



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DİKKAT EKSİKLİĞİ VE HİPERAKTİVİTE BOZUKLUĞU (DEHB)
OLAN HASTALARDA UZUN KODLANMAYAN RNA NEAT1 DÜZEYİ
VE OKSİDATİF STRESİN ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Elif ÇAKILLI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet KARADAĞ

GAZİANTEP
HAZİRAN-2025



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DİKKAT EKSİKLİĞİ VE HİPERAKTİVİTE BOZUKLUĞU (DEHB)
OLAN HASTALARDA UZUN KODLANMAYAN RNA NEAT1 DÜZEYİ
VE OKSİDATİF STRESİN ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Elif ÇAKILLI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet KARADAĞ

GAZİANTEP
HAZİRAN-2025

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PSİKİYATRİ ANABİLİM DALI**

TEZİN ADI

**Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) Olan Hastalarda Uzun
Kodlanmayan RNA NEAT1 Düzeyi ve Oksidatif Stresin Rolü**

Dr. Elif Çakıllı

TARİH

17.06.2025

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza)

Prof. Dr. Şevki Hakan EREN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza)

Doç. Dr. Mehmet KARADAĞ
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza)

Doç. Dr. Mehmet KARADAĞ
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Hatice ALTUN
2. Doç. Dr. Mehmet KARADAĞ
3. Dr. Öğr. Üyesi Baran ÇALIŞGAN

YEDEK JÜRİ:

4. Prof. Dr. Ayşe Aysima ÖZÇELİK
5. Dr. Öğretim Üyesi Semiha CÖMERTOĞLU ARSLAN

I. TEŞEKKÜR

Akademik yolculuğum boyunca bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren, bana ilham veren ve desteklerini hissettiren kıymetli hocalarım, Doç.Dr. Mehmet KARADAĞ, Doç.Dr. Zehra HANGÜL ve Dr.öğretim üyesi Baran ÇALIŞGAN'a, Tez sürecim de bana destek olan, yol gösteren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet KARADAĞ'a, tezimin biyokimyasal ve genetik çalışma aşamasında desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Emel ŞAHİN'e, Bu süreçte manevi destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili anneme ve babama bana her zaman inanan ve moral veren sevgili kardeşlerime, Bu zorlu süreçteki en büyük destekçim her zaman yanımda olan sabrıyla bana güç veren sevgili eşim Dr. Mahmut ÇAKILLI'ya, Tez çalışmamın gerçekleştirilmesi için maddi destek sağlayan Bilimsel Araştırma Projeleri yönetim birimine, Son olarak, dört yıllık asistanlık sürecimde yollarımızın kesiştiği, birlikte çalışmaktan ve birlikte öğrenmekten keyif aldığım, desteklerini hep hissettiğim sevgili asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Haziran-2025

Dr. Elif ÇAKILLI

II. ÖZET

ÇAKILLI E., Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) Olan Hastalarda Uzun Kodlanmayan RNA NEAT1 Düzeyi ve Oksidatif Stresin Rolü, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Gaziantep, 2025.

Amaç: Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), çocuklukta başlayan ve yetişkinlikte de sürebilen; dikkatsizlik, hiperaktivite ve dürtüsellik ile karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur. DEHB'nin etiyolojisi henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, oksidatif stresin DEHB patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Oksidatif stres, nöroenflamasyona yol açarak ve nörotransmitter sistemleri etkileyerek DEHB gelişimine katkıda bulunabilir. Bu süreçte, oksidatif dengenin sağlanmasında rol oynadığı bilinen SLC7A11 mRNA ve NEAT1 lncRNA genlerinin de etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, DEHB tanısı almış çocuk ve ergenler ile sağlıklı kontroller arasında SLC7A11 mRNA ve NEAT1 lncRNA düzeylerini karşılaştırmak; oksidatif stres belirteçleri olan Glutathione Peroxidase 4 (GPX4), Malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) seviyelerini ölçmek; bu parametrelerin birbirleriyle ve yürütücü işlevlerle olan ilişkisini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Gaziantep Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran 40 DEHB tanılı çocuk ile 40 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Katılımcılarda eşlik eden psikiyatrik bozuklukları belirlemek amacıyla K-SADS-PL görüşmesi uygulandı. Klinik değerlendirme sonrası, Connors Ebeveyn ve Öğretmen Değerlendirme Ölçekleri (kısa formlar), Sosyodemografik Veri Formu ve Stroop TBAG formu kullandı. Tüm katılımcılardan aynı saat dilimlerinde periferik kan örnekleri alınarak biyokimyasal analizler yapıldı.

Bulgular: DEHB grubunda NEAT1 lncRNA ($p=0,001$) ve SLC7A11 mRNA ($p=0,001$) ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca, Stroop Testi'nin 5. bölüm puanları ile NEAT1 lncRNA ve SLC7A11 mRNA düzeyleri arasında negatif yönde korelasyon saptanmıştır. Ancak oksidatif stres belirteçleri (GPX4, MDA, GSH) açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Sonuç: Bulgularımız, NEAT1 lncRNA ve SLC7A11 mRNA gibi genlerin DEHB etiyolojisinde rol oynayabileceğini ve potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Çocuk, DEHB, mRNA, lncRNA, oksidatif stres

III. ABSTRACT

ÇAKILLI E., The Role of Long Non-Coding RNA NEAT1 and Oxidative Stress in Patients with Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), Gaziantep University Faculty of Medicine, Department of Child and Adolescent Psychiatry, Medical Specialization Thesis, Gaziantep, 2025.

Objective: Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) is a neurodevelopmental disorder characterized by inattention, hyperactivity, and impulsivity, beginning in childhood and potentially persisting into adulthood. The etiology of ADHD has not yet been fully elucidated. Recent studies have indicated that oxidative stress may play a significant role in the pathophysiology of ADHD. Oxidative stress may contribute to the development of ADHD by leading to neuroinflammation and affecting neurotransmitter systems. In this process, the genes SLC7A11 mRNA and NEAT1 lncRNA, which are known to play a role in maintaining oxidative balance, are also thought to be potentially involved. The aim of this study is to compare SLC7A11 mRNA and NEAT1 lncRNA levels between children and adolescents diagnosed with ADHD and healthy controls; to measure the levels of oxidative stress markers including Glutathione Peroxidase 4 (GPX4), Malondialdehyde (MDA), and reduced glutathione (GSH); and to evaluate the relationships among these parameters and executive functions.

Methods: A total of 40 children diagnosed with ADHD and 40 healthy controls who presented to the Child and Adolescent Psychiatry Outpatient Clinic of Gaziantep University were included in the study. The Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL) interview was administered to identify comorbid psychiatric disorders in the participants. Following the clinical evaluation, the short forms of the Conners Parent and Teacher Rating Scales, the Sociodemographic Data Form, and the Stroop TBAG form were utilized. Peripheral blood samples were collected from all participants during the same time interval for biochemical analyses.

Results: It was found that the expression levels of NEAT1 lncRNA ($p = 0.001$) and SLC7A11 mRNA ($p = 0.001$) were significantly lower in the ADHD group compared to the control group. In addition, a negative correlation was identified between Stroop Test Part 5 scores and the levels of NEAT1 lncRNA and SLC7A11 mRNA. However, no statistically significant differences were observed between the groups in terms of oxidative stress markers (GPX4, MDA, GSH) ($p > 0.05$).

Conclusion: Our findings suggest that genes such as NEAT1 lncRNA and SLC7A11 mRNA may play a role in the etiology of ADHD and could be considered potential biomarkers. Further research is needed in this area.

Keywords: children, ADHD, mRNA, lncRNA, oxidative stress,

VI. İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR	iii
II. ÖZET	iv
III. ABSTRACT	v
VI. İÇİNDEKİLER.....	vi
V. SİMGE VE KISALTMALAR.....	ix
VI. ŞEKİLLER	xi
VII. TABLOLAR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu	3
2.1.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Tarihçesi.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Etiyoloji.....	4
2.1.4. Klinik Özellikler ve Tanı Koyma	8
2.1.5. Tedavi.....	11
2.2. Yürütücü İşlevler	12
2.2.1. Genel Bilgiler	12
2.2.2. Yürütücü İşlevler ve DEHB	15
2.3. Oksidatif Stres	15
2.3.1. Genel Bilgiler	15
2.3.2. Oksidatif Stres ve DEHB	16
2.4. Ferroptozis	18
2.4.1. Genel Bilgiler	18
2.4.2. Glutasyon Peroksidaz 4 (GPX4)	19
2.4.3. Redükte Glutasyon (GSH)	19
2.4.4. Malondialdehit (MDA)	20
2.4.5. Sistem XC-/ Solute Carrier Family 7 Member 11 (SLC7A11) Mrna.....	21
2.5. LNCRNA	22
2.5.1. Genel Bilgiler	22
2.5.2. LncRNA ve DEHB	23

2.5.3. NEAT1 lncRNA	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1 Çalışmanın Akışı.....	25
3.2. Çalışmada Kullanılacak Form ve Ölçekler	26
3.2.1. Sosyodemografik Veri Formu	26
3.3. Gen Ekspresyon Seviyelerinin Ölçülmesi	28
3.3.1. Total RNA İzolasyonu	28
3.3.2. Ters Transkripsiyon Reaksiyonu ile mRNA'dan Komplementer DNA (cDNA) Sentezi	29
3.3.4. Revers Transkriptaz-Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR)	30
3.3.5. Real-Time PCR Sonuçlarının Analizi.....	32
3.3.6. Fosfolipid Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz Mitokondriyal Enzim (GPX4) Düzeylerinin Ölçümü.....	33
3.3.7. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeylerinin Ölçümü.....	34
3.3.8. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü	35
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri	38
4.2. Katılımcıların klinik özellikleri.....	43
4.3. Katılımcıların Stroop Testi TBAG Formu Özellikleri	45
4.4. Katılımcıların SLC7A11 Mrna, GPX4 Mrna, NEAT1 Lncrna, Oksidatif Stres Marker Değerleri	46
5. TARTIŞMA.....	54
5.1. Katılımcıların Sosyodemografik Bilgilerinin Değerlendirilmesi.....	54
5.2. Ölçeklerden ve Yapılan Testlerden Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi.....	56
5.3. Katılımcıların SLC7A11 mRNA, NEAT1 LncRNA, Oksidatif Stres Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
7. KAYNAKLAR.....	67
8.EKLER	
Ek-1. İntihal Raporu	

- Ek-2. Etik Kurul Onayı
- Ek-3. Özgeçmiş
- Ek-4. Tez Değerlendirme Formu
- Ek-5. Sosyodemografik Formu
- Ek-6. Conners Ana-Baba Değerlendirme Ölçeği
- Ek-7. Conners Öğretmen Değerlendirme Ölçeği
- Ek-8. Stroop Testi TBAG Formu
- Ek-9. Stroop Testi TBAG Formu (Kayıt Formu)
- Ek-10. Okul Çağı Çocukları İçin Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Versiyonu – Türkçe Uyarlaması (ÇDŞG-ŞY-TY)



V. SİMGE VE KISALTMALAR

$\Delta\Delta Ct$:Delta delta siklus eşiği
2-$\Delta\Delta Ct$:Değişim katsayısı
ACC	:Anterior Cingulate Cortex
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ACTB	:Actin Beta
BDNF	:Beyin Türevli Nörotrofik Faktör
CXCL10	:İnterferon-gamma ile indüklenen protein 10
cDNA	:Komplementer DNA
ÇDŞG-ŞY-T	:Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Versiyonu – Türkçe
DEHB	:Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DSM	:Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DRD4	:Dopamin Reseptörü D4
DRD5	:Dopamin Reseptörü D5
DAT1	:Dopamin Taşıyıcı 1
DMN	:Default Mode Network
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
EDTA	:Etilendiamintetraasetik Asit
ELISA	:Enzime Bağlı İmmünosorbent Testi
fMRI	:Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme
FDA	:Food and Drug Administration
GPX4	:Glutathione Peroxidase 4
GSH	:Glutatyon
GAPDH	:Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
HTR1	:5-Hidroksitriptamin Reseptörü 1
1H-MRS	:Proton Manyetik Rezonans Spektroskopisi
IL	:İnterlökin
LncRNA	:long Noncoding Ribonükleik Asit
MDA	:Malondialdehit
mRNA	:Messenger rna

MALAT1	:Metastaz-ilişkili Akciğer Adenokarsinoma
NEAT1	:Nuclear Enriched Abundant Transcript 1
NCBI	:National Center for Biotechnology Information
OS	:Oksidatif Stres
OSB	:Otizm Spektrum Bozukluğu
PFC	:Prefrontal Korteks
PUFA	:Polyunsaturated Fatty Acids
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RSL3	:Ras Seçici Ölümcül 3
ROT	:Reaktif Oksijen Türevi
RT-qPCR	:Revers Transkriptaz-Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SLC6A3	: Solute Carrier Family 6 Member 3
SLC7A11	: Solute Carrier Family 7 Member 11
SLC3A2	:Solute Carrier Family 3 Member 2
SNAP25	:Synaptosomal-Associated Protein 25
SLC6A4	:Solute Carrier Family 6 Member 4
TNF	:Tümör Nekroz Faktörü
TPN	:Total Parenteral Beslenme
TUG1	:Taurine Upregulated Gene 1

VI. ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Barkley'in yürütücü işlev modeli.....	14
Şekil 2.2. Ferroptotik Hücre lmnn Mekanizması.....	22
Şekil 3.1. GPX4 Standart Grafiği	34
Şekil 4.1. DEHB için SLC7A11 fold değerinin ROC EĞrisi	53
Şekil 4.2. DEHB için NEAT1 fold değerinin ROC EĞrisi.....	53



VII. TABLOLAR

Tablo 3.1. Gen Pirimer Dizileri	30
Tablo 3.2. Tasarımı Yapılan Primerlerin Özellikleri	31
Tablo 4.1. Grupların sosyodemografik özelliklerinin karşılaştırılması	38
Tablo 4.2. Grupların doğumla ilgili özelliklerinin karşılaştırılması	39
Tablo 4.3: Grupların gelişim basamağı ve okul başarısının karşılaştırılması	40
Tablo 4.4. Grupların ebeveyn ile ilgili özelliklerinin karşılaştırılması	42
Tablo 4.5. Grupların KSADS sonuçlarının karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.6. Grupların CADÖ-YK sonuçlarının karşılaştırılması	44
Tablo 4.7. Grupların CÖDÖ-YK sonuçlarının karşılaştırılması	44
Tablo 4.8. Grupların Stroop sonuçlarının karşılaştırılması	45
Tablo 4.9. Vaka ve kontrol gruplarının gen ekspresyon düzeyleri ile oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	46
Tablo 4.10. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin birbirleri ile korelasyonu.....	47
Tablo 4.11. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin sosyodemografik özellikler ile korelasyonu	48
Tablo 4.12. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin CADÖ-YK ile korelasyonu.....	49
Tablo 4.13. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin CÖDÖ-YK ile korelasyonu.....	50
Tablo 4.14. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin Stroop sonuçları ile korelasyonu	51
Tablo 4.15. Ölçülen parametrelerin DEHB'yi belirlemedeki spesifite ve sensitivite.....	52

1. GİRİŞ

Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), çocuklukta başlayan ve sıklıkla ergenlik ve erişkinliğe kadar süren; dikkatsizlik, hiperaktivite ve dürtüsellikle karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur (1). Dünya çapındaki yaygınlığı % 5,9–7,1, Türkiye'deki yaygınlığı ise % 19,5 olarak bildirilmektedir (2, 3). DEHB'nin erişkin dönemde de devam ettiğini gösteren kanıtlar, bu bozukluğun yaşam boyu süren etkilerine işaret etmektedir. Akademik başarısızlık, mesleki işlevsellikte azalma, düşük eğitim düzeyi, ekonomik zorluklar ve suça karışma gibi sonuçlar bu etkilere dahildir (4,5).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, DEHB'nin etiyolojisinde genetik yatkınlık, nörogelişimsel süreçler ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığını ortaya koymuştur (6). Bununla birlikte, oksidatif stres ve nöral plastisite gibi biyolojik mekanizmaların da bozuklukla ilişkili olduğu yönünde bulgular giderek artmaktadır (7). Beyin, yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle oksidatif hasara karşı oldukça hassas bir yapıya sahiptir. Artan oksidatif stresin, nöronal proliferasyonu ve nörotransmitter sentezini bozarak yürütücü işlevlerde gerilemeye yol açabileceği düşünülmektedir (8,9). Bu bağlamda, oksidatif dengeyi düzenleyen sistemlerden biri olan SLC7A11 geni, hem hücre içi glutatyon sentezinde hem de hücre dışı glutamat taşınımında kritik bir rol üstlenmektedir. SLC7A11 ekspresyonundaki azalma, oksidatif stres düzeyinde artışa ve nöronal işlev bozukluklarına neden olabilmektedir (10). Son dönemde yapılan bazı çalışmalar, bu sistem üzerinde düzenleyici rol oynadığı düşünülen kodlamayan uzun RNA (lncRNA) gruplarından NEAT1'in, nörogelişimsel bozukluklarla ilişkili olabileceğini göstermektedir (11,14). Şizofreni, otizm spektrum bozukluğu ve depresyon gibi çeşitli psikiyatrik tanılarla ilişkilendirilen NEAT1'in, DEHB etiyolojisindeki yeri henüz yeterince araştırılmamıştır.

Öte yandan, DEHB'de bilişsel işlevlerin, özellikle de yürütücü işlevlerin bozulduğu bilinmektedir (15). Bu işlevler arasında yer alan inhibisyon ve çalışma belleği, günlük yaşamın sürdürülebilirliği açısından merkezi öneme sahiptir. Stroop Testi gibi nöropsikolojik değerlendirmeler, bu işlevleri objektif biçimde ölçme

olanağı sunmakta ve hastalığın işlevsel yansımalarının anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (16).

Bu bağlamda, çalışmamızda DEHB tanısı almış çocuk ve ergen bireylerin, yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş sağlıklı kontrollerle karşılaştırılarak Stroop Testi performanslarının değerlendirilmesi; SLC7A11 mRNA ve NEAT1 lncRNA düzeylerinin ölçülmesi; oksidatif stres belirteçleri olan MDA, GPX4 ve GSH düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, bu biyolojik göstergeler ile yürütücü işlev performansı arasındaki ilişkinin ortaya konması hedeflenmiştir. DEHB grubunda Stroop testi performansının daha düşük, SLC7A11 ve NEAT1 düzeylerinin daha düşük, MDA düzeyinin daha yüksek ve GPX4 ile GSH düzeylerinin daha düşük olacağı; ayrıca bu biyolojik parametrelerin yürütücü işlev performansı ile negatif yönde ilişkili olacağı öngörülmektedir. Elde edilecek bulguların, DEHB'nin biyolojik alt yapısına dair yeni ve bütüncül bir bakış açısı sunması beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu

Çocukluk çağının en sık görülen nörogelişimsel bozukluklarından biri olan dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB), gelişim düzeyiyle uyumsuz dikkatsizlik, aşırı hareketlilik ve dürtüsellik ile karakterize kişinin okul, iş, aile ve toplumsal hayatını doğrudan olumsuz etkileyen bir bozukluktur (1,17).

