., Strittmatter, S.M., 2002, Nogo-66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration, *Nature*, 417, 547-51.
- GrandPre, T., Nakamura, F., Vartanian, T., Strittmatter, S.M., 2000, Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein, *Nature* 403, 439-444.
- Güney, Y., Bilgihan, A., 2002, Ubiquitin system, *T Klin Tıp Bilimleri*, 22 (6), 616-9 p.
- Hales, R.E., Yudofsky, S.C., 2003, *American Psychiatric Publishing Textbook of Clinical Psychiatry* (4th ed).
- Halfon, N., Shulman, E., Hochstein, M., 2001, Brain Development in Early Childhood, Building Community Systems for Young Children, *ERIC*, 28.
- Hanno, P., 2003, Developmental neuroscience: implications for early childhood intervention and education. *Current Paediatrics*, 13, 58-63.
- He, Y., Smith, R., 2009, Nuclear functions of heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A/B, *Cell Mol Life*, 66, 1239-56.
- Hechtman L., McGough J.J., 2007, Dikkat Eksikliği Bozuklukları. In: Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry (Çev: Öner Ö, Aysev A.). Aydın H, Bozkurt A. (Editörler)., 8.baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevi, 3183-3205.
- Herrmann, M., Vos, P., Wunderlich, M.T., de Bruijn, C.H, Lamers, K.J., 2000, Release of glial tissue specific proteins after acute stroke: a comparative analysis of

serum concentrations of protein S- 100B and glial fibrillary acidic protein, *Stroke*, 31, 2670-7.

- Herschkowitz, N., Kagan, J., Zilles, K., 1997, Neurobiological bases of behavioral development in the first year, *Neuropediatrics*, 28 (6), 296-306.
- Hsieh S.H., Ferraro G.B. and Fournier A.E., 2006, Myelin-associated inhibitors regulate cofilin phosphorylation and neuronal inhibition through LIM kinase and Slingshot phosphatase. *J Neurosci* 26:1006–1015
- Huber, A.B., Weinmann, O., Brosamle, C., Oertle, T., Schwab, M.E., 2002, Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions, *J Neurosci*, 22, 3553–67.
- Huebner, E.A., Kim, B.G., Duffy, P.J., Brown, R.H., Strittmatter, S.M., 2011, A multi-domain fragment of Nogo-A protein is a potent inhibitor of cortical axon regeneration via Nogo receptor 1, *J Biol Chem*, 286, 18026–36.
- Inagaki, M., Gonda, Y., Nishizawa, K., Kitamura, S., Sato, C., Ando, S., 1990, Phosphorylation sites linked to glial filament disassembly in vitro locate in a non-alpha-helical head domain, *J Biol Chem*, 265, 4722-9.
- Inoue, T., Shiraki, K., Fuke, H., Yamanaka, Y., Miyashita, K., Yamaguchi, Y., Yamamoto, N., Ito, K., Sugimoto, K., Nakano, T., 2006, Proteasome inhibition sensitizes hepatocellular carcinoma cells to trail by suppressing caspase inhibitors and AKT pathway, *Anticancer Drugs*, 17 (3), 261-68 p.
- Işık, E., Işık Taner Y., 2009, Çocuk, Ergen ve Erişkinlerde Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu. Türkiye Klinikleri Yayınları.
- Ivanov, I., Newcorn, J., 2005, Attention-deficit/Hyperactivity Disorders. In Sexson S.B (Ed). *Child and Adolescent Psychiatry*. USA: Blackwell Publishing Ltd, 91-104.
- Jung, C.S., Foerch, C., Schanzer, A., Heck, A., Plate, K.H., Seifert, V., 2007, Serum GFAP is a diagnostic marker for glioblastoma multiforme, *Brain*, 12, 1-6.
- Karakaş S., Erdoğan E., Sak L., Soysal A.Ş., Ulusoy T., Ulusoy İ.Y., 1999, Stroop Test TBAG Form: Standardisation for Turkish Culture, Reliability and Validity. *Klin Psikiyatri*, 2(2):75–88.
- Karakaş S., 2004, Bilnot Bataryası El Kitabı: Nöropsikolojik Testler için araştırma ve geliştirme çalışmaları. Ankara: Dizayn Ofset
- Kasai T., Tokuda T., Ishigami N., Sasayama H., Foulds P., Mitchell D.J., Mann D.M., Allsop D., Nakagawa M., 2009, Increased TDP-43 protein in cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol*, 117(1):55-62.
- Kaufman J., Birmaher B., Brent D., Rao U., Flynn C., Moreci P., 1997, Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, Jul;36(7):980–8.