2.1.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Tarihçesi

Tarihsel olarak bakıldığında, DEHB benzeri tanımlamalar 200 yıldan uzun bir süredir literatürde yer almaktadır. Yıllar içinde bu bozukluğun altında yatan nedenlere yönelik araştırmaların artmasıyla birlikte bu bozukluğa verilen isimler de değişmiştir. Bunlar arasında “Minimal Beyin Hasarı” (Minimal Brain Damage), “Minimal Beyin Sendromu”, “Minimal Beyin Disfonksiyonu”, “Hiperkinetik Dürtü Bozukluğu”, “Çocukluğun Hiperkinetik Reaksiyonu” ve “Hiperaktif Çocuk Sendromu” sayılabilir. İlk olarak Melchior Adam Weikard 1775 yılında "Der Philosophische Artz" adlı kitabında DEHB'nin ilk ders kitabı tanımını yapmıştır (1). Bu tanımlamadan 23 yıl sonra Alexander Crichton Alman doktor Weikard'ın tanımlamasına benzeri bir tanımlama yapmıştır (18). 1800 yıllar da ise Hoffman, çocuklara yönelik yazdığı “Struwelpeter” adlı kitabında yemek masasında hareket etmeden duramadığı için sandalyeden düşen bir çocuğu anlattığı “Yerinde Duramayan Philip” (Die Geschichte vom Zappel-Philipp) adlı öyküde DEHB semptomlarından bahsetmiştir (19).

1900 yıllara gelindiğinde DEHB'nin ilk modern tanımı İngiliz çocuk doktoru George Still tarafından Lancet'te yayınlanan bir olgu serisinin de yapılmıştır. Bu olgulara “Ahlaki Kontrolde Marazi Yetersizlik” (Morbid Defect of Moral Control) adını vermiştir (20). Ve bu yetersizliğin kalıtımla geçen ya da doğum komplikasyonlarıyla ilişkili ortaya çıkan biyolojik bir sorun olduğunu düşünmüştür. Alman asıllı bilim insanı Franz Kramer ve Hans Pollow, DEHB'nin bugün ki tanımına benzer nitelikte bir tanımlama yapmıştır ve “hiperkinetik bozukluk” terimini ortaya atılmıştır (21). İlk defa ICD-9 ve DSM-II ile sınıflama sisteminde çocukluk çağı hiperkinetik bozukluğu başlığıyla giriş yapmıştır (22). DSM-III ile

birlikte dikkat eksikliği kısmına vurgu yapılmış ve Dikkat Eksikliği Ve Hiperaktivite Bozukluğu adını almıştır (23).

2.1.2. Epidemiyoloji

DEHB; yüksek görülme sıklığı, diğer psikiyatrik tanılara yüksek oranlarda eşlik etmesi ve bireyin hem kendisi hem de çevresine olan olumsuz etkileri göz önüne alındığında çeşitli kültürlerde farklı yöntemlerle araştırma konusu olmuştur. Bu duruma paralel olarak epidemiyolojik çalışmalar da günümüze kadar artarak devam etmiştir.

Yapılan prevalans çalışmalarının derlendiği araştırmalara bakıldığında farklı sonuçların elde edildiği görülmüştür. Öyle ki, yapılan çalışmalarda % 0,2 ila % 27 arasında değişen yaygınlık oranları bildirilmiştir (24,25). Bu farklılığın sebepleri arasında kullanılan tanı kriterleri, çalışma yöntemleri ve nüfus özelliklerine göre farklılıklar sayılabilir. Daha önce yapılmış çalışmaları destekler nitelikte sonuçlar elde edilen 2023 yılında yayımlanan bir derlemede, DEHB yaygınlığının 3 ila 12 yaş arasındaki çocuklarda % 7,6 olduğu, 12 ila 18 yaş arasındaki ergenlerde ise % 5,6 olduğu gösterilmiştir (3). Ayrıca önceki tanı klavuzlarına göre DSM-5 tanı kriterlerinin uygulanması yaygınlık oranını arttırdığı gösterilmiştir. Ercan ve ark. tarafından 2022 yılında yapılan bir çalışmada ülkemizde DEHB yaygınlığının % 19,5 olarak belirlenmiştir (2). 2012 yılında yayınlanan bir meta analiz çalışmasında DEHB tanısında erkek cinsiyetin baskın olduğunu ve kliniğe başvuran olgularda DEHB bileşik tipin yoğun olduğu gösterilmişken toplum kökenli çalışmalarda DEHB-Dikkat Eksikliği baskın tipin daha yoğun olduğu saptanmıştır (26).

2.1.3. Etiyoloji

DEHB'nin hem çocukluk hem de yetişkinlik dönemini olumsuz yönde etkileyen en yaygın nörogelişimsel bozukluklardan biri olması nedeniyle sıklıkla araştırma konusu olmuştur. Ancak kapsamlı araştırmalara rağmen DEHB'nin etiyojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte yapılan çalışmalar genetik, fiziksel ve çevresel faktörlerin bu bozukluğun gelişiminde rol oynadığı konusunda bilimsel bir görüş birliği olduğunu göstermiştir (6).

2.1.3.1. Genetik Etkenler

Genetik aktarımın DEHB etiolojisindeki önemi, aile, ikiz ve evlat edinebilme çalışmalarıyla güçlü bir şekilde desteklenmiştir (27). Yapılan incelemelerde, DEHB'nin genetik aktarımın % 70-90 arasında değiştiği (28), monozigotik ikizlerde ise bu oranın yaklaşık % 80'e ulaştığı bildirilmiştir. DEHB tanılı bireylerin ailelerinde DEHB görülme olasılığının 2-8 kat kadar arttığı belirtilmiştir (27,28). Ailelerinde DEHB öyküsü olmayan çocuklarda DEHB görülme sıklığı % 5-10 iken ailede DEHB öyküsü olan çocuklarda bu oran % 15-60 arasındadır (29,30). Tüm bu çalışmalar DEHB etiolojisinde genetik bileşenlerin önemini vurgulanmaktadır. Ancak DEHB'ye neden olan genlere yönelik araştırmalar bakıldığında ise görece yavaş ilerlediği görülmüştür.

DEHB tedavisinde kanıt düzeyi yüksek olan tedavilerin dopaminerjik veya noradrenerjik sistemler üzerinden etkinlik göstermesi, çalışmalarda sıklıkla bu yollardaki genlerin incelenmesine neden olmuştur (30). Dopaminerjik sistem genleri içinde DRD4 ve DAT1(SLC6A3) genleri DEHB ile en fazla ilişkilendirilen genlerden arasındadır (31). Ancak çalışmalar başka dopaminerjik sistem genlerinin de DEHB ile ilişkisi olduğunu gösteren kanıtlar sunmuştur (31). Çalışmaların hız kazanmasıyla birlikte dopaminerjik sistem genlerinin dışında noradrenalin, serotonin, glutamin, kolin sistem genleri ve nöronal plastisite genlerinin de etiolojide rol aldığı bildirilmiştir (31). DEHB etiolojisine yönelik potansiyel genler (DRD4, DRD5, DAT1, HTR1B, SLC6A4, SNAP25) olarak tanımlanmıştır (32).

2023 yılında yapılan bir meta analiz çalışmasında DEHB tanılı 38.691 kişi ile 186.843 kontrolden oluşan bir veri analiz edilmiş ve DEHB'nin son derece poligenik bir yapıya sahip olduğu gösterilmiştir (33). Çalışmalar incelendiğinde hem DEHB'nin binlerce genetik güçten etkilendiği hem de bu genetik risk faktörlerinin küçük etki boyutlarından da bahsedilmiştir (34). Bu nedenle, genetik riskler aile öyküsünü öngörebilir ancak tahmin ve teşhis amaçlı kullanılamamaktadır. Sonuç olarak DEHB kalıtsal yönü güçlü bir bozukluk olmasının yanında bu kalıtım heterojendir ve etiolojiiyi tek başına açıklayamaz.

2.1.3.2. Nöranatomik Etkenler

DEHB patofizyolojisine yönelik çalışmaların artmasıyla birlikte beyin yapısındaki değişiklikler de sıkça merak konusu olmuştur. Prefrontal korteks (PFC),

bazal ganglialar, serebellum, parietal korteks, korpus striatum ve anterior singulat korteks (ACC) gibi beyin yapıları semptomatoloji ile ilişkilendirilmiştir (35).

DEHB'li hastalar dikkat, planlama, bilgi işleme ve davranış etkinlikleriyle ilgili farklılıklar açısından değerlendirildiğinde beyindeki beyaz ve gri madde hacminin ve işlevinin azaldığı gözlemlenmiş ve bunun mevcut durumlara sebep olabileceği düşünülmüştür (36).

Prefrontal korteks lezyonlarının semptomatolojik olarak DEHB ile benzerlik göstermesi PFC'nin DEHB etiolojisi için sık araştırma konusu olmasına neden olmuştur. Yapılan çalışmalar PFC lezyonu olan bireylerde davranışsal inhibisyon, ödülü tersine çevirme, çalışma belleği bozuklukları saptamış (37, 38). Aynı zamanda bu kişilerde dikkat kaybı, dikkatte kolay dağılma ve dürtüsellik yer aldığı da görülmüştür (39,40). Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada DEHB tanılı bireylerde PFC'nin görece daha yavaş geliştiği bildirilmiştir (41). Başka bir çalışmada ise zayıf dürtü kontrolüne sahip ergenler incelenmiş ve PFC'nin daha yavaş olgunlaştığı gösterilmiştir (42).

Korpus striatum kaudat çekirdek, putamen ve globus pallidus yapılarından oluşan bazal gangliaların en büyük birleşenidir. Yönetici işlevler üzerinde etkinlik gösterir. Aynı zamanda PFC ile birlikte dikkat, davranışın düzenlenmesinde rol oynar (43,44).

Serebellum geleneksel olarak motor kontrol ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, son zamanlarda bilişsel ve duygusal süreçlerde de önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. DEHB tanılı bireylerle yapılan çalışmalarda yapısal değişikliklerin olduğu saptanmıştır. Bu çalışmalar da vermiş VIII, IX ve X lobüllerinde hacim azalması olduğu gösterilmiştir (45,46). 2002 yapılan bir çalışmada ise serebellar hacimdeki bu azalmanın dikkat eksikliğiyle anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (46).

Parietal korteks, verbalizasyon ve dikkat becerileri ile ilişkisi gösterilmiş ve DEHB ile ilişkili bir bölge olarak düşünülmüştür (47,48). Yapılan çalışmalar çelişkili bilgiler sunmuştur. Sowell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada parietal korteks boyutunun arttığı bulunmuşken başka bir çalışmada aynı bölgenin korteks kalınlığında bir azalma olduğu gösterilmiştir (49,50).

Anterior singulat korteks, seçici dikkat ile ilişkilendirilmiş beyin bölgelerinden biridir (51,52). Bu nedenle, ACC'deki işlev bozukluğunun DEHB etyolojisinde yeri olabileceği düşünülmüştür. DEHB'li bireyler ile sağlıklı kontrollerin dahil edildiği bir çalışmada katılımcıların seçici dikkatini ölçmek için stroop testi uygulanmış ve uygulama sırasında fonksiyonel manyetik rezonans görüntülemeleri (fMRI) alınmıştır. Çalışma sonunda DEHB'li bireylerin ACC etkinliğinin daha az olduğu saptanmıştır (52).

Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme (fMRI) çalışmaları ile birlikte DEHB'de ki yürütücü işlevler, dikkat ve duyuşal-motor faaliyetler ile ilgili beyin bölgeleri ilişkilendirilmeye başlanmıştır. 2012 yılında yayınlanan bir meta analizde, normalde herhangi bir görev gerçekleştirilmediğinde daha aktif olan Default Mod Network (DMN) ile görevler gerçekleştirilirken etkinleştirilen Task-Positive Network (TPN) arasındaki ilişkinin bozulduğunu öne sürmektedir. DEHB'li bireylerde, görevleri yerine getirirken DMN hiperaktivitesi ve TPN hipoaktivitesinin, DEHB semptomlarının bir açıklaması olabileceği öne sürülmüştür (53,54).

2.1.3.3. Çevresel ve Psikososyal Etkenler

DEHB etiyolojisinde çevresel ve psikososyal etkenlerin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (55). Yapılan çalışmalar etiyolojide daha çok biyolojik etkenlerin temel etken olduğunu çevresel ve psikososyal etkenlerin ise daha çok alta yatan yatkınlığı arttırdığından söz edilmiştir (55,56).

Yapılan çalışmalarda prenatal ve perinatal dönem özellikleri, artmış ya da azalmış vitaminler, besinlerde ki katkı maddeleri, annenin gebelik süreci gibi çevresel etmenlerin etiyolojideki rolü araştırılmıştır. Ancak bu etmenlerin tüm olguları açıklamada yetersiz olduğu gösterilmiştir (57). Metabolik olarak aktif beyin bölgelerinin hipoksiye duyarlılığı daha fazla olmakla birlikte fetal-maternal nedenlerin bu yolla beyin sürecinin etkilenebileceği düşünülmüştür. Pek çok çalışma düşük doğum ağırlığı ve prematüritenin özellikle hiperaktivite alt başlığı ile ilişkili olabileceğini bulunmuştur (55,56).

DEHB'li çocuklarla yapılan psikososyal etkenlerin değerlendirildiği çalışmalarda sıklıkla parçalanmış aile, ana-baba arasındaki yaşanan problemler, ailede psikopatoloji varlığı, ilk ve ya tek çocuk olma oranının sağlıklı çocuklardan

daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kurumda kalan çocuklarda DEHB görülme olasılığının fazla olduğu gösterilmiştir (55).

Rutter ve arkadaşları, çocukluk çağı mental bozuklukları için 6 farklı yordayıcıdan bahsetmişlerdir. Bunlar: düşük sosyal sınıf, evlilik problemleri, geniş aile yapısı, babanın suça karışmış olması, evlat edinilmiş olmak ve son olarak annenin mental bozukluğa sahip olmasıdır (58). Biederman ve ark. Rutter'in bu risk etmenleri ile DEHB etiyojisi arasında korelasyon olduğunu göstermiştir (55, 56).

2.1.4. Klinik Özellikler ve Tanı Koyma

Nörogelişimsel bozukluklar arasında en sık gördüğümüz patolojilerde biri olan DEHB, dikkatsizlik, hareketlilik ve dürtüsellik ile karakterize bir bozukluktur (1,17).

Dikkat, zihinsel işleyişin bir durum üzerine yoğunlaşmasıdır. Öğrenme sürecindeki en kritik basamak kısa süreli hafızanın tam kapasiteyle kullanımıdır. Kısa süreli hafızaya bilgi aktarımını sağlayan ise dikkattir. DEHB'li bireylerde dikkati toplamakta güçlük, odaklanma problemleri buna bağlı ders çalışmada zorlanma ve akademik başarıda düşüklükler, unutkanlıklar, günü planlama ve işleri organize etmede güçlük gibi günlük işlevselliği etkileyen boyutlarda dikkat sorunları gösterilmiştir (59).

Hiperaktivite, aşırı hareketlilik, oturması beklenen durumlarda oturamama, çok konuşma, sınıf/ev ya da daha farklı ortamında hareketliliğin fazla olmasından dolayı sık sık uyarılma, düşme/yaralanmaların sık olması, söz kesme davranışlarının olması gibi belirtiler DEHB'li kişilerde sıklıkla görülmektedir (59).

Dürtüsellik, düşünmeden eyleme geçme olarak tanımlanabilir. Bu bireylerde sırasını beklemede güçlük, sonunu düşünmeden hareket etme ve buna bağlı riskli davranışlarda bulunma, aceleci davranma ve isteklerini erteleyememe, sık sık başkalarının sözünü kesme gibi belirtiler günlük yaşamlarını olumsuz yönde etkilemektedir (59).

DEHB de tanı aile ve çocuk ile yapılan psikiyatrik değerlendirme sonucunda konulmaktadır. Değerlendirmede çocuğun gelişimsel ve tıbbi öyküsünün alınması, eşlik eden psikopatolojilerin belirlenmesi, okul ve akademik hayatıyla ilgili öğretmenlerden bilgi alınması ve gereken inceleme ve testlerin yapılmasını kapsamaktadır (60).

Tarihsel süreçte DEHB'nin tanı kriterleri değişmiş olmakla birlikte tanı için, iki veya daha fazla ortam da görülen DSM-5 tanı kriterlerinin belirlediği karakteristik semptomların varlığı ve bu semptomların en az 6 ay boyunca devam etmesi ile konulur.

DSM-5'e göre DEHB tanı ölçütleri aşağıdaki gibidir (17):

A. Aşağıdakilerden (1) ve/veya (2) ile kendini belli eden, işlevselliği ya da gelişimi bozan, devam eden bir dikkatsizlik ve/veya aşırı hareketlilik/dürtüsellik örüntüsü:

1. Dikkatsizlik: Aşağıdaki belirti kümesinden altısı (ya da daha fazlası) en az altı ay boyunca beklenen gelişim düzeyiyle uygunsuz derecede varlığını sürdürerek sosyal ve okul/işle ilgili aktivitelerin olumsuz etkilemiştir.

Not: Semptomlar, sadece, karşıt olmanın, karşı gelmenin, düşmanlı tutumun ya da yönergeleri anlayamamanın bir sonucu değildir. Yaşı ileri gençlerde ve erişkinlerde (17 yaşında ve daha büyük olanlarda) en az beş semptom gerekir.

a) Çoğu zaman ayrıntılara özen göstermez ya da okulladaki çalışmalarda, işte ya da diğer etkinlikler esnasında dikkatsizce hatalar yapar.

b) Çoğu zaman, üstlendiği görevler esnasında ve ya oyun sırasında dikkatini devam ettirmekte zorlanır.

c) Çoğu zaman, kendisine hitap edilerek konuşulduğunda dinlemiyormuş gibi görünür.

d) Çoğu zaman, verilen görevleri takip edemez ve okulda verilen ödevleri, günlük işleri, ya da iş yerinde verilen sorumluluklarını tamamlayamaz.

e) Çoğu zaman, işlerini organize etmekte zorlanır.

f) Çoğu zaman, sürekli mental çaba gerektiren işleri yapmak istemez, bu gibi işleri sevmez veya bu tarz işlere girmek istemez.

g) Çoğu zaman işi veya etkinlikleri için gerekli olan nesnelere kaybeder.

h) Çoğu zaman dış uyaranlarla dikkati kolayca dağılır.

i) Günlük etkinlikler süresince çoğu zaman unuttukandır.

2. Aşağıdakilerden (1) ve/veya (2) ile kendini belli eden, işlevselliği ya da gelişimi bozan, devam eden bir dikkatsizlik ve/veya aşırı hareketlilik/dürtüsellik örüntüsü:

Not: Semptomlar, yalnızca, karşıt olmanın, karşı gelmenin, düşmancıl tutumun ya da yönergeleri anlayamamanın bir sonucu değildir. Yaşı ileri gençlerde ve erişkinlerde (17 yaşında ve daha büyük olanlarda) en az beş semptom gerekir.

a) Çoğu zaman el ve ayakları hareket halindedir veya oturduğu yerde kıvrılır.

b) Çoğu zaman oturması zorunlu hallerde oturduğu yerden kalkar.

c) Çoğu zaman uygunsuz yerlerde ortalıkta koşturur veya bir yerlere tırmanır.

d) Çoğu zaman sakin bir biçimde boş zaman etkinliklerine katılamaz ya da sessiz bir şekilde oyun oynayamaz.

e) Çoğu zaman adeta bir motor takılmış gibi sürekli hareket halindedir.

f) Çoğu zaman fazla konuşurlar.

g) Çoğu zaman sorulan sorunun tamamlanmadan cevabını yapıştırır.

h) Çoğu zaman sırasını bekleyemez.

i) Çoğu zaman başkalarının sözünü keser veya araya girer.

B. On iki yaşına gelmeden işlevselliği etkilemiş birkaç dikkatsizlik ya da aşırı hareketlilik-dürtüsellik belirtisi vardır.

C. İşlevselliği etkileyen bazı aşırı hareketlilik-dürtüsellik ve birkaç dikkatsizlik belirtisi iki ya da daha çok ortamda vardır.

D. Bu belirtilerin, sosyal-toplumsal alanda, okulla/işle ilgili işlevsellikte bozulmaya neden olduğu veya işlevselliğin vasfını düşürdüğüne yönelik açık kanıtlar bulunmaktadır.