- Kern J.K., Geier D.A., King P.G., Sykes L.K., Mehta J.A., Geier M.R., 2015, Shared Brain Connectivity Issues, Symptoms, and Comorbidities in Autism Spectrum Disorder, Attention deficit/Hyperactivity Disorder, and Tourette Syndrome. *Brain Connect* 5:321-335.
- Kızıltunç, A., Şahin, Y.N., 1997, Structure and function of ubiquitin system, *Mjau*, 29, 358-63 p.
- King, R.W., Deshaies, R.J., Peters, J.M., Kirschner, M.W., 1996, How proteolysis drives the cell cycle, *Science*, 274 (5293), 1652-9 p.
- Koltuk, R., 1998, Inside the brain: Revolutionary discoveries of how the mind Works, *Prev Med*, 27 (2), 246-7.
- Köroğlu E, Güleç C, Şenol S., 2007, Psikiyatri Temel Kitabı. Ankara: HYB Basın Yayın:265-278.
- Krause K.H., Dresel S.H., Krause J., Kung H.F., Tatsch K., 2000, Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett* 285:107-110.
- Kwong, L.K., Uryu, K., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 2008, TDP-43 proteinopathies: neurodegenerative protein misfolding diseases without amyloidosis, *Neurosignals*, 16, 41-51.
- Lanau F., Zenner M.T., Civelli O., Hartman D.S., 1997, Epinephrine and norepinephrine act as potent agonists at the recombinant human dopamine D4 receptor. *J Neurochem*, 68: 804-12.
- Lazarides, E., 1982, Intermediate filaments: a chemically heterogeneous, developmentally regulated class of proteins, *Annu Rev Biochem*, 51, 219-50.
- Lewis S.B., Wolper R., Chi Y.Y., Miralia L., Wang Y., Yang C., 2010, Identification and preliminary characterization of ubiquitin C terminal hydrolase 1 (UCHL1) as a biomarker of neuronal loss in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosci Res.*, 88:1475–84.
- Lewis, S.B., Wolper, R., Chi, Y.Y., Miralia, L., Wang, Y., Yang, C., Shaw, G., 1983, Identification and preliminary characterization of ubiquitin C terminal hydrolase 1 UCHL1 as a biomarker of neuronal loss in aneurysmal subarachnoid hemorrhage, *J Neurosci Res*, 88, 1475–84.
- Li D., Sham P.C., Owen M.J., He L., 2006., Meta-analysis shows significant association between dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Hum Mol Genet.*, 15: 2276-84.
- Li, Y., Wang, Z., Zhang, B., Zhe, X., Wang, M., Bai, J., Lin, T., Zhang, S., 2013, Cerebrospinal fluid ubiquitin C-terminal hydrolase as a novel marker of neuronal damage after epileptic seizure, *Epilepsy Res*, 103, 205-10.

- Liedtke, W., Edelmann, W., Bieri, P.L., Chiu, F.C., Cowan, N.J., Kucherlapati, R., Raine C.S., 1996, GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination, *Neuron*, 17, 607-15.
- Liu F., Liao F., Li W., Han Y., Liao D., 2014, Progesterone alters Nogo-A, GFAP and GAP-43 expression in a rat model of traumatic brain injury. *Mol Med Rep* 9:1225-31
- Liu M.C., Akinyi L., Scharf D., Mo J., Larner S.F., Muller U., 2009, Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 as a biomarker for ischemic and traumatic brain injury in rats. *Eur J Neurosci.*, 31:722–32.
- Liu, M.C., Akinyi, L., Scharf, D., Mo, J., Larner, S.F., Muller, U., Oli, M.W., Zheng, W., Kobeissy, F., Papa, L., Lu, X.C., Dave, JR., Tortella, F.C., Hayes, R.L., Wang, K.K., 2010, Ubiquitin-C-Terminal Hydrolase as a Novel Biomarker for stroke and Traumatic Brain Injury in Rats, *Eur J Neurosci*, 31, 722–32.
- Lowe, J., Blanchard, A., Morrell, K., Lennox, G., Reynolds, L., Billett, M., Landon, M., Mayer, R.J., 1988, Ubiquitin is a common factor in intermediate filament inclusion bodies of diverse type in man, including those of Parkinson's disease, Pick's disease, and Alzheimer's disease, as well as Rosenthal fibres in cerebellar astrocytomas, cytoplasmic bodies in muscle, and mallory bodies in alcoholic liver disease, *J Pathol*, 155, 1, 9-15.
- Manetto V, Perry G, Tabaton M, Mulvihill P, Fried VA, Smith HT, Gambetti P, Autilio-Gambetti L., 1988, Ubiquitin is associated with abnormal cytoplasmic filaments characteristic of neurodegenerative diseases, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85, 12, 4501-5.
- Martinez-Vicente, M., Sovak, G., Cuervo, A.M., 2005, Protein degradation and aging, *Exp Gerontol*, 40 (8-9), 622-33 p.
- McCall, M.A., Gregg, R.G., Behringer, R.R., Brenner, M., Delaney, C.L., Galbreath, E.J., 1996, Targeted deletion in astrocyte intermediate filament (Gfap) alters neuronal physiology, *Proc Natl Acad*, 93, 6361-6366.
- McCraeken. Attention Deficit Disorder. E.: Sadock B., Sadock V.A., 2000, Comprehensive Textbook of Psychiatry 7th. Edition, pp: 2679-2692, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, USA
- Meier, S., Bräuer, A.U., Heimrich, B., Schwab, M.E., Nitsch, R., Savaksan, N.E., 2003, Molecular analysis of Nogo expression in the hippocampus during development and following lesion and seizure, *FASEB J*, 17, 1153-5.
- Millichap J.G., 2008, Etiologic classification of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*, 121:358-365.
- Mironova Y.A., Giger R.J., 2013, Where no synapses go: gatekeepers of circuit remodeling and synaptic strength. *Trends Neurosci.*, Jun;36(6):363-73.

- Mitchell R.H., Goldstein B.I., 2014, Inflammation in children and adolescents with neuropsychiatric disorders: A systematic review. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 53: 274–296.
- Mondello, S., Linet, A., Buki, A., Robicsek, S., Gabrielli, A., Tepas, J., Papa, L., Brophy, G.M., Tortella, F., Hayes, R.L., Wang, K.K., 2012a, Clinical utility of serum levels of ubiquitin C-terminal hydrolase as a biomarker for severe traumatic brain injury, *Neurosurgery*, 70, 666-75.
- Mondello, S., Palmio, J., Streeter, J., Hayes, R.L., Peltola, J., Jeromin, A., 2012b, Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) is increased in cerebrospinal fluid and plasma of patients after epileptic seizure, *BMC Neurol*, 29, 85.
- Morte, B., Manzano, J., Scanlan, T.S., Vennström, B., Bernal, J., 2004, Aberrant Maturation of Astrocytes in Thyroid Hormone Receptor 1 Knockout Mice Reveals an Interplay between Thyroid Hormone Receptor Isoforms, *Endocrinology*, 145 (3), 1386-1391.
- Needleman H.L., Schell A., Bellinger D., Leviton A., Allred E.N., 1990, The longterm effects of exposure to low doses of lead in childhood. An 11-year followup report. *N Engl J Medicine*, 322: 83–88.
- Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., 2006, Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, *Science*, 314, 130-3.
- Nylén, K., Csajbok, L.Z., Ost, M., Rashid, A., Blennow, K., Nellgard, B., 2007, Serum glial fibrillary acidic protein is related to focal brain injury and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage, *Stroke*, 38, 1489-94.
- Oades R.D., Dauvermann M.R., Schimmelmann B.G., Schwarz M.J., Myint A.M., 2010, Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) and glial integrity: S100B, cytokines and kynurenine metabolism--effects of medication. *Behav Brain Funct* 28: 6-29.
- Olson, E.E., McKeon, R.J., 2004, Characterization of cellular and neurological damage following unilateral hypoxia/ischemia, *J Neurol*, 227, 7-19.
- Osada, T., Sakamoto, M., Nishibori, H., Iwaya, K., Matsuno, Y., Muto, T., Hirohashi, S., 1997, Increased ubiquitin immunoreactivity in hepatocellular carcinomas and precancerous lesions of the liver, *J Hepatol*, 26 (6), 1266-73 p.
- Ou, S.H., Wu, F., Harrich, D., Garcia-Martinez, L.F., Gaynor, R.B., 1995, Cloning and characterization of a novel cellular protein, TDP-43, that binds to human immunodeficiency virus type 1 TAR DNA sequence motifs, *J Virol*, 69, 3584-96.
- Öner Ö., Arsev A.S., 2007, Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu. Arsev A.S., Taner Y..I, (editörler). *Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları'nda*. İstanbul, Golden Print.; 397-421.