E. Bu belirtiler, şizofreni veya psikozla giden başka bir bozukluğun seyri sırasında ortaya çıkmamaktadır ve başka bir ruhsal bozuklukla daha iyi açıklanamaz.

Şunları belirtiniz:

Bileşik görünüm: Hem dikkatsizlik hem de aşırı hareketlilik dürtüsellik tanı kriterlerini son altı aylık süre içinde karşılanmışsa

Dikkatsizliğin baskın olduğu görünüm: Dikkatsizlik tanı kriteri karşılanmış, ancak aşırı hareketlilik dürtüsellik tanı kriteri son altı aylık süre içinde karşılanmadıysa

Aşırı hareketlilik-dürtüsellüğün baskın olduğu görünüm: Hareketlilik dürtüsellik tanı kriteri karşılanmış; ancak dikkatsizlik tanı kriteri son altı aylık süre içinde karşılanmamışsa

Varsa belirtiniz:

Kısmi Remisyon: Daha önceden tüm tanı kriterleri karşılanmış olmasına rağmen, son altı ay içinde bütün tanı kriterlerinden daha azı karşılanmıştır ve belirtiler şimdi için de toplumsal, okulla ya da işle ilgili alanlarda işlevsellikte bozulmaya sebep olmaktadır.

O sıradaki ağırlığını belirtiniz:

Ağır olmayan: Tanı kriterlerinden birazını karşılamakla birlikte, bu belirtiler toplumsal alanda veya akademik ve işle ilgili alanlarda işlevselliği çok az düzeyde bozmaktadır.

Orta derecede: Semptomlar veya işlevsellikte bozulma ‘ağır ile hafif’ arasında bir düzeydedir.

Ağır: Tanı kriterlerinden çoğunu karşılamakta ve bu belirtiler toplumsal alanda, akademik ya da işle ilgili alanlarda işlevsellikte bozulmaya sebep olmaktadır.

2.1.5. Tedavi

DEHB tedavisinde multidisipliner bir yaklaşım benimsenmiştir. farmakolojik ve farmakolojik olmayan yöntemler ayrı ayrı kullanılabilmesi gibi birlikte de kullanılabilir. Yapılan çalışmalar DEHB tedavisinin prognozu etkilediği ve erişkin dönemde daha az soruna neden olduğunu saptayarak erken müdahalenin önemini vurgulamıştır. Bu nedenle tüm çocuklar için kullanılan yöntemden bağımsız tedavi önerilmektedir.

2.1.5.1. İlaç Tedavileri

DEHB tedavisinde en yaygın kullanılan FDA onaylı ilaçlar arasında metilfenidat, amfetaminler (karışık amfetamin tuzları, metamfetamin, dekstroamfetamin) gibi uyarıcı ilaçlar ile atomoksetin ve uzatılmış salımlı α -2 agonistler (guanfasin ve klonidin) gibi uyarıcı olmayan ilaçlar bulunur (61, 62).

Psikostimülanlar, FDA tarafından 6 yaş ve üzeri için DEHB tedavisinde onaylanmıştır (63). striatum ve PFC’de dopamin ve norepinefrin taşıyıcılarını inhibe ederek sinaptik aralıkta ki dopamin ve norepinefrin miktarını arttırarak etki gösterdiği saptanmıştır (64). Yapılan çalışmalarda DEHB tedavisinde hem ilk sıra seçilecek farmakolojik ajan hem de en sık tercih edilen ilaç olduğu gösterilmiştir (65). Psikostimülanların en sık görülen yan etkileri; iştahsızlık, kilo kaybı, karın ağrısı, baş ağrısı ve uykusuzluktur (66).

Atomoksetin, norepinefrin taşıyıcısı inhibe ederek hemen hemen tüm beyin bölgelerinde norepinefrin ve özellikle PFC’de dopamin salınımını artırır (67). ABD’de 6 yaş çocuklar için DEHB de ruhsatlandırılmış olup çekirdek semptomların azaltılmasında etkili bulunmuştur. Ancak metilfenidat tedavisiyle karşılaştırıldığı çalışmalarda etki büyüklüğünün daha az olduğu saptanmıştır (68).

Klonidin ve Guanfasin merkezi sinir sistemindeki alfa-2 agonistik etki ile PFC’de noradrenalin miktarını artırır ve bu sayede DEHB semptomları üzerinde etkinliği gösterilmiştir (69). Yapılan çalışmalarda guanfazinin plaseboya üstünlüğü gösterilmiştir. hipotansiyon, bradikardi, yorgunluk, sedasyon, somnolans gibi yan etkileri bildirilmiştir (70). Etki büyüklüğünün değerlendirildiği bir çalışmada psikostimülanlara göre daha az olduğu ancak atomoksetin ile benzer büyüklüğe sahip olduğu gösterilmiştir (71).

Bu tedaviler dışında Trisiklik antidepresanlar (59), modafinil (72), bupropion (73) gibi farmakolojik ajanlarında DEHB tedavisinde yeri olduğu gösterilmiştir.

2.1.5.2. İlaç Dışı Tedaviler

Ebeveyn eğitimi DEHB’nin okul öncesi dönem tedavisinde en uygun yaklaşımdır (74). Bunun dışında davranışçı terapi, bilişsel- davranışçı terapi ve yaşam tarzı değişiklikleri önerilen tedaviler içindedir (75).

2.2. Yürütücü İşlevler

2.2.1. Genel Bilgiler

Bilişsel ve psikolojik literatürün önemli kavramlarından biri olan yürütücü işlevlerin için tek bir tanım bulunmamaktadır. Üst düzey bilişsel işlevler olarak tanımlanmakta olup alan yazımlarında beynin CEO’su ya da orkestra şefi olarak da tanımlanmıştır (76). Öyle ki sürekli değişen çevrede davranışları ve duyguları düzenlemek, yönlendirmek için beynin merkezi bir koordinasyon sistemine ihtiyaç vardır. Yürütücü işlevler için zaman zaman farklı tanımlamalar ve sınıflandırmalar yapılmıştır. Lezak’a göre bu tanım ‘‘bağımsız, amaca yönelik ve self kontrole ilişkin davranışları başarı ile yürütmeyi sağlayan bilişsel kapasite’’ iken (15) Diamond yürütücü işlevleri 3 temel sınıfa ayırmıştır. Bunlar inhibisyon, çalışma belleği ve bilişsel esneklik olarak sayılabilir. Bu sınıflandırma basamağının alt başlıkları ise

planlama, problem çözüme ve muhakeme becerileridir (77). Bu tanımlar aynı zamanda akışkan zeka olarak da adlandırılmıştır.

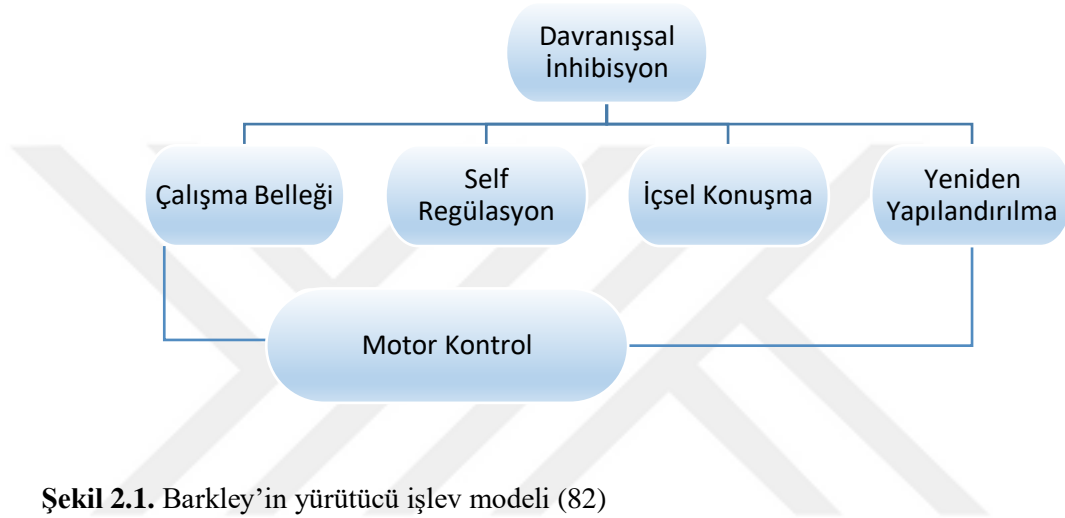
Bahsedilen yürütücü işlevlerden ilki olan inhibisyon bireyin dürtülerini ketleyerek dikkatini, duygu-düşünce ve davranışlarını kontrol ederek duruma uygun davranma becerisi olarak tanımlanabilir (77).

İkinci olarak bahsedilen çalışma belleği ise bireyin belli bir görev üzerinde çalışırken gerekli bilgiyi zihninde geçici olarak tutmasını ve bu bilgi üzerinde işlem yapmasını sağlayan bilişsel bir sistemdir (77). Baddeley 2013 yılında çalışma belleğini, bireyin o anda algısında olmayan ancak işlem gerektiren bilgiler üzerinde çalışma kapasitesi olarak tanımlamaktadır. Bu sistem hem dış çevreden gelen bilgilerin hem de uzun süreli bellekten çağrılan bilgilerin entegrasyonunu sağlayarak bilişsel süreçlerin etkin yürütülmesine katkıda bulunur. Çalışma belleği kapasitesi sınırlıdır. Bireyin dikkat, problem çözüme, karar verme gibi üst düzey bilişsel işlevlerinde kritik bir rol oynar (78).

Üçüncü ve son temel yürütücü işlev olan bilişsel esneklik, değişen çevresel koşullara uyum sağlama, farklı düşünce süreçleri arasında geçiş yapabilme, zihin okuma becerileri olarak tanımlanmıştır. Bakış açımızı değiştirerek adapte olabilmemiz için merkezi yönetici inhibisyon mekanizması bir göreve odaklanmışken yeni bir bilgi geldiğinde bir önceki bilişsel yapıyı baskılayarak yeni bilgiyi ön plana çıkarır ve işlem sürecini günceller. Yani en rafine tanımıyla bilişsel esneklik çalışma belleği ve inhibisyon sistemleri üzerine inşa edilmiş bir merkezi yürütücü sistem basamağıdır (79).

Sağlıklı yetişkinler ve hayvan modelleriyle yapılan çalışmaların artmasıyla birlikte yürütücü işlevler için kritik öneme sahip beyin bölgeleri de adlandırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalar da prefrontal ve pariyatal yapılardan ve bunların birbiriyle yaptığı bağlantılardan kaynaklandığına işaret etmektedir (80). Literatüre bakıldığında DEHB tanısı mevcut olan çocuklarda PFC bölgesinde sağlıklı kontrollere göre bir takım farklılaşmaların olduğu gösterilmiştir (81). Yürütücü işlevlerle ilişkilendirilmiş sözel olmayan akıcılık, dikkat, problem çözüme becerisi ve görsel-mekansal kopyalama becerileri çalışmalarda aynı zaman da PFC ile de ilişkilendirilmiştir (81). Birbiriyle örtüşen bu beceriler zamanla DEHB'yi açıklamaya yönelik nöropsikolojik kuramlar öne sürmüştür.

DEHB ile ilgili yürütücü işlevler modeli DEHB literatüründe en sık kullanılan kuramlardan biridir (şekil 2.1). Bu kuramın kurucusu olan Barkley göre DEHB'deki temel bozukluk ‘teпки ketleme’dir. Bu kurama göre tepki ketleme ya da bir diğer ismiyle davranışsal inhibisyon yürütücü işlev modelinin çatısını oluşturur burada meydana gelen bir aksaklık davranışsal, duygusal ve bilişsel kendini düzenlemeyle ilgili diğer alt yürütücü işlevlerde de bozulmaya sebep olmaktadır (82).



Şekil 2.1. Barkley'in yürütücü işlev modeli (82)

Tepki ketleme (Davranışsal inhibisyon) : Kişinin otomatik veya içgüdüsel tepkilerini baskılayarak daha kontrollü bir yanıt verme becerisi

Çalışma belleği: Edinilen bilgiyi, niteliğine göre özelleşmiş depolarda saklayan ve eğer görev esnasında kullanmak gerekiyorsa üst düzey işlemleyen ve sonunda amaca uygun yanıtın seçilmesinden sorumlu en temel bilişsel sistem.

Self regülasyon: Duyguların kontrolü ve uygun sosyal davranışı oluşturabilme becerisi

İçsel konuşma: Öğrenme davranışının düzenlenmesi ve kurallara uyma becerisine olanak sağlar

Yeniden yapılandırma: Sözel/sözel olmayan yeni ve yaratıcı davranış paternlerinin geliştirilmesi

Motor kontrol: Görevle ilgili olmayan tepkilerin engellenmesi (83)

2.2.2. Yürütücü İşlevler ve DEHB

Literatüre bakıldığında, DEHB olgularında yürütücü işlevleri değerlendiren birçok çalışmaya rastlanmaktadır. Barkley DEHB en fazla tepki ketleme sorunu ile ilişkilendirmişken Thomas Brown yürütücü işlevleri altı gruba ayırmış ve tüm alanlarda DEHB'li bireylerin zorlandığını ifade etmiştir (76).

DEHB'li bireylerle her ne kadar dikkat eksikliği ve hiperaktivite ile ilişkilendirilmiş olsalar da yaşamsal aktiviteler içinde belki en fazla yakındıkları şey bir eyleme başlarken yaşadıkları güçlüklerdir. Genel olarak DEHB'li bireyler o işi yapmaları gerektiğinin bilincinde olup son ana kadar erteleme davranışı gösterirler. Ayrıca neyi ne zaman yapmaları gerektiği konusunda da zorlanırlar ve görevleri öncelik sırasına göre sıralayamazlar. Bu da Brown'nun yürütücü işlev modelinde bahsettiği planlama, önceliklerin belirlenmesi ve harekete geçme alt işlevindeki süregelen sorunlarla ilişkilendirilmiştir (84).

DEHB ve yürütücü işlevlerin değerlendirildiği çalışmaların birçoğunun okul dönemi içinde yapıldığı gözlenmiştir. 1996 yılında yapılan bir meta analiz çalışmasında 18 çalışma değerlendirilmiş ve bunların 15 tanesinde DEHB'li olguların sağlıklı kontrollere göre yürütücü işlev becerilerinin daha kötü performans gösterdiği görülmüştür (85). Başka bir meta analiz çalışmasında 83 çalışma incelenmiş ve DEHB tanılı çocukların çalışma belleği, tepki ketleme, sürdürülen dikkat alanlarında zorlandıkları saptanmıştır (86).

Okul dönemi çocuklarıyla yapılan uzunlamasına bir çalışmada 75 DEHB'li olgu ve 47 sağlıklı kontrolün iki yıllık takibi yapılmış ve yürütücü işlevlerdeki anlamlı bozulmanın iki yılın sonunda da devam ettiği gösterilmiştir (87).

Sonuç olarak; yapılan çalışmaların çoğu DEHB tanılı çocuklarda yürütücü işlevlerde bozukluk olduğu işaret etmektedir. Aynı zamanda sınırlı sayıda izlem çalışmaları olsa da bu bozukluğun ergenlik ve erişkinlik döneminde de devam ettiğini göstermektedir (88). Bu açıdan hem tanı hem de tedavi olasılıkları için yürütücü işlevlerde bozukluğun göz ardı edilemeyeceği kanısına varılmıştır.

2.3. Oksidatif Stres

2.3.1. Genel Bilgiler

Organizmada biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerin düzgün bir şekilde ilerleyebilmesi için belirli düzeyde serbest radikal ve reaktif oksijen türlerine (ROT)

ihtiyaç vardır. ROT'lar moleküler oksijenin indirgenmesi yoluyla orta çıkmaktadır. Oksijen her ne kadar aerobik solunumun devamı için elzem bir molekül olsa da aşırı miktarda üretilen metabolik ara ürünleri tehlikelidir. Çalışmalar ROT'un vücuttaki işlevlerine yoğunlaşmış ve hücre içi sinyal iletimi, hücre proliferasyonu ve immün savunma gibi fonksiyonların devamı için gerekli olduğu gösterilmiştir. Hem canlılığın devamı için birçok alanda işlev gören hem de aşırı miktarda olduğunda işlevselliği olumsuz etkileyen bu moleküllerin vücut içinde dengede olması önemli bir konudur. Bunun için organizma antioksidan savunma sistemlerini görevlendirmiştir. Bu dengede antioksidanlar, hücreyi reaktiflere karşı korumaktadır. Literatürde bu dengenin oksidanlar lehine bozulması ya da başka bir ifadeyle yetersiz antioksidan kapasite OS olarak adlandırılmıştır (89).

Oksidatif stres, hücre zarında yer alan lipitlerin peroksidasyonuna, proteinlerin yapı ve işlevlerinde değişikliklere, membran bütünlüğünün bozulmasına ve mitokondriyal fonksiyon kaybına yol açabilir (89). Beyin dokusu, serbest radikallerin yol açtığı hasara karşı oldukça hassastır çünkü; yüksek düzeyde oksijen kullanımı olması, peroksidasyona yatkın fosfolipidlerin yoğun bulunması ve nöronların sınırlı rejeneratif kapasiteye sahip olması bu durumun sebepleri arasında sayılabilir. Artan oksidatif stres ile birlikte nöronal proliferasyon süreçlerini olumsuz etkilenir ve programlanmış hücre ölümü, yani apoptoz meydana gelir (89). Bu durum beynin işleyişiyle ilgili sorunlara sebep olarak birçok psikiyatrik tanının etiolojisinde yer alabilir mi sorusunu akla getirmiştir. Literatüre bakıldığında şizofreni, otizm spekturum bozukluğu, bipolar bozukluk, depresyon, panik bozukluk ve DEHB'de oksidatif dengenin bozulduğu gösterilmiştir (90).

2.3.2. Oksidatif Stres ve DEHB

DEHB etiyojisi henüz tam bir netlik kazanamamıştır. Yapılan çalışmalar çevresel genetik, nörokimyasal süreçlerin etkili olduğu yönünde kanıtlar sunmuştur (91). Son yıllarda etiyojiye yönelik daha detaylı araştırmaların başlamasıyla birlikte yapılan çalışmalarda OS mekanizmasının DEHB etiyojisinde etkin olduğu gösterilmiştir (7). OS'ile meydana gelen hücresel hasarın hücrenin fizyolojik işleyişini bozarak enzim ve/veya nörotransmitterlerin alımını engelleyerek DEHB etiyojinde yer alabileceği düşünülmüştür (92,93).

DEHB'li olgularda beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi nörotrofinlerin daha düşük seviyede olduğu bildirilmiştir. BDNF'nin öğrenme, hatırlama, sinaptik plastisite, nörogenез ve nöroproteksiyonda önemli roller üstlendiği gösterilmiştir (94,95). Yapılan çalışmalar oksidatif moleküllerin BDNF miktarını azaltarak beynin DEHB ile ilişkilendirilmiş yapılarında hasara neden olabileceği saptanmıştır (94,95).

Bugüne kadar, ilgili çalışmaların bulguları önemli ölçüde farklılık gösterdiğinden, DEHB'li bireylerde antioksidan seviyeleri noktasında bir fikir birliği yoktur. Bazı çalışmalar DEHB'li olgularda antioksidan seviyesinin arttığını saptamışken bazıları azaldığını göstermiştir (7,96,97). Örneğin, DEHB'li olgularla sağlıklı kontrollerin karşılaştırıldığı bir çalışmada toplam antioksidan durum (TAS) seviyesinin DEHB'lilerde fazla olduğu gösterilmiştir (98). Yine benzer şekilde Shapis ve arkadaşları antioksidan bir molekül olan E vitaminin DEHB'li bireylerde daha fazla olduğunu vurgulamıştır (99). Diğer taraftan Sezen ve arkadaşlarının DEHB'li çocuklarda azalmış TAS oranlarından bahsetmiştir (100). Benzer şekilde DEHB'li çocuklarla yapılan bir çalışmada antioksidan savunma sistemlerinden biri olan glutatyon peroksidaz aktivitesinin önemli ölçüde düşük olduğu saptanmıştır (92).