- Öztürk O., 2008, Ruh sağlığı ve bozuklukları. Ankara: Nobel Kitabevi, 337-427.
- Papa L., Akinyi L., Liu M.C., Pineda J.A., Tepas J.J., Oli M.W., 2010, Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. *Crit Care Med.*, 38:138–44.
- Peng, X., Kim, J., Zhou, Z., Fink, D.J., Mata, M., 2011, Neuronal Nogo-A regulates glutamate receptor subunit expression in hippocampal neurons, *J Neurochem*, 119, 1183–1193.
- Perry, G, Friedman, R, Shaw, G, Chau, V., 1987, Ubiquitin is detected in neurofibrillary tangles and senile plaque neurites of Alzheimer disease brains, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84, 9, 3033-
- Polanczyk G., de Lima M., Horta B., 2007, The Worldwide Prevalence of ADHD: A Systematic Review and Metaregression Analysis. *Am J Psychiatry.*; 164:942–948
- Polanczyk, G., Jensen, P., 2008, Epidemiologic considerations in attention deficit hyperactivity disorder: a review and update, *Child Adolesc Psychiatr Clin. N. Am.*, 17(2),245-60.
- Portakal, O. ve Deren, Ö., 2010, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 41 (3), 135-141.
- Proal E., Reiss P.T., Klein R.G., Mannuzza S., Gotimer K., Ramos-Olazagasti M.A., Lerch J.P., He Y., Zijdenbos A., Kelly C., Milham M.P., Castellanos F.X., 2011, Brain gray matter deficits at 33-year follow-up in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder established in childhood. *Arch Gen Psychiatry* 68:1122-1134.
- Rajkowska G., Selemon L.D., Goldman-Rakic P.S., 1998, Neuronal and glial somal size in the prefrontal cortex: a postmortem morphometric study of schizophrenia and Huntington disease. *Arch Gen Psychiatry* 55:215-24.
- Reeves, S.A., Helman L.J., Allison, A., Israel, M.A., 1989, Molecular cloning and primary structure of human glial fibrillary acidic protein, *Proc Natl Acad Sci, USA* 86, 5178-82.
- Rodwell, V.R., 2000, Catabolism of proteins and of amino acid nitrogen, In Murray R.K. Et al. Eds. *Harpers Biochemistry*, 25th ed. Appleton and lange, 313-322 pp.
- Rommelse N.N.J., Altink M.E., DeSonnevile L.M.J., 2007, Are motor inhibition and cognitive flexibility dead ends in ADHD? *J Abnorm Child Psychol*; 35: 957–967.
- Ruben, R.J., 1997, A time frame of critical/sensitive periods of language development, *Acta Otolaryngol*, 117 (2), 202-5.
- Sadock B.J., Sadock V.A. (Çeviri: Aydın H, Bozkır A.), 2007, *Copreshensive Texbook of Psychiatry*. Ankara: Güneş Kitabevi, 3183-203.

- Schwartz Kç, Verhaeghen P., 2008, ADHD and Stroop interference from age 9 to age 41 years: a meta-analysis of developmental effects. *Psychological Medicine* 38: 1607–1616.
- Scotter, EL., Chen, HJ., Shaw, CE., 2015, TDP-43 Proteinopathy and ALS: Insights into Disease Mechanisms and Therapeutic Targets, *Neurotherapeutics*, 5.
- Shaw P., Lerch J., Greenstein D., Sharp W., Clasen L., Evans A., Giedd J., Castellanos F.X., Rapoport J., 2006, Longitudinal mapping of cortical thickness and clinical outcome in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry* 63: 540-9.
- Shim S.H., Hwangbo Y., Yoon H.J., Kwon Y.J., Lee H.Y., Hwang J.A., Kim Y.K., 2015, Increased levels of plasma glial-derived neurotrophic factor in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Nord J Psychiatry* 9: 1-6.
- Shorter E., 2005, *A Historical Dictionary of Psychiatry*. 1st Ed., New York, Oxford University Press., 32-34.
- Skounti M., Philalithis A., Galanakis E., 2007 Variations in prevalence of attention deficit hyperactivity disorder worldwide. *Eur J Pediatr.*, 2 Feb;166(2):117-23.
- Spalletta G., Pasini A., Pau F., Guido G., Menghini L., Caltagirone C., 2001, Prefrontal blood flow dysregulation in drug naive ADHD children without structural abnormalities. *J Neural Transm* 108:1203-16.
- Spataro, V., Norbury, C., Haris, A., 1998, The ubiquitin-proteasome pathway in cancer, *B J Cancer*, 77 (3), 448-455.
- Spetie L., Arnold E.L.. 2007, Attention Deficit Hyperactivity Disorder. In: Martin A, Fred RW (eds), *Lewis's Child and Adolescent Psychiatry, A Comprehensive Textbook*, Williams&Wilkins, Philadelphia; 430-54.
- Spillmann, A.A., Bandtlow, C.E., Lottspeich, F., Keller, F., Schwab, M.E., 1998. Identification and characterization of a bovine neurite growth inhibitor, *J Biol Chem.*, 273, 19283–19293.
- Stichel C.C. and Müller H.W., 1998, The CNS lesion scar: new vistas on an old regeneration barrier. *Cell Tissue Res* 294:1–9.
- Still GF., 1902, Some abnormal physical conditions in children. *Lancet.*; 1:1008-1012, 1077- 1082, 1163-8.
- Stroop JR., 1935, Studies of interference in serial verbal reaction. *J Exp Psychol.*, 18:643–62.
- Stubbe, D.E., 2000, Attention-deficit/hyperactivity disorder overview. Historical perspective, current controversies, and future directions, *Child Adolesc Psychiatr Clin. N. Am.*, 9(3),469-479.
- Sultana R., Perluigi M., Butterfield D.A., 2006, Redox proteomics identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain and in vivo and in