Yapılan bir meta analiz çalışmasının sonucunda azalmış antioksidan aktiviteye dair bir kanıt bulunamazken artmış oksidatif strese dair kanıtlar sunulmuştur. Bu çalışmada ki veriler şu şekilde yorumlanmıştır. DEHB'li hastaların normal bir bazal antioksidan üretim seviyesine sahip olduğu, ancak oksidatif strese yanıtlarının yetersiz olduğu ve beklenenden daha yüksek oksidatif hasar seviyelerine yol açtığı düşünülmüştür (89). Avshalumov ve çalışma arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir araştırmada, işlevini yitirmiş mitokondriler tarafından üretilen başlıca reaktif oksijen türlerinden biri olan hidrojen peroksidin (H_2O_2), striatal bölgede dopamin salınımını inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu bulgu, DEHB'de gözlemlenen dopamin seviyelerindeki azalmanın altında yatan potansiyel mekanizmalardan biri olarak değerlendirilmiştir (101). Bu bulgular, oksidatif stresin DEHB'de rolünü sorgulayan önemli bir soruyu akıllara getirmiştir. Eğer ROT'un üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik DEHB açısından bir risk unsuruysa, antioksidan temelli tedavi yaklaşımları bu dengesizliği

düzelterek oksidatif hasarı azaltabilir ve striatal dopamin salınımını dengeleyerek DEHB semptomlarını hafifletebilir. Bu hipotez, omega-3 yağ asitleri ile yapılan tedavilerin ardından DEHB semptomlarında anlamlı düzelmeler bildirilen bir meta-analizin sonuçlarıyla da desteklenmektedir (102). Tüm bu bilgiler ışığında oksidatif dengenin hem tanı hem de tedavinin şekillenmesinde potansiyel rolü yüksek bir alan gibi durmaktadır.

2.4. Ferroptozis

2.4.1. Genel Bilgiler

Ferroptozis, demir bağlı ve lipid peroksidlerin ölümcül birikimi ile karakterize edilen programlanmış hücre ölümünün bir biçimi olarak tanımlanmıştır (103). Apoptozis veya nekroz gibi diğer hücre ölümü mekanizmalarından farklı olarak, ferroptozis de ağırlıklı olarak hücresel antioksidan sistemlerinin yeteri kadar çalışmaması sorumludur (104,105). Literatüre bakıldığında programlanmış diğer hücre ölümü şekillerinden metabolik ve genetik mekanizmalar ve tetikleyicilere sahip olmasıyla ayrılmıştır (106). Yapılan çalışmalar hücrede sistein ve glutatyon eksikliğinin hücreyi ölüme sürüklediğini gösterirken demir şelatörleri ve lipofilik antioksidanların ise bu ölüm şeklini azalttığı gösterilmiştir (107,108).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ferroptozisin otizm spektrum bozukluğu (OSB) (109) , şizofreni (110), depresyon (111), alzheimer ve parkinson (112) gibi nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar ferroptozisi indükleyerek veya bloke ederek birçok hastalığın ilerlemesini yavaşlatma fikrini ortaya çıkarmıştır.

Ferroptozisin tanınmasını sağlayan ilk çalışmalardan biri 2003 yılında yapılmıştır. Çalışmada reaktif oksijen türevleri ekspresyonu yapan kanser hücreleri üzerinde 'erastin' adı verilen bir bileşiğin öldürücü etkiye sahip olduğunu ve bu ölüm mekanizmasının klasik ölüm şekillerine benzemediğini keşfedilmiştir (113). Apoptozis özellikleri göstermediği DNA parçalanması ve kaspaz aktivasyonu olmadığı ve kaspaz inhibitörleriyle durdurulamadığı fark edilmiştir (113). Bu gelişmelerin üzerine Yang ve Yagoda bu hücre ölüm şekline yol açan yeni bir bileşik olan RSL3'ü keşfettiler ve bu ölüm şeklinin demir şelatörleriyle durdurulabildiği saptanmıştır (114,115). Bu ölüm şeklinde biyokimyasal olarak glutatyon peroksidaz 4 (GPX4) aktivitesinde azalma ve hücre içi glutatyon (GSH) tükenmesi saptanmıştır

(116). Ferroptosis sürecinde, lipid peroksidlerin GPX4 enzimi aracılığıyla indirgenmesi bozulur; bunun sonucunda Fe^{2+} iyonu, lipidlerle fenton benzeri bir reaksiyona girerek lipid peroksidlerin oksidasyonuna yol açar. Ve bu durumun ROT birikimine neden olabileceği gösterilmiştir (115,117). Ferroptosisden koruyucu molekül olan GSH sentezinin sistem Xc- tarafından gerçekleştiği bulunmuş ve bu sistemin inaktive edilmesinin ferroptosisi arttırdığı saptanmıştır (118). Diğer yandan ferroptosis inhibitörleride keşfedilmiştir. Bunlar arasında Ferrostatin-1 (Fer-1), liproxstatin-1 ve vitamin E sayılabilir (115).

2.4.2. Glutatyon Peroksidaz 4 (GPX4)

Glutatyon peroksidaz 4 (GPX4), ferroptosisin ana tetikleyicilerinden biri olan lipid peroksidasyon ürünlerini substrat olarak kullanarak OS'yi azaltmada görevli bir enzimdir (104). Bu tepkimede lipid hidroperoksidleri lipid alkollere dönüştürmek için substrat olarak GSH kullanılır (119). GPX4, bu enzimatik yolakla birlikte lipid peroksidlerin birikimini sınırlayarak, hücre zarlarının yapısal bütünlüğünün korunmasına ve hücre ölümünün önlenmesine katkıda bulunur. Özellikle lipid peroksidasyonuna karşı oldukça hassas olan çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) zengin zarlara sahip beyin hücreleri bu şekilde korunur (120).

Ferroptosis, özellikle GPX4'ü etkileyen mekanizmalar aracılığıyla hücrel antioksidan savunmanın bozulmasıyla sıkı bir şekilde bağlantılı olduğu gösterilmiştir (104). Bu sürecin merkezinde iki temel faktör vardır: ilki GPX4'ün antioksidan işlevi için kritik olan GSH'nin tükenmesi (121) ikincisi ise GPX4'ün çevresel, genetik ve OS nedenli yapısında, işlevselliğinde ve ifadesinde değişiklikler olmasıdır (122,123). Yoğunlaşan oksidatif stres veya inhibitörlerin etkisi nedeniyle GSH'nin tükenmesi, GPX4'ün lipid peroksidasyonuna karşı koyma yeteneğini önemli ölçüde azaltır, bu da lipid peroksidlerin artmasına ve ardından ferroptosisa yol açar (124). Benzer şekilde, GPX4'ün herhangi bir nedenle doğrudan devre dışı bırakılması, lipid peroksidasyonuna karşı kritik bariyeri ortadan kaldırır ve böylece ferroptosis yoluyla hücre ölümüne neden olur (123,125).

2.4.3. Redükte Glutatyon (GSH)

GSH insan ve hayvan hücrelerinin hemen hemen hepsinde bol miktarda sentezlenir. Bu sentez iki aşamalı bir biyosentetik yolakla gerçekleşir. İlk aşamada, γ -glutamil sistein sentetaz enzimi, GSH'ın öncül amino asitlerinden olan glutamat ve

sisteini birleştirek γ -glutamil sistein sentezini katalizler. İkinci aşamada ise, glutasyon sentetaz enzimi devreye girer ve γ -glutamil sistein ile glisini birleştirek glutasyon molekülünü oluşturur (126). Artan reaktif oksidan türleri hücrel yapılar üzerinde hasar oluşturabileceği bilinen bir gerçektir. Bu zararlı bileşiklerin detoksifikasyonu, indirgenmiş glutasyonun (GSH), oksitlenmiş dimer formu olan glutasyon disülfide (GSSG) dönüşmesiyle gerçekleştirilir. Ancak, oksidatif stres artışı GSH tüketimini artırır ve azalan GSH oksidatif stresin neden olduğu zararın boyutunu arttırabilir (127).

Literatüre bakıldığında psikiyatrik hastalıklarda sık çalışılan bir molekül olduğu görülmüştür. Şizofreni, bipolar bozukluk, DEHB, alkol-madde kullanım bozukluğu etiolojisinde yer alabilecek bir molekül olduğu vurgulanmıştır (128,130).

2.4.4. Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu, hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu meydana gelir ve bu süreç, zar fosfolipitlerinin yapısal bütünlüğünü değiştirerek hücrelerin morfolojik ve işlevsel özelliklerini olumsuz yönde etkiler (131). Lipid peroksidasyonu kimyasal bir süreç olup serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlar. Bir zincir reaksiyonun olan bu sürecin hücre membranına verdiği hasar geri dönüşümsüzdür (131,132). Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA, uzun yarı ömrü ve yüksek kimyasal reaktivitesi sayesinde hem hücre içi hem de hücre dışındaki proteinler, nükleik asitler ve diğer biyomoleküllerle etkileşime girerek, geri dönüşü olmayan yapısal ve fonksiyonel hasarlara neden olabilmektedir (133). Ayrıca, lipid peroksidasyonu hücre zarının akıcılığını azaltarak zar fonksiyonlarının yavaşlamasına, zar üzerindeki reseptör ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açmakta; bununla birlikte, kalsiyum iyonlarının (Ca^{2+}) membran üzerinden geçişini artırarak hücrel iyon dengesi üzerinde bozucu etki oluşturabilmektedir (134). Son yıllarda yapılan araştırmalar, oksidatif stresin çeşitli psikiyatrik tanılarının patofizyolojisinde etkili olabileceğini söylemektedir. Nitekim farklı çalışma grupları, birçok psikiyatrik hastalıkta MDA düzeylerinin artmış olduğunu rapor ederek, bu biyomolekülün hastalık süreçlerinde potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (134). Sonuç olarak bu bulgular bize yüksek MDA seviyelerinin hücrel düzeyde hasarlara neden olarak psikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rolü olabileceğini

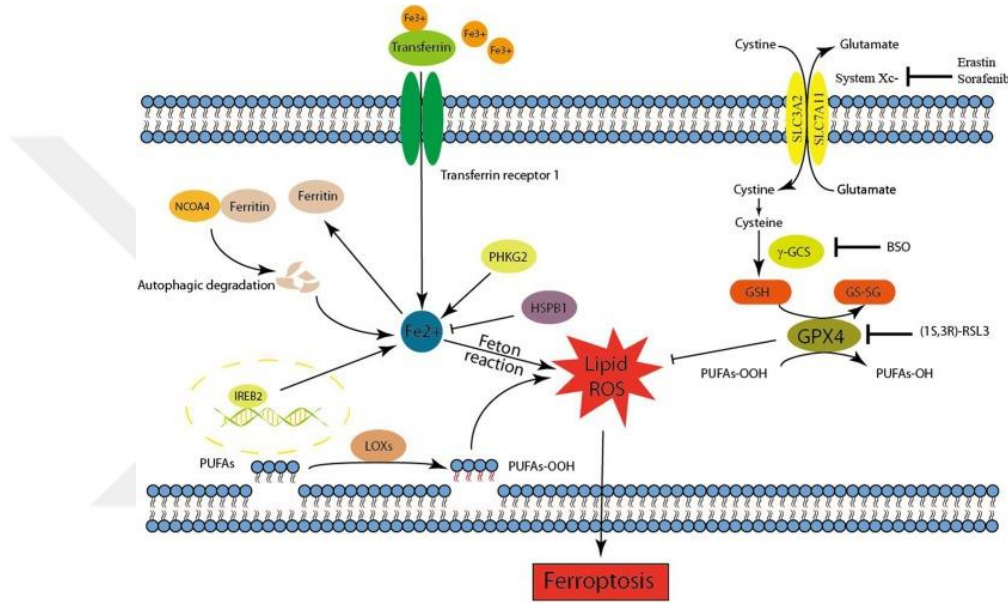
söylemektedir. Ayrıca alan yazımlarına bakıldığında serbest radikaller ile DEHB ilişkisini inceleyen çalışmalarında yer aldığı görülmüştür (7,135).

2.4.5. Sistem XC-/ Solute Carrier Family 7 Member 11 (SLC7A11) Mrna

Oksidatif dengeyle ilgili çalışmalar arttıkça antioksidan mekanizmanın ana bileşiklerinden biri olan glutatyonun sentezi de araştırma konularından biri olmuştur. Sistin/glutamat antiporter sistemi xc, sodyuma bağımlı olmayan asidik bir amino asit taşıyıcısıdır ve hücre içine sistin girişini, glutamat çıkışıyla 1:1 oranında gerçekleştirir. Sistem xc, bir ağır zincir alt birimi (SLC3A2) ve bir hafif zincir alt birimi (xCT, SLC7A11) olmak üzere iki parçadan oluşur (10). Antiporter sistemin çalışması hücre içi glutatyon üretimini ve hücre dışı glutamat salınımını düzenler bu sayede nörotiransmitter değişiminde ve oksidatif stresle mücadelede önemli rol oynayarak hücreyi korur.

DEHB etyolojisinde glutamaterjik sistemin anormal olduğunu gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Moore ve ark. 2006 yılında yaptığı bir çalışmada DEHB tanılı çocukların Anterior singulat kortekslerinde glutamat artışı saptanmıştır (136). Yine başka bir çalışmada ise DEHB'li çocuklarda striatal glutamat ve glutamat/glutamin (glx) konsantrasyonlarında kontrollere göre artış olduğu bulunmuştur (137). Tüm bu çalışmalar ışığında etyolojide glutamat dengesizliğinden son zamanlarda bahsedilmeye başlanmıştır (137). Glutamat dengesinin sağlanmasında taşıyıcı sistemin önemi büyüktür. Sinaptik aralıktaki salınım mekanizması sistem xCT tarafından aktif taşınmayla kontrol edilir (138). Bu bilgiye dayanarak DEHB etyolojisinde SLC7A11-glutamat ilişkisinin çift yönlü olabileceğini düşündük artan glutamatın SLC7A11'in çalışmasını bozarak oksidatif stresi arttırıp hücre ölümüne sebep verebileceği (139) gibi SLC7A11'in çalışmaması durumunda da sinaptik glutamatta artış ve ekstrasinaptik glutamatta azalma olacağı bu da hem OS'nin artışına hem de hücre içinde artan glutamatın mitekondrial sistemi etkileyerek ROT'da artışa ve bu artışa bağlı olarak nöronal hasar ve hücre ölümüne sebep olabilir (140). SLC7A11'e hangi açıdan bakarsak bakalım glutamat dengesi için araştırılması gereken bir molekül olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu da bizi DEHB etiyolojisinde aday genlerden biri olabileceğini varsayımı üzerinde durmamızı sağladı.

Lin ve arkadaşlarının 2016 yılında şizofreni hastaları ile yaptıkları bir çalışmada şizofreni tanılı hastalarda sağlıklı kontrollere göre SLC7A11,SLC3A2 mRNA ekspresyon düzeylerinin anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır (141). Aynı zamanda deney hayvanlarıyla yapılan başka bir çalışmada mutant SLC7A11 sahip hayvanların yürütücü işlevlerde daha fazla zorlandıkları diğer hayvanlara göre hareketlilik artışı olduğu görülmüştür (142). Tüm bunlara dayanarak SLC7A11 ve bu mRNA ile ilişkisi NEAT1 lncRNA'nın DEHB etiyolojisinde önemli bir rolü olduğunu düşündük.



Şekil 2.2. Ferroptotik Hücre Ölümünün Mekanizması (143).

2.5. LNCRNA

2.5.1. Genel Bilgiler

Son yıllarda genetik çalışmaların hız kazanması hem de teknolojinin ilerlemesi ile alandaki bilgi birikiminin attığı görülmüştür. Literatüre bakıldığında daha öncelerden ‘çöp DNA’ olarak adlandırılan kodlama potansiyelinin olmadığı düşünülen yapıların aslında aktif olarak transkripsiyona uğradığını ve düzenleyici rollere sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Öyle ki İnsan genomunun % 80'inden fazlasının aktif olarak transkripsiyona uğradığı ancak yalnızca yaklaşık % 2-3'ünün proteinlere çevrildiği tahmin edilmiştir. Bu da genomumuzun transkripsiyonel çıktısının neredeyse kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) tarafından düzenlendiği

anlamına gelir (144). ncRNA sınıfı içerisinde uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA), insan genomunda en bol bulunan sınıfı temsil eder (145). LncRNA'lar protein kodlamayan 200'den fazla nükleotid uzunluğunda RNA transkriptleridir (146).

Yapılan çalışmalarda normal beyin gelişiminde lncRNA'ların nöral plastisitede rol aldığı, nörogelişim, nörojenez ve ilgili yollara aracılık ettiği kanıtlanmıştır (147). LncRNA'ların birincil ve ikincil yapısı, ekspresyon düzeyindeki farklılıkları, ortak kökenli RNA bağlayıcı proteinleri, kanserden nörodejenerasyona kadar birçok hastalığın temelinde etkilidir (141). Psikiyatrik tanılar için daha bakir bir alan olan lncRNA'ların şizofreni, madde bağımlılığı, depresyon, bipolar bozukluk, otizm spektrum bozukluğu ile ilişkisi tanımlamıştır (148).

2.5.2. LncRNA ve DEHB

DEHB etiyojisine yönelik lncRNA'lar ile yapılan araştırmalar daha emekleme aşamasında olmasına rağmen literatürde son zamanlarda sık sık gündem konusu olduğu görülmüştür. Zhang ve arkadaşlarının, hipokampus kaynaklı lncRNA'ların DEHB patogenezindeki rollerini anlamak için yaptıkları çalışmada, DEHB hayvan modelinde kontrol grubuna göre 267 lncRNA'nın anlamlı olarak farklı ifade edildiği ve bu lncRNA'ların beyin gelişim süreçlerine ve nöronal fonksiyonun korunmasına katkı sağladığı tespit edilmiştir (149). Çeşitli psikiyatrik hasta grubunda yapılan başka bir çalışmada ise normal yaşlanma ve Alzheimer hastalığının patogenezinde etkili, nöron özgü lncRNA olan Beyin sitoplazmik 200 RNA'nın tek nükleotid polimorfizmi (rs4404327) incelenmiş ve belirlenen polimorfizm ile yalnızca DEHB arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir (150).

Aynı zaman da DEHB etiyojisinde yürütücü işlev sorunlarının önemli bir rolü olduğu konusu oldukça yaygındır (151). Guan-Hui Fu ve arkadaşlarının 2021 yılında Çin halk cumhuriyetinde DEHB ve sağlıklı kontroller ile yapmış olduğu bir çalışmada RNF219-AS1 lncRNA'nın yürütücü işlevlere olan etkisi anlamlı olarak DEHB bireylerde farklılık göstermiştir (152). 2023 yılında DEHB modeli oluşturulmuş deney hayvanlarıyla yapılan başka bir çalışmada MALAT1'in öğrenme, hafıza gibi yürütücü işlevlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (153). Yakın zamanda DEHB ile ortak genetik örtüşmenin en fazla olduğu patolojiden biri olan otizm spektrum bozukluğu (OSB) modeli oluşturulmuş sıçanlar ile yapılan bir çalışmada NEAT1'in OSB'de yüksek oranda ifade edildiğini ve inhibisyonunun

hipokampal nöronal hasarı ve OS'yi belirgin şekilde baskıladığını ve böylece OSB gelişimini hafiflettiğini gösterilmiştir (154). Tüm bu bilgiler ışığında lncRNA'ların DEHB etiolojisinde dinamik bir role sahip olduğu düşünülmektedir.

2.5.3. NEAT1 lncRNA

NEAT1 kodlamayan RNA'lardan lncRNA sınıfına ait olan bir lncRNA'dır .NEAT1 çekirdekte daha yoğun olmakla birlikte sitoplazmada da bulunur. Hücre çekirdeğinde protein-RNA kompleksi olarak adlandırılan paraspeckle'nin temel yapısal bileşeni olarak işlev görür. Paraspeckle'lerin görevleri arasında gen ekspresyonunun düzenlenmesi, stres yanıtı oluşturma, sitoplazmaya gönderilemeyen ve düzenlenmesi gereken RNA'ları depolar. NEAT1'in hücresel tükenmesi paraspeckle'lerin kaybına neden olur. NEAT1'in aşırı ekspresyonu paraspeckle birikiminde artışa yol açar. Birikime bağlı olarak gen ekspresyonu bozulabilir bazı genler normalden az ya da fazla ifade edilebilir. Stres yanıtında bozukluk olabileceği gibi fazla paraspeckle kanser hücrelerinin çoğalmasını arttırıp apoptozu engelleyebilir (155). Sonuç olarak hem fazla ekspresyon göstermesi hem de normalden az olması patolojiler için risk faktörü oluşturur.

Fonksiyonel çalışmalar, NEAT1'in OS altında hücre canlılığını artırdığını göstererek, yukarı regülasyonunun patolojik bir olaydan ziyade nöroprotektif bir yanıt olabileceğini düşündürmüştür (156). Aynı zamanda NEAT1, IL-6, CXCL10, TNF- α ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin ifadesini artırarak, inflamasyonun pozitif bir düzenleyicisi olarak hareket edebildiği saptanmıştır (157).

2022 yılında yapılan bir çalışmada entelektüel yeti yitimi olan çocuklar ile nörogelişimsel bozukluklar çatısı altında lncRNA'lar araştırılmış NEAT1'in patagenezde etkili olabileceği düşünülmüştür. Başka bir çalışmada OSB patogenezinde NEAT1 ve TUG1 lncRNA'ların rol oynayabileceği saptanmıştır. Ve bu etkinin beyinden türetilen nörotrofik faktör (BDNF) ekspresyonu ile bağlantılı olabileceği, yükselen NEAT1'in miR-497/BDNF yoluyla OSB'ye katkıda bulunabileceği düşünülmüştür (11,13). Şizofreni tanılı bireylerle yapılan başka bir çalışmada NEAT1'in genel olarak önemli bir farklılık göstermediği bulunurken kadın hastalarda ilişkili olabileceğine dair kanıtlar sunulmuştur (12,14).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmanın Akışı

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayına sunulmuş, 31.07.2024 tarih ve 2024/264sayılı karar yazısıyla etik kurul onayı almıştır.

Araştırmaya DSM-5'e göre yapılan klinik görüşmede DEHB Kombine tip tanısı alan 40 çocuk ile 40 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Vaka grubu olarak alınan gönüllülerin araştırmaya dahil edilme kriterleri:

- 1- DSM-V'e göre yapılan klinik görüşmede DEHB tanısı tespit edilmesi,
- 2- 6-12 yaş aralığında olmak,
- 3- Tanımlanmış kronik tıbbi hastalığı, aktif enfeksiyonu olmamak. (Bu hastalıklarda da lncRNA ve inflamatuvar sitokin düzeyleri etkilenebileceği için karıştırıcı faktörlerin azaltılması hedeflenmektedir.),
- 4- Çocuğun kendisi ve ebeveyni tarafından araştırmaya katılmaya gönüllü olmak, çocuk onam formu ve ebeveyn bilgilendirilmiş onam formunu imzalamakken, kontrol grubu olarak alınan gönüllülerin ise:

- 1- DSM-V'e göre klinik görüşmede ve ölçeklerde herhangi bir psikiyatrik bozukluk saptanmamış olmak,
- 2- Bilinen kronik hastalık, aktif enfeksiyon olmamak,
- 3- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmak

Hem DEHB tanısı almış çocuklara eşlik eden psikiyatrik patolojilerin tespiti hem de sağlıklı kontrol grubuna alınan çocuklarda psikopatoloji varlığının dışlanması amacıyla Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli (K-SADS) yarı yapılandırılmış görüşme uygulanmıştır. Araştırmaya dahil edilen çocuklara Stroop Testi TBAG Formu yapılmıştır. Ebeveynleri ise Conner's Anababa Dereceleme Ölçeği-Yenilenmiş Kısa Form (CADÖ-YK) ve öğretmenleri Conner's Öğretmen Dereceleme Ölçeği-Yenilenmiş Kısa Form (CÖDÖ-YK) doldurmuştur. Sosyodemografik form ise araştırmacı tarafından ebeveynlere sorularak doldurulmuştur.

Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrol gruplarına ait katılımcılardan EDTA'lı vakumlu tüplere (yaklaşık 4 ml) ve jelli serum tüplerine (en az 5 ml) birer

adet venöz kan örnekleri alındı. EDTA'lı tüplere alınan tam kan örneklerinden, laboratuvara ulaştıktan hemen sonra total RNA izolasyonu yapıldı. Bu örneklerden sentezlenen cDNA örneklerinde GPX4 mRNA, SLC7A11 mRNA ve NEAT1 lncRNA ekspresyon düzeyleri RT-qPCR yöntemi ile ölçüldü.

Serum tüplerine alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 1500xg'de 10 dakika santrifüj edilip serum örnekleri 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktararak çalışma zamanına kadar -80°C'de muhafaza edildi. Serum örneklerinde Enzime Bağlı İmmüno-sorbent Testi (ELISA) yöntemi ile GPX4 enzim düzeyleri, spektrofotometrik end-point ölçüm yöntemi ile malondialdehit (MDA) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri ölçüldü.

3.2. Çalışmada Kullanılacak Form ve Ölçekler

3.2.1. Sosyodemografik Veri Formu

Çalışmaya dahil edilen katılımcıların sosyodemografik özellikleri araştırmacı tarafından hazırlanan ve aileye araştırmacı tarafından sorularak doldurulan sosyodemografik bilgi formu kullanılarak elde edildi. Form da çocuğun cinsiyeti, yaşı, kardeş sayısı, kaçınıcı çocuk olduğu, kaçınıcı sınıfta okuduğu, doğum şekli, doğum zamanı, doğum ağırlığı, anne sütü alım süresi, annesinin gebelik sırasında sigara/alkol kullanımı, gelişim basamakları, anne ve babanın yaşı, eğitim düzeyleri, meslekleri, aile tipi, gelir düzeyi, kronik hastalık öyküsü, daha önceden psikiyatrik tanı ve tedavi alma durumları, eşlik eden psikiyatrik tanı, çocuğun okul başarısı sorgulandı.

Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Versiyonu-Türkçe Uyarlaması (ÇDŞG-ŞY-T): Altı ile on sekiz yaş arası çocuk ve ergenlerin geçmiş ve şimdiki psikopatolojileri taramak amaçlı, Kauffman ve arkadaşları'nın geliştirmiş olduğu yarı yapılandırılmış bir görüşme formudur(158). Bu form DSM-III-R ile DSM-IV tanı kriterleri uyarınca hazırlanmıştır ve araştırmacı tarafından uygulanmaktadır. ÇDŞG-ŞY'nin DSM-5 Türkçe Uyarlaması'nın geçerlilik ve güvenilirlik çalışmasını Ünal ve arkadaşları yapmıştır (159).

Conner's Anababa Dereceleme Ölçeği - Yenilenmiş Kısa Form (CADÖ-YK): Conners ve arkadaşları tarafından anne ve babaların çocukların davranışlarının değerlendirmesi amacıyla geliştirilmiştir (31). Bu ölçek 27 maddeden oluşmaktadır

ve 4 adet alt ölçeği vardır. Bunlar; “karşı gelme alt ölçeği”, “bilişsel problemler/dikkatsizlik alt ölçeği”, “hiperaktivite alt ölçeği”, “DEHB indeksi alt ölçeği”dir. Her madde için puan değeri 0-3 arasında değişir. Hiç bir zaman doğru değil 0 puan, biraz doğru 1 puan, oldukça doğru 2 puan, çok doğru 3 puan olarak belirlenmiştir. Türkçe geçerlilik ve güvenilirlik çalışması ise Kaner ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (32).

Conner’s Öğretmen Dereceleme Ölçeği - Yenilenmiş Kısa Form (CÖDÖ-YK): 1997 yılında Conners ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (160). Öğretmenlerin 5-10 dakikasını alarak öğrencilerinin davranışlarının değerlendirmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu ölçek 28 maddeden oluşmaktadır ve 5 adet alt ölçeği vardır. Bunlar; “karşı gelme alt ölçeği”, “bilişsel problemler/dikkatsizlik alt ölçeği”, “hiperaktivite alt ölçeği”, “DEHB indeksi-Dikkatsizlik,” “DEHB indeksi-hiperaktivite” alt ölçeğidir. Her madde için puan değeri 0-3 arasında değişir. Hiç bir zaman doğru değil 0 puan, biraz doğru 1 puan, oldukça doğru 2 puan, çok doğru 3 puan olarak belirlenmiştir. Türkçe geçerlilik ve güvenilirlik çalışması ise Kaner ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (161).

Stroop Testi TBAG Formu: Stroop Testi TBAG formu, BİLNOT (Bilişsel Potansiyeller İçin Nöropsikolojik Test) bataryasının standardizasyon çalışmaları kapsamında ülkemize uyarlanmış ve standart hale getirilmiş bir testtir (162). Test, dört farklı karttan oluşmaktadır: siyah renkte yazılmış renk isimleri, farklı renkte yazılmış renk isimleri, renkli basılmış daireler ve renkli basılmış nötr kelimeler. Farklı renkte yazılmış renk isimleri kartı ilk kez sunulduğunda, katılımcılardan renk isimlerini okumaları istenirken, ikinci sunumda ise yazıların mürekkep rengini söylemeleri istenir. Test, bireylerin bilişsel çatışmaları çözme yetisini ve bozucu etkilere direnç gösterebilme becerisini değerlendirmektedir (16).

Çalışmamızda Stroop testinin kullanım amacı yürütücü işlev becerilerinden bozucu etkiye direnç şeklindeki ketlemeyi ölçmek ve aynı zamanda dikkat kontrolü, bilişsel esnekliği değerlendirmek amaçlandı. Bu nedenle Stroop test sonuçlarından 5. Bölüm süre (S5S), hata (S5H) ve düzeltme (S5D) puanı daha ön planda kullanıldı.

3.3. Gen Ekspresyon Seviyelerinin Ölçülmesi

3.3.1. Total RNA İzolasyonu

RNA koruyucu içerisinde saklanmış kan örneklerinden total RNA izolasyonu ticari kit (Geneall Biotechnology, Co. Ltd., Seoul, Korea) kullanılarak ve üretici firmanın önerdiği protokol takip edilerek yapıldı. Kitin içeriğinde RiboEx™ LS, Buffer RB1 (konsantre), Buffer RBW (konsantre), Buffer RNW (konsantre), DEPC uygulanmış su bulunmaktadır. Kitin dışında gerekli reaktifler: Mutlak etanol (en az % 96'lık) ve kloroformdur. Mutlak etanol eklenerek konsantre tampon çözeltilerden çalışma tampon çözeltileri hazırlandı.

İzolasyon protokolü:

- 1- 750 µl RiboEx™ LS reaktifi üzerine 250 µl periferel kan örneği eklenip karışım homojen olana dek vortekslendi (30 sn.-1 dk.).
- 2- Oda sıcaklığında 2 dakika bekletildikten sonra karışımın üzerine 200 µl kloroform çözeltisi eklenip şiddetlice çalkalandı ve tekrar oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.
- 3- Karışım 4°C' de 12000xg'de 15 dk. santrifüj edildikten sonra, yaklaşık 450 µl'lik en üstte bulunan aköz faz sarı renkli filtreli tüpe aktarıldı, filtreli kolonun altına steril ependorf tüpü yerleştirildi.
- 4- Oda sıcaklığında 11000xg'de 30 sn. santrifüj edildikten sonra filtrenin altındaki tüpte toplanan sıvı DNA ve diğer safsızlıklardan arındırılmış örnek çözeltisi üzerine çözeltilinin 2 katı kadar (900 µl) RB1 çalışma tamponu eklendi ve pipetle çekip bırakılarak karışması sağlandı.
- 5- Tampon ile karıştırılmış RNA içeren çözeltiden yaklaşık 700 µl pipetle çekilerek mavi renkli W-tipi kolona aktarıldı ve oda sıcaklığında 11000xg'de 30 sn. santrifüj edildi ve kolonun altında kalan tüpte toplanan sıvı atıldı. RNA içeren çözeltiden kalan miktar tekrar aynı kolona aktarılıp aynı şekilde santrifüj edildi ve tekrar alta geçen sıvı atıldı.
- 6- Daha sonra filtreli kolon üzerine 500 µl RBW çalışma tamponu eklenip oda sıcaklığında 11000xg'de 30 sn. santrifüj edildi ve kolonun altında kalan tüpte toplanan sıvı atıldı. Ardından filtreli kolon üzerine 500 µl RNW çalışma tamponu eklenip oda sıcaklığında 11000xg'de 30 sn. santrifüj edildi ve

kolonun altında kalan tüpte toplanan sıvı atıldıktan sonra, fazla etanolün uçması için ek bir santrifüj işlemi yapıldı.

- 7- Filtreli kolon 1.5 ml'lik yeni bir kapaklı mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildikten sonra 40 µl DEPC uygulandı, su filtrenin tam ortasına denk gelecek şekilde pipetlendi ve 2 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi. Total RNA'nın elüsyonu için 11000xg'de 1 dk. santrifüj edildi, daha sonra filtreli kolon atıldı.

Elde edilen total RNA örneklerine ait optik dansiteleri (OD) değerleri, 260 ve 280 nm'de UV Spektrofotometre/Nanodrop cihazı kullanılarak ölçüldü. OD260/OD280 değerinin ~ 2 olması RNA örneğinin verimliliğinin göstergesidir. RNA konsantrasyonunun belirlenmesi için 40 µg/ml'lik RNA'nın 260 nm'deki absorbans değerinin 1 olduğu bilinmektedir. RNA'nın bu özelliği kullanılarak her bir örneğin RNA miktarı hesaplanmıştır. RNA örnekleri çalışma zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.3.2. Ters Transkripsiyon Reaksiyonu ile mRNA'dan Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Elde edilen total RNA içindeki mRNA'yı cDNA'ya çevirmek için OneScript® Plus cDNA sentez kiti (Cat No: G236, Applied Biological Materials Inc., Kanada) kullanıldı. Kitin içeriğinde, 5X Reverse Transkripsiyon Tamponu, dNTP, Random Primerler ve OneScript® Plus RTase bulunmaktadır.

Deneye başlamadan önce çalışma ortamı steril edildi. Total RNA örnekleri buz üzerinde çözünmeye bırakıldı ve reaktifler oda sıcaklığına getirildi. cDNA sentezi için gerekli reaksiyon karışımları kitte belirtilen talimatlara uygun olarak aşağıda gösterildiği gibi hazırlandı.

cDNA Sentez Reaksiyon Karışımı	<u>x1</u>
5X RT Tamponu	4 µl
dNTP	1 µl
Random Primerler	1 µl
Total RNA	(240 ng/rxn)
OneScript® Plus RTase	1 µl
Nükleaz içermeyen H ₂ O	20 µl'ye tamamlanır

Bileşenler karıştırılıp termal döngüleyici (SensoQuest Thermal Cycler, Almanya) cihazında, 50-55°C’de 15 dk inkübe edildi. Daha sonra 85 °C’de 5 dk’lık ısıtma basamağından sonra reaksiyon durduruldu ve elde edilen cDNA örnekleri çalışma zamanına kadar -20 °C’ de muhafaza edildi. Gerçek zamanlı kantitatif PCR analizleri için her örnekten ikili tekrar içerecek şekilde 2 µl cDNA kullanıldı.

3.3.4. Revers Transkriptaz-Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR)

cDNA elde edildikten sonra, bu örneklerde gerçek zamanlı kantitatif PCR reaksiyonu ile ilgilenilen gen bölgelerinin ifade düzeylerinin ölçümü için Universal Mastermix içeren ticari bir kit (Cat: A6001, GoTaq® qPCR Master Mix, Promega Corp., Madison, WI, ABD) ve ilgili genlere ait ileri ve geri primer çiftleri kullanıldı. Mastermix içerisinde yer alan Syber Green florokrom boyası, çift sarmallı DNA’ya non-spesifik olarak bağlanarak floresan ışımaya yayar. Her bir genin amplifikasyonunda kullanılan primerler, NCBI veritabanında yer alan “Gene” arayüzü kullanılarak tasarlandı. Kullanılan primerlerin ileri ve geri primer dizilimleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Housekeeping gen olarak GAPDH (Beta Actin) geni kullanıldı.

Tablo 3.1. Gen Pirimer Dizileri

Gen Adı	İleri Primer	Geri Primer
SLC7A11	TCCTGCTTTGGCTCCATGAACG	AGAGGAGTGTGCTTGCGGACA
NEAT1	ATGCCACAACGCAGATTGAT	CGAGAAACGCACAAGAAGG
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

Tasarımı yapılan primerlerin % GC oranı, T_m değerleri, ürün uzunlukları ve primer uzunlukları gibi fiziksel özellikleri Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Tasarımı Yapılan Primerlerin Özellikleri.

Primer Adı	T _m (°C)	% GC	Primer uzunluğu (bç)
SLC7A11	F 66.00	50	22
	R 66.00	57	21
GPX4	F 57.00	50	20
	R 57.00	53	19
NEAT1	F 55.00	45	20
	R 57.00	53	19
GAPDH	F 68.00	54.5	22
	R 66.00	50	22

Aşağıda belirtildiği şekilde reaksiyon karışımları hazırlanarak cDNA örneklerinin eş zamanlı PCR amplifikasyon reaksiyonu, Rotor Gene 6000 Real-Time PCR cihazı (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi.