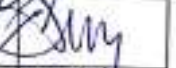
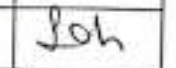
- vitro models of AD centered around Abeta(1-42). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.*, 833(1):3-11.
- Svetlov S.I., Prima V., Kirk D.R., Gutierrez H., Curley K.C., Hayes R.L., 2010, Morphologic and biochemical characterization of brain injury in a model of controlled blast overpressure exposure. *J Trauma*.;69:795–804.
- Swarup V., Phaneuf D., Bareil C., Robertson J., Rouleau G.A., Kriz J., Julien J.P.. 2011, Pathological hallmarks of amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal lobar degeneration in transgenic mice produced with TDP-43 genomic fragments. *Brain*, 134:2610 –26.
- Şenol, S., 2008, Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu. In Çuhadaroğlu Çetin F. ve ark. (Ed) *Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı*. Ankara: Hekimler Yayın Birliği, 293-311.
- Takeda, Y., Kamida, T., Fujiki, M., Kobayashi, H., 2007, Hippocampal Nogo-A and neo-Timm's staining in amygdala kindling rats, *Neurol Res*, 29, 199-203.
- Tews B., Schöning K., Arzt M.E., Clementi S., Rioult-Pedotti M.S., Zemmar A., Berger S.M., Schneider M., Enkel T., Weinmann O., Kasper H., Schwab M.E., Bartsch D., 2013, Synthetic microRNA-mediated downregulation of Nogo-A in transgenic rats reveals its role as regulator of synaptic plasticity and cognitive function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110: 6583-8.
- Thompson, R.J., Doran, J.F., Jackson, P., Dhillon, A.P., Rode, J., 1983, PGP 9.5-a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells, *Brain Res*, 278, 224–28.
- Tsai K.J., Yang C.H., Fang Y.H., Cho K.H., Chien W.L., Wang W.T., Wu T.W., Lin C.P., Fu W.M., Shen C.K., 2010, Elevated expression of TDP-43 in the forebrain of mice is sufficient to cause neurological and pathological phenotypes mimicking FTL-D. *J Exp Med.*, 207:1661–73.
- Tuğlu C., Şahin Ö.Ö., 2010, Erişkin Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu: Nörobiyoloji, Tanı Sorunları Ve Klinik Özellikler. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2(1):75116
- Turgay A., 1994, Disruptive Behavior Disorders Child and Adolescent Screening and Rating Scale for Children, Adolescents, Parents, and Teachers. West Blomfield (Michigan): Integrative Therapy Institute Publication.
- Turgay A., 1997, Gençlerde dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu. *Ege Psikiyatri Sürekli Yayınları*, 3: 413-53.
- Turgay A., 2001, Diagnosing and Treating ADHD in Adults. *The Canadian J of CME.*, 182-190
- Valera E.M., Faraone S.V., Murray K.E., Seidman L.J., 2007, Metaanalysis of structural imaging findings in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 61:1361–1369

- Van M.R., Oosterlaan J., Sergeant J.A., 2005, Sergeant The Stroop revisited: a meta-analysis of interference control in AD/HD *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 46 :150–165.
- Verstraete E., Kuiperij H.B., van Blitterswijk M.M., Veldink J.H., Schelhaas H.J., Van den Berg L.H., Verbeek M.M., 2012, TDP-43 plasma levels are higher in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.*, 13(5):446-51.
- Vos, P.E., van Gils, M., Beems, T., Zimmerman, C., Verbeek, M.M., 2006, Increased GFAP and S100 beta but not NSE serum levels after subarachnoid haemorrhage are associated with clinical severity, *Eur J Neurol*, 13, 632-8.
- Wang H., Yao Y.J. and Chen D.P., 2006, Expression of Nogo-A mRNA and Nogo-A protein in brain tissue of neonatal mice with ischemic-hypoxic brain damage. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 44:792–793
- Wang K.C., Koprivica V, Kim J.A., Sivasankaran R., Guo Y., Neve RL and He Z., 2002, Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth. *Nature* 417:941–944
- Wang, S., Zhang, B. and Faller, D.V., 2002b, Prohibitin requires Brg-1 and Brm for the repression of E2F and cell growth, *Embo J.*, 21, 3019–28.
- Ward M.F., Wnder P.H., Reimherr F.W., 1993, The Wender Utah Rating Scale: An Aid in the Retrospective Diagnosis of Childhood Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry*, 150:885-890.
- Weinstein, D.E., Shelanski, M.L., Liem, R.K., 1991, Suppression by antisense mRNA demonstrates a requirement for the glial fibrillary acidic protein in the formation of stable astrocytic processes in response to neuron, *J Cell Biol*, 112, 1205-13.
- Weiss, M., Weiss, G., 2002, Attention deficit hyperactivity disorder. Lewis M, editor. *Child and Adolescent Psychiatry, A Comprehensive Textbook* içinde. Philadelphia, Lippincott William and Wilkins, 647-50.
- Wender P.H., 1995 Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Adults. Oxford University Pres, New York, 122-143.
- Willi R., Aloy E.M., Yee B.K., Feldon J., Schwab M.E., 2009, Behavioral characterization of mice lacking the neurite outgrowth inhibitor Nogo-A. *Genes Brain Behav* 8: 181-92.
- Willi R., Weinmann O., Winter C., Klein J., Sohr R., Schnell L., Yee B.K., Feldon J, Schwab M.E., 2010, Constitutive genetic deletion of the growth regulator Nogo-A induces schizophrenia-related endophenotypes. *J Neurosci* 30: 556-67.
- Wolf L.E., Wasserstein J., 2001, Adult ADHD-concluding thoughts. *Ann NY Acad Sci.*, 931:396-408.
- Wolraich M.L., Hannah J.N., Pinnock T.Y., Baumgaertel A., Brown J., 1996, Comparison of diagnostic criteria for attention deficit hyperactivity disorder in a country-wide sample. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 35:319-24.