Gerçek Zamanlı qPCR Reaksiyon Karışımı:	<u>x1</u>
GoTaq® qPCR Master Mix	10 µl
İleri Primer	0.4 µl
Geri Primer	0.4 µl
Nükleaz içermeyen H ₂ O	7.2 µl
cDNA	2 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi:	20 µl

Hazırlanan karışım 18 µl olacak şekilde uygun tüplere dağıtılarak, her bir bireye ait cDNA örneğinden 2 µl eklenerek tüplerin kapakları kapatıldı ve aşağıdaki tepkime koşulları cihaz üzerinde ayarlanarak tüpler cihaza yerleştirilerek reaksiyon gerçekleştirildi.

qPCR Tepkime koşulları:

	Sıcaklık (°C)	Süre	
Enzim aktivasyonu	95	10 dk	
Denatürasyon	95	15 sn	} 40 döngü
Primer bağlanması	Primerlere spesifik (57-66)	60 sn	

3.3.5. Real-Time PCR Sonuçlarının Analizi

Gen ifade düzeylerinin belirlenmesi için göreceli nicelme (relative quantification) yöntemi kullanıldı. Göreceli nicelme, bir çalışmada sağlıklı kontrol gibi bazı referans gruplarına göre hedef genin ifadesindeki değişikliği tanımlamaktadır. Gen ifade düzeyindeki değişikliğin ölçümü, amplifiye DNA miktarının floresans şiddetinin eşik seviyesine ulaştığı döngü sayısını temsil eden göreceli bir değer olan eşik değeri döngüsü (threshold cycle, Ct) ile ifade edilir. Kısaca, eşik değeri döngüsü (Ct), amplifiye edilmiş hedef gen miktarının sabit bir eşiğe ulaştığı kesirli döngü sayısını gösterir. Her bir örnek için elde edilen Ct değerleri, ACTB (β -aktin) genine ait Ct değerleri ile normalize edilmiştir. qPCR gen ekspresyon düzeylerinin analizi için $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (fold change-katlı değişim) formülü kullanıldı.

$$\Delta Ct = Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{referans gen}}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{hasta}} - \Delta Ct_{\text{kontrol}}$$

$$\text{Kat değişimi} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

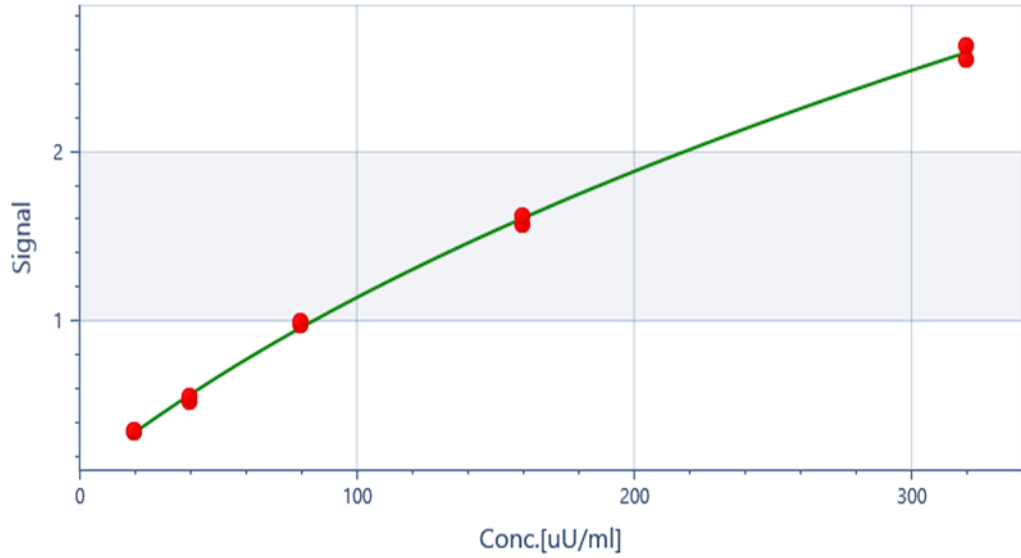
3.3.6. Fosfolipid Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz Mitokondriyal Enzim (GPX4) Düzeylerinin Ölçümü

Serum GPX4 enzim düzeyleri, sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile ticari spesifik kit (BT Lab Bioassay Technology, Shanghai Korain Biotech, Shanghai, China) kullanılarak ölçüldü.

Yöntemin Prensibi: Düzeyi ölçülecek antijene özgü monoklonal antikor ile kaplı mikropalakaların kullanıldığı bu yöntemde, biyotin ile işaretli antijene özgü antikor ile örneğin içerdiği antijen arasında immünolojik reaksiyon meydana gelir. Ortama eklenen streptavidin işaretli peroksidaz enzimi (HRP) antikor ile konjuge olan biyotin reaksiyona girer. Son aşamada eklenen substrat, örnekteki antijen ile orantılı olarak aktivite gösteren enzim aracılığıyla renk değişimine uğrar. Substratta görülen renk değişimi maksimum absorbans verdiği görünür bölge dalga boyunda (450 nm) spektrofotometrik olarak ölçülür.

Yöntem: Süpernatantlarda ilgili ölçüm düzeylerinin belirlenmesinde kullanılması için, kitin içeriğinde bulunan konsantrasyonları bilinen liyofilize rekombinant protein içeriğinin (standart çözeltilerinin seri dilüsyonları (0, 20, 40, 80, 160 ve 320 μ U/ml) hazırlandı.

Her bir ilgili ölçüme özgü insan monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış 96 kuyucuklu mikropalakaların kuyucuklarına örnek ve yapılacak ölçüme özgü standart çözeltiler protokole uygun miktarlarda duplike olarak eklendi ve biyotinillenmiş antikor ve streptavidin-HRP de eklendikten sonra, plakaların üzeri kapatılıp örnekler 37°C'de, 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 5 kez yıkama tamponu ile yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından her bir kuyucuğa renk değiştiren substrat solüsyonları eklendi ve 37°C'de, 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurucu solüsyon her bir kuyucuğa eklendikten sonra optik yoğunluklar 450 nm'de bir mikropalakaspektrofotometrede (ThermoScientific™ Multiskan™ GO MikropalakaSpektrofotometre, Finlandiya) ve yazılım programı (Microplate Readers için SkanIt Yazılım 4.1) kullanılarak ölçüldü. Standart çözeltilerin absorbans değerleri, konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirilmiş ve böylece standart grafiği elde edildi. Elde edilen standart grafiği kullanılarak örneklerin ilgili madde düzeyleri hesaplandı. Sonuçlar μ U/ml olarak ifade edildi. Aşağıda çalışılmış olan standart grafiği sunulmuştur.



Şekil 3.1. GPX4 Standart Grafiği

GPX4 rekombinant proteininin 0, 20, 40, 80, 160 ve 320 µU/ml konsantrasyonlarında seri dilüsyonlar halinde hazırlanmış standart çözeltilerinin ELISA yöntemi ile çalışılması sonucunda elde edilen logaritmik standart grafiğine ait formül aşağıdaki gibidir ve R2 değeri 1 olarak bulunmuştur.

$$y = 0,134197 + (54,5302 - 0,134197) / ((1 + (x/6,30386)^{-0,257967})^{10})$$

3.3.7. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeylerinin Ölçümü

GSH düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile ticari spesifik kit (Cat: E-BC-K030-S, Elabscience Bionovation, Inc., Texas, USA) kullanılarak ölçüldü.

Yöntemin Prensipleri: Örneğin içerdiği redükte glutasyon (GSH), ditionitrobenzoik asit (DTNB) ile tepkimeye girerek tio-nitrobenzoik asit ve glutasyon disülfid oluşturur. Nitromerkaptobenzoik asit, 420 nm'de maksimum absorbans veren sarı renkli bir bileşiktir. GSH içeriği, 420 nm'deki OD değerinin ölçülmesi ile hesaplanır.

Yöntem: Kitin içeriğinde bulunan reaktifler, kitte belirtilen talimatlara uygun olarak hazırlanmıştır.

Reaktifler ve çalışma solüsyonları:

R1: Asit reaktifi, R2: Fosfat Reaktifi, R3: DTNB reaktifi, R4: Tuz reaktifi, R5: Liyofilize GSH standardı, R6: GSH standart stok dilüenti (10x)

Fosfat çalışma solüsyonu: Bir vial fosfat reaktifi (R2) 75 ml bidistile su ile çözüldü.

Tuz reaktifi çalışma solüsyonu: Bir vial tuz reaktifi (R4) 10 ml bidistile su ile çözülmüş, iyice karıştırılmış ve çalışma zamanına kadar ışıktan koruyarak 4°C'de muhafaza edildi.

GSH standart stok (1mM) solüsyonunun hazırlanması: GSH standart stok dilüenti, bidistile su ile 10 kat dilüe edildikten sonra, bu çözelti kullanılarak 1mM GSH stok standardı hazırlandı.

GSH standart çalışma (20 µM) çözeltisi: 1 mM GSH standart stok çözeltisinden GSH standart stok dilüenti kullanılarak deney için gerekli hacimde 20 µM'lık GSH standart çözeltisi hazırlandı.

Deney prosedürü:

Örneklerin hazırlanması: 0.7 ml örnek 0.7 ml asit reaktifi ile karıştırıldı ve karışım 4500×g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant analiz için 2 ml'lik ependorflara toplandı.

Blank (Kör) tüp: 5 ml'lik tüplere 1 ml asit reaktifi eklendi.

Standart tüp: 5 ml'lik tüplere 1 ml 20 µM GSH standart çözeltisi eklendi. Standart ölçümleri çalışmada triplik olarak yapılmıştır.

Numune tüpü: 5 ml'lik tüplere 1 ml süpernatantı eklendi.

Her tüpe 1.25 ml fosfat uygulama çözeltisi, 0.25 ml DTNB çözeltisi ve 0.05 ml tuz reaktifi uygulama çözeltisi eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Her bir örneğe ait reaksiyon karışımları 96-well kuyucuklara eklendikten sonra optik yoğunluklar 420 nm'de bir mikrolaka spektrofotometrede (ThermoScientific™ Multiskan™ GO Mikrolaka Spektrofotometre, Finlandiya) ve yazılım programı (Microplate Readers için SkanIt Yazılım 4.1) kullanılarak ölçüldü. Standart GSH çözeltisinin absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak örneklerin GSH konsantrasyonları mg GSH/l olarak hesaplandı.

3.3.8. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü

MDA düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile ticari spesifik kit (Cat: E-BC-K025-S, Elabscience Bionovation, Inc., Texas, USA) kullanılarak ölçüldü.

Yöntemin Prensipleri: Lipidlerin peroksit katabolitindeki MDA, tiobarbiturik asit (TBA) ile reaksiyona girer ve 532 nm'de maksimum absorbanı veren kırmızı bir bileşik oluşturur.

Yöntem: Kitin içeriğinde bulunan reaktifler, kitede belirtilen talimatlara uygun olarak hazırlandı.

Reaktifler ve çalışma solüsyonları:

R1: Clarificant, R2: Asit Reaktifi, R3: Kromojenik reaktif, R4: 10 µmol/l'lik standart

Asit reaktifi çalışma çözeltisinin hazırlanması: Her tüp için 3.0 ml asit reaktifi çalışma çözeltisi için 102.3 µl asit reaktifi ve 2897.7 µl bidistile su karıştırıldı.

Kromojenik çalışma solüsyonunun hazırlanması: Toz haldeki kromojenik reaktif 30 ml bidistile su (90~100°C) ile çözülüp ardından 30 ml glacial asetik asit eklendi, tamamen karıştırılarak oda sıcaklığına soğutuldu. Işıktan koruyarak 4°C'de muhafaza edildi.

Deney prosedürü:

Blank (Kör) tüp: Test tüplerine 200 µl mutlak etanol eklendi.

Standart tüp: Test tüplerine 200 µl 10 µmol/l'lik standart eklendi. Standart ölçümleri çalışmada triplik olarak yapıldı.

Numune tüpü: Numaralandırılmış test tüplerine 200 µl örnekler eklendi.

Her tüpe 200 µl clarificant (R1), 3 ml asit reaktifi çalışma çözeltisi ve 1 ml kromojenik uygulama çözeltisi eklenip, karıştırıldı ve tüpün ağzı plastik filmle kapatılıp, bir iğne ile küçük bir delik açıldı. Ardından tüpler 95-100°C'lik su banyosunda 40 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda tüpler musluk suyu ile oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 3100xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Her tüpün süpernatantından 250 µl alınıp, 96 kuyucuklu okuma plaklarına pipetlendi ve optik yoğunluklar 532 nm'de bir mikropilaka spektrofotometrede (ThermoScientific™ Multiskan™ GO Mikropilaka Spektrofotometre, Finlandiya) ve yazılım programı (Microplate Readers için SkanIt Yazılım 4.1) kullanılarak ölçüldü. Standart çözeltisinin absorbanı değerleri kullanılarak örneklerin MDA düzeyleri µmol/l olarak hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 22.0 yazılımı (Statistical Package for the Social Sciences; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler kapsamında, kategorik veriler sayı (n) ve yüzde (%) olarak, sürekli değişkenler ise ortalama \pm standart sapma (Ort. \pm SS) şeklinde sunulmuştur. Kategorik değişkenler arasındaki farkların incelenmesinde Pearson Ki-kare testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin dağılım özellikleri Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. İki grup arasındaki karşılaştırmalarda, normal dağılım gösteren veriler için Student's t-testi, normal dağılım göstermeyen veriler için ise Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla Spearman korelasyon analizi yapılmıştır. SLC7A11 ve NEAT1 düzeylerinin tanısal değerini belirlemek üzere ROC (Receiver Operating Characteristic) eğrileri oluşturulmuştur. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri

Çalışmaya 40 DEHB ve 40 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 80 çocuk dahil edilmiştir. Vaka grubunda olanların % 25'i kız ve % 75'i erkek iken kontrol grubunda olanların % 35'i kız ve % 65'i erkek olup aralarında anlamlı farklılık görülmedi. ($p=0,329$). Vaka grubunda olanların yaş ortalaması $9,07\pm 1,72$ yıl, kontrol grubun olanların yaş ortalaması $9,45\pm 1,77$ yıl olup aralarında anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,339$). Vaka grubunda çocukların % 35,0'nın kardeş sayısı ≤ 2 iken, % 25'inin 3 ve % 40'nın ise ≥ 4 olduğu; kontrol grubunda çocukların % 32,5'inin kardeş sayısı ≤ 2 iken, % 35'inin 3 ve % 32,5'inin ise ≥ 4 olduğu görülmüş olup gruplar arasında kardeş sayısı açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,602$).

Vaka grubunda çocukların % 17,5'inin ekonomik durumu düşük, % 57,5'inin orta ve % 25,0'inin yüksek iken; kontrol grubunda % 7,5'inin ekonomik durumu düşük, % 60,0'nın orta ve % 32,5'inin ise yüksek olduğu görülmüş olup gruplar arasında ekonomik durum açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,592$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Grupların sosyodemografik özelliklerinin karşılaştırılması

		Vaka (n=40)		Kontrol (n=40)		p*
		n	%	n	%	
Cinsiyet	Kız	10	25,0	14	35,0	0,329
	Erkek	30	75,0	26	65,0	
Yaş (yıl), Ort±SS		9,07±1,72		9,45±1,77		0,339**
Kardeş sayısı	≤ 2	14	35,0	13	32,5	0,602
	3	10	25,0	14	35,0	
	≥ 4	16	40,0	13	32,5	
Ekonomik durum	Düşük	7	17,5	7	17,5	0,592
	Orta	23	57,5	19	47,5	
	Yüksek	10	25,0	14	35,0	

*Kikare analizi, **Student t testi uygulanmıştır.

Vaka grubunda çocukların % 20,0'sinin erken, % 80,0'ının zamanında doğduğu; kontrol grubunda ise % 12,5'inin erken ve % 87,5'inin zamanında doğduğu görülmüş olup gruplar arasında doğum zamanı açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,363$). Vaka grubunda çocukların % 35,0'inin normal doğum ve % 65,0'inin sezaryen ile doğduğu; kontrol grubunda ise % 40,0'ının normal doğum ve % 60,0'ının sezaryen ile doğduğu belirlenmiş olup gruplar arasında doğum şekli açısından anlamlı fark bulunmadı. ($p=0,644$). Vaka grubunda çocukların % 10,0'ının doğum ağırlığının <2000 gr, % 82,5'inin 2000–4000 gr ve % 7,5'inin >4000 gr olduğu; kontrol grubunda ise % 10,0'ının <2000 gr, % 80,0'ının 2000–4000 gr ve % 10,0'ının >4000 gr doğum ağırlığına sahip olduğu görülmüş olup gruplar arasında doğum ağırlığı açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0,924$). Vaka grubunda çocukların % 17,5'inin kuvözde kaldığı, % 82,5'inin kalmadığı; kontrol grubunda ise % 22,5'inin kuvözde kaldığı, % 77,5'inin kalmadığı belirlenmiş olup gruplar arasında kuvözde kalma durumu açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,576$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Grupların doğumla ilgili özelliklerinin karşılaştırılması

		Vaka (n=40)		Kontrol (n=40)		p*
		n	%	n	%	
Doğum zamanı	Erken doğum	8	20,0	5	12,5	0,363
	Zamanında	32	80,0	35	87,5	
Doğum şekli	Normal doğum	14	35,0	16	40,0	0,644
	Sezeryan	26	65,0	24	60,0	
Doğum ağırlığı	<2000 gr	4	10,0	4	10,0	0,924
	2000-4000 gr	33	82,5	32	80,0	
	>4000 gr	3	7,5	4	10,0	
Kuvöz	Var	7	17,5	9	22,5	0,576
	Yok	33	82,5	31	77,5	

*Kikare analizi uygulanmıştır.

Vaka grubunda çocukların % 25,0'inin okul başarısı kötü, % 42,5'inin orta ve % 32,5'inin iyi olarak bildirilmişken; kontrol grubunda % 0'ının kötü, % 5,0'ının orta ve % 95,0'ının iyi olduğu görülmüş olup gruplar arasında okul başarısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p < 0,001$). Vaka grubunda çocukların % 82,5'inin gelişim basamaklarının zamanında tamamlandığı, % 17,5'inin ise gecikmiş olduğu; kontrol grubunda ise % 95,0'ının gelişim basamaklarının zamanında tamamlandığı ve % 5,0'ının gecikmiş olduğu belirlenmiş olup gruplar arasında gelişim basamakları açısından anlamlı fark bulunmadı ($p = 0,154$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Grupların gelişim basamağı ve okul başarısının karşılaştırılması

		Vaka (n=40)		Kontrol (n=40)		p*
		n	%	n	%	
Gelişim basamakları	Zamanında	33	82,5	38	95,0	0,154
	Gecikmiş	7	17,5	2	5,0	
	Kötü	10	25,0	0	,0	
Okul başarısı	Orta	17	42,5	2	5,0	<0,001
	İyi	13	32,5	38	95,0	

*Kikare analizi uygulanmıştır.

Vaka grubunda babaların % 60,0'nin eğitim düzeyi ortaokul ve altı, % 40,0'nin lise ve üzeri iken; kontrol grubunda bu oranlar sırasıyla % 35,0 ve % 65,0 olup, gruplar arasında baba eğitim düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,024$). Vaka grubunda annelerin % 57,5'inin eğitim durumu ortaokul ve altı, % 42,5'inin lise ve üzeri iken; kontrol grubunda da bu oranlar sırasıyla % 57,5 ve % 42,5 olup iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=1,000$). Vaka grubunda annelerin % 25,0'inin çalıştığı, % 75,0'inin çalışmadığı; kontrol grubunda ise % 37,5'inin çalıştığı ve % 62,5'inin çalışmadığı belirlenmiş olup gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,228$).

Annelerin yaş ortalaması vaka grubunda $36,78\pm 6,07$ yıl, kontrol grubunda ise $36,90\pm 4,52$ yıl olup aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,917$). Her iki grupta da babaların % 92,5'i çalışmakta, % 7,5'i çalışmamaktadır. Baba çalışma durumu açısından anlamlı fark görülmedi ($p=1,000$). Babaların yaş ortalaması vaka grubunda $41,08\pm 6,58$ yıl, kontrol grubunda $40,90\pm 4,70$ yıl olup aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,891$).

Vaka grubunda annelerin % 17,5'inde kronik hastalık mevcutken, kontrol grubunda bu oran % 5,0'dur. Gruplar arasında anlamlı fark yoktur ($p=0,154$). Annelerde psikiyatrik hastalık varlığı vaka grubunda % 12,5, kontrol grubunda % 0,0 olup fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,055$). Babada kronik hastalık vaka grubunda % 0,0, kontrol grubunda % 5,0 olup anlamlı fark bulunmadı ($p=0,494$). Babada psikiyatrik hastalık vaka grubunda % 0,0, kontrol grubunda % 7,5 oranında bildirilmiş olup anlamlı fark saptanmadı ($p=0,241$).

Anne-baba arasında akrabalık ilişkisi vaka grubunda % 17,5, kontrol grubunda % 12,5 oranında bulunmuş olup anlamlı fark gözlenmedi ($p=0,531$)(Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Grupların ebeveyn ile ilgili özelliklerinin karşılaştırılması

		Vaka (n=40)		Kontrol (n=40)		p*
		n	%	n	%	
Anne eğitim durumu	Ortaokul ve altı	23	57,5	23	57,5	1,000
	Lise ve üzeri	17	42,5	17	42,5	
Anne çalışma durumu	Çalışıyor	10	25,0	15	37,5	0,228
	Çalışmıyor	30	75,0	25	62,5	
Anne yaş, Ort±SS		36,78±6,07		36,90±4,52		0,917**
Baba eğitim durumu	Ortaokul ve altı	24	60,0	14	35,0	0,024
	Lise ve üzeri	16	40,0	26	65,0	
Baba çalışma durumu	Çalışıyor	37	92,5	37	92,5	1,000
	Çalışmıyor	3	7,5	3	7,5	
Baba yaş, Ort±SS		41,08±6,58		40,90±4,70		0,891**
Annede kronik hastalık	Var	7	17,5	2	5,0	0,154
	Yok	33	82,5	38	95,0	
Annede psikiyatrik hastalık	Var	5	12,5	0	,0	0,055
	Yok	35	87,5	40	100,0	
Babada kronik hastalık	Var	0	,0	2	5,0	0,494
	Yok	40	100,0	38	95,0	
Babada psikiyatrik hastalık	Var	0	,0	3	7,5	0,241
	Yok	40	100,0	37	92,5	
Anne baba akrabalık	Var	7	17,5	5	12,5	0,531
	Yok	33	82,5	35	87,5	
Aile tipi	Çekirdek aile	36	90,0	36	90,0	1,000
	Boşanmış	4	10,0	4	10,0	

*Kikare analizi, ** Student t testi uygulanmıştır.

4.2. Katılımcıların klinik özellikleri

Vaka grubunda çocukların % 55,0'inde herhangi bir psikiyatrik tanı bulunmazken, kontrol grubundaki tüm çocukların (% 100,0) herhangi bir tanısı yoktur. Vaka grubunda çocukların % 22,5'inde yalnızca KOKGB, % 15,0'inde KOKGB ve davranış bozukluğu birlikte, % 2,5'inde yalnızca davranış bozukluğu, % 2,5'inde enürezis enkoprezis, % 2,5'inde KOKGB + davranış bozukluğu + tik bozukluğu birlikte saptandı. Kontrol grubunda bu tanıların hiçbiri görülmemiştir. Gruplar arasında KSADS sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).

Tablo 4.5. Grupların KSADS sonuçlarının karşılaştırılması

	Vaka (n=40)		Kontrol (n=40)		p*
	n	%	n	%	
Yok	22	55,0	40	100,0	
KOKGB	9	22,5	0	,0	
KOKGB ve davranış bozukluğu	6	15,0	0	,0	
Davranış bozukluğu	1	2,5	0	,0	<0,001
Enürezis enkoprezis	1	2,5	0	,0	
KOKGB + davranış bozukluğu +tik	1	2,5	0	,0	

*Kikare analizi uygulanmıştır.

Vaka grubunda olanların CADÖ-YK karşı gelme ($p<0,001$), CADÖ-YK dikkatsizlik ($p<0,001$), CADÖ-YK hiperaktivite ($p<0,001$) ve CADÖ-YK DEHB indeksi ($p<0,001$) puanları kontrol grubunun puanından anlamlı şekilde yüksek bulundu (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Grupların CADÖ-YK sonuçlarının karşılaştırılması

	Vaka	Kontrol	p*
	Ort±SS	Ort±SS	
Karşı gelme	9,70±4,84	3,18±3,00	<0,001
Dikkatsizlik	12,53±4,08	1,35±1,55	<0,001
Hiperaktivite	10,78±3,84	1,22±1,56	<0,001
DEHB indeksi	24,33±5,86	4,33±3,65	<0,001

*Mann Whitney U testi uygulanmıştır.

Vaka grubunda olanların CÖDÖ-YK karşı gelme ($p<0,001$), dikkatsizlik ($p<0,001$), hiperaktivite ($p<0,001$), DEHB indeksi dikkatsizlik ($p<0,001$) ve DEHB indeksi hiperaktivite ($p<0,001$) puanları kontrol grubunun puanından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Grupların CÖDÖ-YK sonuçlarının karşılaştırılması

	Vaka	Kontrol	p*
	Ort±SS	Ort±SS	
Karşı gelme	4,85±3,51	0,15±0,43	<0,001
Dikkatsizlik	6,25±3,43	0,10±0,38	<0,001
Hiperaktivite	15,73±4,28	0,42±0,84	<0,001
DEHB indeksi dikkatsizlik	12,55±2,6	0,50±0,75	<0,001
DEHB indeksi hiperaktivite	10,27±2,93	0,28±0,55	<0,001

*Mann Whitney U testi uygulanmıştır.

4.3. Katılımcıların Stroop Testi TBAG Formu Özellikleri

Bölüm 1 Stroop toplam süre ($p=0,001$) ve düzeltme sayısı ($p=0,022$) açısından vaka grubunun puanları kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu. Bölüm 2 Stroop toplam süre açısından vaka grubunun puanları kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,001$). Bölüm 3 Stroop toplam süre ($p<0,001$), hata sayısı ($p=0,024$) ve düzeltme sayısı ($p<0,001$) da vaka grubunda anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Bölüm 4 Stroop toplam süre ($p<0,001$) ve düzeltme sayısı ($p=0,001$) açısından vaka grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek puan aldığı görüldü. Bölüm 5 Stroop toplam süre ($p<0,001$), hata sayısı ($p<0,001$) ve düzeltme sayısı ($p<0,001$) yönünden de vaka grubunun değerleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Grupların Stroop sonuçlarının karşılaştırılması

		Vaka	Kontrol	p*
		Ort±SS	Ort±SS	
Bölüm 1	Toplam süre	16,13±5,77	12,68±3,31	0,001
	Hata sayısı	0,05±0,22	0,00±0,00	0,155
	Düzeltilme sayısı	0,15±0,43	0,00±0,00	0,022
Bölüm 2	Toplam süre	18,42±8,11	13,38±4,96	<0,001
	Hata sayısı	0,50±2,29	0,02±0,16	0,162
	Düzeltilme sayısı	0,23±0,58	0,05±0,32	0,053
Bölüm 3	Toplam süre	22,15±5,36	17,60±4,42	<0,001
	Hata sayısı	0,33±0,76	0,03±0,16	0,024
	Düzeltilme sayısı	0,67±0,76	0,13±0,40	<0,001
Bölüm 4	Toplam süre	33,85±10,24	24,55±6,57	<0,001
	Hata sayısı	0,53±0,93	0,15±0,36	0,063
	Düzeltilme sayısı	1,45±1,43	0,45±0,71	0,001
Bölüm 5	Toplam süre	45,95±16,5	30,60±7,13	<0,001
	Hata sayısı	2,78±3,55	0,33±0,69	<0,001
	Düzeltilme sayısı	2,78±1,79	0,83±0,87	<0,001

*Mann Whitney U testi uygulanmıştır.

4.4. Katılımcıların SLC7A11 Mrna, GPX4 Mrna, NEAT1 LncRNA, Oksidatif Stres Marker Değerleri

Vaka grubunda olanların SLC7A11 fold ($p<0,001$) ve NEAT1 fold ($p<0,001$) değerleri kontrol grubunun değerlerinden anlamlı şekilde düşük bulundu. (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Vaka ve kontrol gruplarının gen ekspresyon düzeyleri ile oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Vaka	Kontrol	p*
	Ort±SS	Ort±SS	
SLC7A11	13,83±3,21	11,35±2,45	<0,001
NEAT1	5,23±1,80	3,85±1,33	<0,001**
GPX4	2,05±1,12	2,27±0,66	0,294**
GPX4elisa	65,04±38,44	68,20±50,17	0,590
GSH	8,35±0,96	8,30±0,93	0,686
MDA	6,52±0,68	6,79±1,5	0,725
SLC7A11 fold	0,77±1,52	5,06±17,03	<0,001
NEAT1 fold	0,84±1,27	1,55±1,69	<0,001
GPX4 fold	0,95±4,3	1,40±1,51	0,610

*Mann Whitney U testi, **Student t testi uygulanmıştır

Gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında anlamlı korelasyon görülmedi. (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin birbirleri ile korelasyonu

		SLC7A11	NEAT1	GPX4	GPX4elisa	GSH	MDA	SLC7A11 fold	NEAT1 fold
NEAT1	r	0,075							
	p	0,644							
GPX4	r	0,206	0,292						
	p	0,202	0,068						
GPX4elisa	r	-0,194	-0,225	-0,259					
	p	0,231	0,162	0,107					
GSH	r	0,107	-0,015	0,125	-0,227				
	p	0,510	0,924	0,441	0,159				
MDA	r	-0,008	0,071	0,131	-0,171	-0,270			
	p	0,961	0,665	0,422	0,291	0,092			
SLC7A11 fold	r	-0,999	-0,071	-0,201	0,190	-0,107	0,014		
	p	<0,001	0,661	0,214	0,241	0,510	0,929		
NEAT1 fold	r	-0,079	-1,000	-0,294	0,228	0,014	-0,072	0,075	
	p	0,630	<0,001	0,065	0,157	0,933	0,659	0,647	
GPX4 fold	r	-0,047	-0,233	-0,248	-0,111	-0,013	-0,141	0,043	0,232
	p	0,773	0,148	0,124	0,495	0,934	0,387	0,793	0,150

Hem NEAT1 fold ile baba yaşı arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon görüldü hem de GPX4 fold ile baba yaşı arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı (Tablo 4.11)

Tablo 4.11. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin sosyodemografik özellikler ile korelasyonu

		SLC7A11	NEAT1	GPX4	GPX4 elisa	GSH	MDA	SLC7A11 fold	NEAT1 fold	GPX4 fold
Yaş	r	-0,025	-0,085	-0,254	0,024	-0,052	0,009	0,019	0,081	0,121
	p	0,878	0,600	0,114	0,882	0,752	0,954	0,906	0,617	0,458
Anne yaş	r	0,076	-0,147	-0,075	-0,016	-0,139	0,158	-0,070	0,142	0,140
	p	0,639	0,364	0,647	0,923	0,394	0,330	0,667	0,382	0,387
Baba yaş	r	-0,090	-0,345	-0,077	-0,031	0,118	0,121	0,092	0,337	0,330
	p	0,582	0,029	0,639	0,850	0,470	0,456	0,572	0,033	0,038
Ekonomik durum	r	0,003	-0,297	0,039	0,095	0,017	0,205	0,007	0,292	0,023
	p	0,987	0,063	0,811	0,560	0,919	0,205	0,964	0,068	0,886
Doğum ağırlığı	r	0,160	-0,151	0,009	0,056	0,036	0,054	-0,161	0,151	-0,036
	p	0,323	0,351	0,958	0,733	0,826	0,740	0,322	0,351	0,825
Okul başarısı	r	-0,026	-0,125	0,151	0,149	-0,165	0,174	0,022	0,123	-0,140
	p	0,872	0,444	0,352	0,358	0,310	0,284	0,892	0,449	0,388

Vaka grubunda yapılan korelasyon analizinde NEAT1 fold ile CADÖ-YK Dikkatsizlik ve DEHB indeksi arasında negatif yönde anlamlı korelasyon görüldü. GPX4 fold ile CADÖ-YK Dikkatsizlik, CADÖ-YK hiperaktivite ve DEHB indeksi arasında negatif yönde anlamlı korelasyon görüldü (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin CADÖ-YK ile korelasyonu

		SLC7A11	NEAT1	GPX4	GPX4 elisa	GSH	MDA	SLC7A11 fold	NEAT1 fold	GPX4 fold
Karşı gelme	r	-0,067	0,248	-0,202	-0,074	-0,278	0,061	0,069	-0,245	-0,026
	p	0,681	0,123	0,211	0,650	0,083	0,707	0,670	0,127	0,872
Dikkatsizlik	r	0,013	0,387	0,125	0,058	0,064	0,303	-0,012	-0,387	-0,354
	p	0,935	0,014	0,441	0,722	0,696	0,057	0,940	0,014	0,025
Hiperaktivite	r	0,073	0,184	-0,092	-0,002	0,249	0,051	-0,068	-0,184	-0,375
	p	0,656	0,255	0,573	0,988	0,122	0,754	0,678	0,256	0,017
DEHB indeksi	r	-0,046	0,374	0,178	0,022	-0,001	0,293	0,052	-0,375	-0,465
	p	0,776	0,017	0,271	0,890	0,995	0,066	0,750	0,017	0,003

Vaka grubunda yapılan korelasyon analizinde GPX4 ile CÖDÖ-YK Dikkatsizlik arasında negatif yönde anlamlı korelasyon görüldü (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin CÖDÖ-YK ile korelasyonu

		SLC7A11	NEAT1	GPX4	GPX4 elisa	GSH	MDA	SLC7A11 fold	NEAT1 fold	GPX4 fold
Karşı gelme	r	-0,141	0,006	-0,028	0,078	-0,216	0,208	0,146	-0,004	0,258
	p	0,387	0,970	0,866	0,632	0,180	0,198	0,368	0,981	0,109
Dikkatsizlik	r	-0,211	0,040	-0,369	-0,060	-0,125	0,177	0,207	-0,040	0,022
	p	0,190	0,806	0,019	0,712	0,441	0,273	0,199	0,807	0,891
Hiperaktivite	r	-0,049	0,051	0,231	-0,090	0,103	0,020	0,061	-0,047	0,308
	p	0,762	0,753	0,151	0,581	0,526	0,901	0,711	0,773	0,053
DEHB indeksi dikkatsizlik	r	-0,277	-0,176	-0,307	-0,112	0,094	0,098	0,278	0,178	0,039
	p	0,084	0,278	0,054	0,491	0,566	0,548	0,083	0,272	0,809
DEHB indeksi hiperaktivite	r	-0,076	0,024	0,148	-0,260	0,030	0,053	0,085	-0,023	0,152
	p	0,641	0,884	0,362	0,105	0,853	0,743	0,603	0,889	0,349

Vaka grubunda yapılan korelasyon analizinde SLC7A11 fold ile Stroop bölüm 4 toplam süre ve Stroop bölüm 5 toplam süre arasında negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edildi. NEAT1 fold ile Stroop bölüm 1 toplam süre, Stroop bölüm 3 toplam süre, Stroop bölüm 5 hata sayısı ve Stroop bölüm 5 düzeltme sayısı arasında negatif yönde anlamlı korelasyon belirlendi. GPX4 fold ile Stroop bölüm 5 düzeltme sayısı arasında negatif yönde anlamlı korelasyon belirlenmiştir. GPX4 elisa ile Stroop bölüm 2 hata sayısı arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı. GSH ile Stroop bölüm 3 düzeltme sayısı arasında negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edildi. MDA ile Stroop bölüm 3 hata sayısı arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon belirlendi(Tablo 4.14).

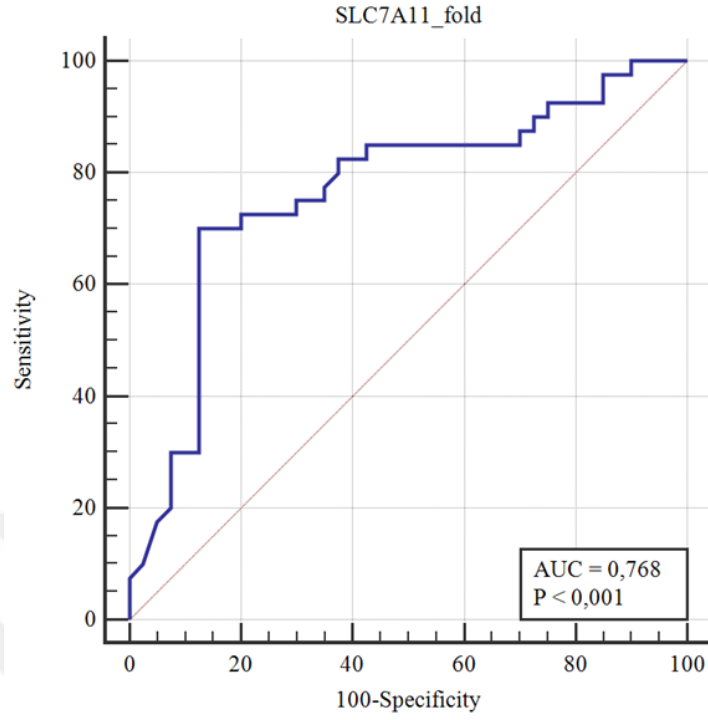
Tablo 4.14. Vaka grubunda gen ekspresyon düzeyleri ve oksidatif stres parametrelerinin Stroop sonuçları ile korelasyonu

		SLC7A11	NEAT1	GPX4	GPX4 elisa	GSH	MDA	SLC7A11 fold	NEAT1 fold	GPX4 fold
Stroop bölüm 1 toplam süre	r	0,048	0,488	0,156	-0,125	-0,105	0,100	-0,046	-0,488	-
	p	0,769	0,001	0,336	0,442	0,519	0,538	0,777	0,001	0,190
Stroop bölüm 1 hata sayısı	r	-0,129	0,030	-0,248	-0,030	-0,080	-0,184	0,129	-0,030	0,209
	p	0,427	0,855	0,122	0,855	0,626	0,255	0,427	0,855	0,196
Stroop bölüm 1 düzeltme sayısı	r	-0,258	-0,003	0,086	-0,011	-0,168	0,152	0,258	0,003	0,067
	p	0,108	0,987	0,598	0,947	0,300	0,349	0,108	0,985	0,682
Stroop bölüm 2 toplam süre	r	0,062	0,306	0,134	0,081	0,031	0,076	-0,055	-0,299	-
	p	0,705	0,055	0,410	0,618	0,847	0,642	0,738	0,061	0,189
Stroop bölüm 2 hata sayısı	r	-0,048	0,122	-0,205	0,343	0,109	0,059	0,055	-0,119	-
	p	0,769	0,452	0,204	0,030	0,501	0,718	0,737	0,466	0,128
Stroop bölüm 2 düzeltme sayısı	r	-0,049	-0,244	-0,068	0,075	0,062	0,025	0,043	0,251	0,058
	p	0,765	0,129	0,677	0,646	0,703	0,878	0,791	0,118	0,722
Stroop bölüm 3 toplam süre	r	0,216	0,330	0,124	0,058	-0,077	-0,002	-0,207	-0,333	-
	p	0,182	0,038	0,445	0,723	0,636	0,988	0,199	0,036	0,218
Stroop bölüm 3 hata sayısı	r	0,042	0,050	-0,043	-0,136	-0,247	0,322	-0,035	-0,053	0,239
	p	0,797	0,758	0,792	0,403	0,124	0,043	0,829	0,747	0,138
Stroop bölüm 3 düzeltme sayısı	r	-0,052	0,112	0,012	0,029	-0,315	0,202	0,058	-0,113	-
	p	0,748	0,493	0,939	0,859	0,048	0,211	0,722	0,487	0,127
Stroop bölüm 4 toplam süre	r	0,341	0,157	0,284	-0,118	-0,072	-0,107	-0,332	-0,155	-
	p	0,031	0,334	0,075	0,468	0,657	0,511	0,036	0,338	0,055
Stroop bölüm 4 hata sayısı	r	-0,129	0,207	0,169	-0,110	0,140	0,146	0,128	-0,203	-
	p	0,429	0,199	0,297	0,501	0,389	0,370	0,431	0,209	0,251
Stroop bölüm 4 düzeltme sayısı	r	-0,129	0,207	-0,015	-0,127	-0,013	-0,235	0,128	-0,201	-
	p	0,427	0,200	0,927	0,435	0,936	0,144	0,432	0,214	0,097
Stroop bölüm 5 toplam süre	r	0,341	0,192	0,290	0,032	-0,134	-0,086	-0,331	-0,189	-
	p	0,031	0,236	0,069	0,843	0,411	0,600	0,037	0,243	0,139
Stroop bölüm 5 hata sayısı	r	0,198	0,436	0,297	-0,298	-0,141	0,018	-0,197	-0,436	0,040
	p	0,221	0,005	0,063	0,062	0,386	0,911	0,224	0,005	0,804
Stroop bölüm 5 düzeltme sayısı	r	0,165	0,442	0,268	-0,175	-0,160	-0,136	-0,165	-0,440	-
	p	0,308	0,004	0,094	0,279	0,323	0,403	0,307	0,005	0,388

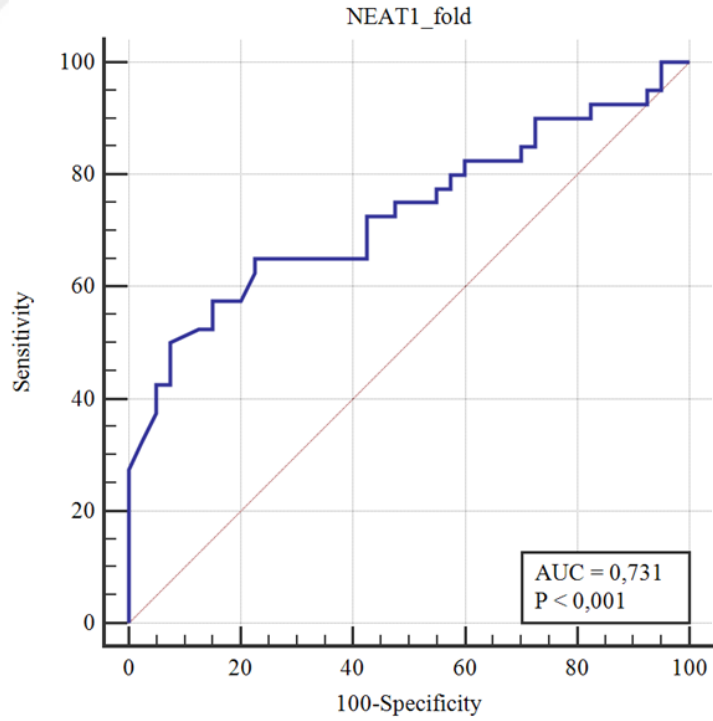
SLC7A11 fold ve NEAT1 fold değerinin DEHB'yi predikte edebilmeleri ROC analizi ile araştırıldı ve cut-off değerleri belirlendi. SLC7A11 fold için 0,46 değeri cut-off olarak alındığında % 70 sensitivite, % 87,5 spesifite saptandı ve iyi bir belirleyici olduğu görülmüştür. NEAT1 fold için 0,31 değeri cut-off olarak alındığında % 50 sensitivite, % 92,5 spesifite saptandı ve iyi bir belirleyici olduğu görüldü. (Tablo 4.15, Şekil 4.1).