- Wynder, E.L., 1998, Introduction to the report on the conference on the 'critical' period of brain development, *Prev Med.*, 27 (2), 166-7.
- Yiu G. and He Z., 2006, Glial inhibition of CNS axon regeneration. *Nat Rev Neurosci.* 7:617–627
- Zametkin, A.J., Rapoport, J.L., 1987, Neurobiology of attention deficit disorder with hyperactivity: where have we come in 50 years?, *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*, 26(5), 676-86.
- Zapitelli U., Pinto M., Grizenko N., 2001, Pre-, peri- and postnatal trauma in subjects with attention deficit hyperactivity disorder. *Can J Psychiatry*, 46: 542- 548.

EKLER

EK-1 Etik Kurul Onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
167					
KARAR					
Yrd. Doç. Dr. Şeref ŞİMŞEK, Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN araştırmacılar tarafından planlanan "Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu tanısı alan çocuklarda nöroplastisite, nörodegeneratif ve nöroprotektif molekül düzeylerinin incelenmesi" başlıklı araştırmaya <i>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u</i> tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Examination of the neuroplasticity, neurodegenerative and neuroprotective molecular levels in children diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder" planned Şeref ŞİMŞEK, İhsan ÇETİN has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number) :		Tarih (Date): 27.02.2015		Saat (Hour): 13:00-15:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Aydın ECE			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Aydın ECE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Çocuk Sağlığı ve Hast.	
2	Yrd. Doç. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyokimya	
3	Prof. Dr.	Süleyman GÖREN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Adli Tıp	
4	Yrd. Doç. Dr.	İlker KELE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
5	Doç. Dr.	A. Çetin TANRIKULU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Göğüs Hast.	
6	Doç. Dr.	Abdullah BÖYÜK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
7	Yrd. Doç. Dr.	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
8	Doç. Dr.	Uğur FIRAT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
9	Yrd. Doç. Dr.	Orhan ATEŞ	Dicle Üniversitesi İlahiyat Fakültesi	Temel İlahî Bilimler	
10	Doç. Dr.	Mehmet Uğur ÇEVİK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Nöroloji	
11	Avukat	Şahin KAPLAN	Dicle Üniversitesi Hastaneleri Başhekimlik	Avukat	

ÖZGEÇMİŞ**KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : HAMDULLAH BULUT
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : BATMAN ve 22.05.1982
Telefon : 05052377127
Faks : -
e-mail 1. : hamdullahbulut@hotmail.com
e-mail 2. : hamdullahbulut72@gmail.com

EĞİTİM

OKUL	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Batman Lisesi, merkez, BATMAN	2000
Üniversite	: Harran Üniversitesi, ŞANLIURFA	2007
Yüksek Lisans	: Batman Üniversitesi, merkez, BATMAN	-
Doktora	: -	