Tablo 4.15. Ölçülen parametrelerin DEHB'yi belirlemedeki spesifite ve sensitivite

	Alan	p	% 95 güven aralığı		Sensitivite	Spesifite	PPD	NPD
			Alt sınır	Üst sınır				
SLC7A11>12,42	0,769	<0,001	0,661	0,856	70,0	87,5	84,8	74,5
NEAT1>5,5	0,732	<0,001	0,621	0,825	52,5	92,5	87,5	66,1
SLC7A11 fold≤0,46	0,768	<0,001	0,660	0,855	70	87,5	84,8	74,5
NEAT1 fold≤0,31	0,731	<0,001	0,620	0,824	50	92,5	87,0	64,9



Şekil 4.1. DEHB için SLC7A11 fold değerinin ROC Eğrisi



Şekil 4.2. DEHB için NEAT1 fold değerinin ROC Eğrisi

5. TARTIŞMA

Araştırmamız daha önce DEHB ile benzer genetik örtüşmeler gösteren psikiyatrik hastalıklarda ilişkisi NEAT1 lncRNA ve SLC7A11 mRNA genlerinin hem DEHB ile olan ilişkisi hem de yürütücü işlevler ve oksidatif stresle olan ilişkisini araştırmak amacı ile planlanmıştır. Araştırmamızda yeni tanı alan birleşik tip DEHB'li çocuklarla sağlıklı kontroller sosyodemografik özellikler, yürütücü işlevler, NEAT1 lncRNA ile SLC7A11 mRNA ekspresyon düzeyi açısından karşılaştırılmıştır. Ayrıca bunların yürütücü işlevler ve oksidatif stres markerlarıyla (GPX4, MDA, GSH) olan ilişkisine bakılmıştır. Bildiğimiz kadarıyla DEHB'li çocuk ve ergenlerde sınırlı sayıda lncRNA çalışması yapılmış olup yürütücü işlevler, oksidatif stres ile ilişkili lncRNA'lar henüz incelenmemiştir. Bu bağlamda araştırmamız DEHB'nin yürütücü işlevler ve oksidatif stres ile lncRNA'lar arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk araştırmadır.

5.1. Katılımcıların Sosyodemografik Bilgilerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda vaka ve kontrol grupları, yaş ve cinsiyet açısından benzer özellikler göstermektedir. DEHB grubunun cinsiyet dağılımı incelendiğinde, erkek/kadın oranının 3,3:1 olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, literatürdeki verilerle de uyumlu olup, DEHB'nin erkeklerde daha yaygın görüldüğünü öne süren pek çok çalışma ile paralellik göstermektedir. Cinsiyet oranı, çalışmanın yapıldığı örneklem türüne bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir; klinik örneklemelerde bu oran 9:1 gibi yüksek değerlere ulaşabilirken, toplum temelli araştırmalarda 3:1 seviyelerine kadar düşebilmektedir (163). Polanczyk ve arkadaşlarının 2008 yılında gerçekleştirdiği geniş kapsamlı bir meta-analiz, DEHB'nin erkeklerde kızlara kıyasla 2,4 kat daha sık görüldüğünü ortaya koymuştur. Benzer şekilde, 2015 yılında ülkemizde yapılan bir araştırma, bu oranın 2,8 olduğunu bildirmiştir (25, 164).

Literatürde yer alan birçok çalışmada doğum ağırlığı düşük olan ve preterm doğumlarda DEHB riskinin arttığını göstermiştir (165). Ancak bazı çalışmalarda prematürite ile DEHB arasında istatistiksel anlamlı bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır (166, 167). Bizim çalışmamızda da gruplar arasında hem doğum ağırlığı açısından hem de doğum zamanı açısından anlamlı bir fark saptanmadı.

Araştırmaya katılan gruplar arasında anne ve babaların yaşı, eğitim durumu, ebeveynler arasındaki akrabalık ilişkisi, aile tipi ve sosyoekonomik seviye bakımından anlamlı bir fark tespit edilmedi. Bu benzerlik, gruplar arası karşılaştırmalarda dış etkenlerin neden olabileceği karışıklıkları azaltarak sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır. Bununla birlikte, bazı çalışmalar ebeveynlerin düşük eğitim düzeyi, fiziksel güç gerektiren mesleklerde çalışma durumu ve işsizlik gibi sosyoekonomik zorlukların, çocuklarda DEHB riskini artırabileceğini ortaya koymuştur (168, 169). Ebeveynlerin meslekleri ile DEHB arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalarda ise yöntem farklılıkları sebebiyle çelişkili bulgular elde edilmiştir. Bazı araştırmalar, bizim çalışmamızı destekler nitelikte ebeveynlerin meslek grupları ile DEHB arasında anlamlı bir bağlantı bulmazken, diğer bir çalışmada ise ev hanımı olan annelerin çocuklarında DEHB görülme olasılığının, çalışan annelerin çocuklarına kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (170).

Çalışmamızda ebeveyn psikopatolojisi açısından vaka ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Literatüre bakıldığında ebeveynlerde psikiyatrik hastalık varlığı, kalıtımsallık riski haricinde, ebeveynlik tarzını da etkileyebileceği için çocuğun psikososyal işlevselliği üzerinde önemlidir. Ve çocukların psikiyatrik tanılarıyla ilişkili bulunmuştur (171). Bulduğumuz sonucun tersine birçok çalışma, DEHB'li çocukların ebeveynlerinde psikopatoloji varlığının oldukça yaygın olduğunu saptamıştır. Yapılan bir metaanaliz çalışmasında DEHB'li çocuğa sahip ebeveynlerin, sağlıklı çocuklara sahip ebeveynlere göre 2,85 kat daha fazla psikopatoloji geliştirme riski gösterdiği bulunmuştur (172). Literatürden farklı sonuçlar elde etmemizin sebepleri arasında ebeveynlerin ruhsal durumunu değerlendirmek amaçlı yapılandırılmış bir görüşme sağlanmadığı verilerin ailelerin sözel bildirimine dayalı olarak elde edilmesinin etkili olduğu düşünülmüştür.

Okul başarısı, çocuğun okul ortamında sergilediği performansı ifade eder ve çok yönlü ele alınması gereken bir konudur. Çocuğun sadece bilgi düzeyi değil, aynı zamanda dikkatini sürdürebilme, öğrenme sürecine aktif katılımı, görev bilinci ve zaman yönetimi gibi çeşitli bilişsel ve davranışsal faktörleri tarafından da şekillenir. DEHB'li bireylerin sayılan birçok alanda zorlandıkları artık bilinen bir gerçektir. Yapılan çalışmalar da DEHB'li bireylerin akademik güçlükler yaşadıkları, okul performanslarının akranlarına göre daha düşük seyrettiği gösterilmiştir (173). Bizim

çalışmamızda da benzer şekilde DEHB'li grupta akademik başarı sağlıklı kontrollere göre daha düşük saptandı ($p<0,001$). Bu da DEHB yönelik eğitim stratejilerinde ileriye dönük çalışmaların arttırılması gerektiğini düşündürmüştür.

5.2. Ölçeklerden ve Yapılan Testlerden Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

DEHB, yüksek komorbidite oranlarıyla dikkat çeken nörogelişimsel bozukluklardan biridir (174). Yapılan araştırmalar, DEHB ile en sık birlikte görülen psikiyatrik tablonun Karşıt Olma Karşı Gelme Bozukluğu (KOKGB) olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmanın bulguları da mevcut literatürle örtüşmektedir. Nitekim vaka grubundaki çocukların % 45'inde en az bir psikiyatrik tanıya rastlanmıştır. Özellikle KOKGB'nin (% 22,5) tek başına ya da davranış bozukluğu ve tik bozuklukları ile birlikte görülme oranının (% 15) yüksek oluşu, DEHB ile komorbid seyredabilen psikiyatrik durumların çeşitliliğine işaret etmektedir (175).

Bu çalışmada stroop Testi TBAG Formu'nun değerlendirilmesinde öncelikli olarak her bölümün tamamlanma süreleri ve hata puanları dikkate alınmıştır. Testin geliştiricilerinden Karakaş ve arkadaşlarının belirttiği üzere, puanlama sürecinde her bölüm için bitirme süreleri temel alınabilir. Bulgulara göre, testin ilk iki bölümü hem vaka hem de kontrol grubu tarafından diğer bölümlere kıyasla daha kısa sürede tamamlanmıştır. Ancak DEHB tanısı olan bireylerin bu bölümleri tamamlama süreleri, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha uzundur. Literatürde, ilk iki bölümdeki göreceli hızın, sözcük okumanın renk adlandırmaya kıyasla daha otomatik bir bilişsel süreç olmasıyla açıklanabileceği ifade edilmektedir (176).

Üçüncü bölümde, katılımcılardan renklendirilmiş dairelerin renklerini sırasıyla söylemeleri istenmiştir. Bu bölümde elde edilen sürelerin, ilk iki bölüme kıyasla belirgin şekilde arttığı görülmüştür. Dördüncü bölümde ise farklı renklerde yazılmış kelimelerin yalnızca renklerinin söylenmesi beklenmiştir. Bu bölümde de süre artışı gözlenmiştir. Her iki bölümde katılımcılar renk adlandırma görevini yerine getirmiş olsalar da, dördüncü bölümde sürelerin daha uzun olmasının muhtemel nedeni, katılımcıların otomatik olarak kelimeyi okumaya yönelmesi ve bu nedenle tepki ketlemede zorlanmalarıdır.

Stroop etkisi, bireylerden bir sözcüğün yazıldığı rengi söylemelerinin istendiği durumlarda, renk ile kelime arasındaki çelişki nedeniyle yanıt süresinin uzaması ve hata oranının artması olarak tanımlanır (177). Bu durum, yürütücü

işlevlerden biri olan tepki ketleme becerisiyle doğrudan ilişkilidir. Tepki ketleme süreçlerinde yaşanan bu zorluklar, DEHB tanısı almış çocuklarda sıkça rapor edilmiştir. 1980–1999 yılları arasında yapılan ve DEHB’li çocuklarla sağlıklı kontrol grubunun nöropsikolojik test performanslarının karşılaştırıldığı geniş ölçekli bir meta-analizde, Stroop Testi’nin kullanıldığı 17 çalışmanın 11’inde gruplar arasında anlamlı farklar saptanmıştır (178). Bu da testin, DEHB ile ilişkili yürütücü işlev bozukluklarını değerlendirmede duyarlı bir ölçüm aracı olduğunu göstermektedir.

Stroop etkisinin en belirgin şekilde gözlemlendiği beşinci bölümde ise, kontrol ve vaka grubu arasında dikkat çeken farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu bölümde, kelimenin anlamı ile yazıldığı renk arasında bir uyumsuzluk söz konusudur ve bu bilişsel çelişki, özellikle tepki ketleme becerilerini sınamaktadır. Bulgularımıza göre, beşinci bölüm, her iki grup açısından da en uzun sürede tamamlanan bölüm olmuş; ancak bu süre, DEHB tanısı olan çocuklarda anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Örneğin, dördüncü bölümde vaka grubunun ortalama tamamlama süresi 33 saniye iken, kontrol grubunda bu süre 24 saniye olarak hesaplanmıştır. Beşinci bölümde ise vaka grubunun ortalama süresi 45 saniyeye yükselmiş, kontrol grubunda ise bu süre 30 saniyede kalmıştır.

Bu doğrultuda, çalışmamızın bulguları literatürle tutarlılık göstermekte ve DEHB’li çocukların özellikle tepki ketleme alanlarında sağlıklı akranlarına kıyasla anlamlı düzeyde farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

5.3. Katılımcıların SLC7A11 mRNA, NEAT1 LncRNA, Oksidatif Stres

Sonuçlarının Değerlendirilmesi

LncRNA’lar, embriyonik kök hücrelerden merkezi sinir sistemi gibi farklı dokulara kadar spesifik ekspresyon kalıpları sergileyen, gen ekspresyonunun epigenetik ve transkripsiyonel düzenlenmesinde kritik rol oynayan moleküllerdir. Bu moleküller, hem transkripsiyonel düzeyde genlerin aktivitesini düzenleyebilir hem de transkripsiyon sonrası süreçlerde mRNA stabilitesi, translasyon ve hücrel lokalizasyon gibi mekanizmaları kontrol edebilirler. Bu nedenle, lncRNA’ların normal fizyolojik süreçlerin yanı sıra gelişimsel ve patolojik olayların düzenlenmesinde de önemli etkileri bulunmaktadır (179). LncRNA ekspresyonundaki bozukluklar veya bu moleküllerde meydana gelen mutasyonlar, hücrel işlevlerin ve homeostazın bozulmasına yol açarak çeşitli hastalıkların

patogenezinde katkıda bulunabilir. Psikiyatrik bozukluklar arasında şizofreni, bipolar bozukluk, otizm spektrum bozuklukları ve anksiyete bozuklukları gibi durumların, lncRNA'ların anormal ekspresyonu ve düzensizliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (180). Bu nedenle, lncRNA'lar sadece hastalıkların moleküler mekanizmalarını anlamak için değil, aynı zamanda potansiyel biyobelirteçler ve tedavi hedefleri olarak da dikkat çekmektedir.

Hücre çekirdeği içerisinde paraspeckle adıyla bilinen yapılar yer alır. Bu yapılar mRNA'nın çekirdek içinde tutulması ve depolanmasında rol oynar. Aynı zaman da hücreler stres altındayken (örneğin, oksidatif stres veya hipoksi), paraspeckle sayısı artabilir ve bu sayede hücre, stres koşullarına adaptasyon sağlayabilir (181). Tüm bunların dışında gen ekspresyonunun düzenlenmesinde de görev aldıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (182). Paraspeckle RNA bileşenleri ve proteinlerden oluşmaktadır. Ana RNA bileşen NEAT1 lncRNA'dır ve paraspeckle'ların yapısal temelini oluşturur (182). NEAT1 oksidatif stres durumunda meydana gelen DNA hasarına yanıt olarak, sitoplazmada yüksek oranda eksprese edilir ve patolojik genleri bastıran ve genom bütünlüğünü koruyan proteinlere bağlanır (183).

Literatürü incelediğimizde NEAT1 lncRNA ve DEHB ilişkisine dair bir çalışma bulamadık. Yapılan bir çalışmada NEAT1 uzun kodlamayan RNA'sının merkezi sinir sistemi işlevindeki rolü, NEAT1 geninin devre dışı bırakıldığı NEAT1 $-/-$ fare modeli kullanılarak araştırılmış ve bu farelerde tespit edilen davranışsal özelliklerin, (yani hiperaktivite, inhibisyon eksikliği, dürtüsellik) demans, bipolar bozukluk, şizofreni ve DEHB ile ilişkilendirilebileceğine dair kanıtlar sunmuştur (184). 2018 yılında OSB tanılı 31 çocuk ve 43 sağlıklı kontrole yapılan çalışmada periferik kanda NEAT1 lncRNA ekspresyon düzeylerinin daha yüksek olduğu ve BDNF ifadelerini düzenleyerek OSB etiolojisinde yer alabileceği düşünülmüştür (13). Başka bir çalışmada valproik asit (VPA) aracılığıyla OSB modeli oluşturulan sıçanlara motor-kordinasyon ve öğrenme- hafıza yeteneklerini incelemek için bir dizi davranış testi yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda hipokampal dokularında NEAT1'in yükseldiğini bulunmuş ve NEAT1'in baskılanması otizmle ilişkili davranışları azalttığı ve hipokampal nöronal hasarı iyileştirdi gösterilmiştir. Aynı zamanda literatürden farklı olarak NEAT1 baskılanmasının oksidatif stres ve inflamatuvar

süreci azalttığı saptanmıştır (154). DEHB ile OSB arasında yüksek genetik örtüşme olduğu bilinmektedir. Yapılan genetik çalışmalar, her iki bozukluğun da ortak poligenik risk faktörleri ve nörogelişimsel süreçleri paylaştığını göstermiştir (185). Bu bilgilere dayanarak NEAT1'in DEHB etiolojisinde yer alabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda, DEHB tanısı almış çocuklarda, NEAT1 fold lncRNA kan ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Buna ek olarak, şaşırtıcı bir şekilde sosyodemografik değişkenlerden baba yaşı ile NEAT1 fold ekspresyon düzeyi arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptandı ($p < 0,029$). Mevcut literatür NEAT1 seviyesindeki azalmanın GPX4 seviyesinde azalma ile sonuçlanacağına dair kanıtlar sunmaktadır (186). Ancak bulgularımız da dikkat çekici olarak GPX4 ile anlamlılık sınırıma yakın düzeyde negatif bir korelasyon saptadık ($r = -0,294$, $p = 0,065$). Ayrıca, CADÖ-YK kapsamında değerlendirilen dikkatsizlik ($p = 0,014$) ve DEHB indeksi ($p = 0,017$) puanları ile NEAT1 fold ekspresyon düzeyi arasında negatif yönde anlamlı ilişkiler bulunmuştur. Son olarak çalışmamızda NEAT1 değerinin DEHB'yi predikte edebilmeleri ROC analizi ile araştırılmış ve % 50 sensitivite, % 92,5 spesifite saptanmış ve iyi bir belirleyici olduğu görülmüştür. Bu bulgular, NEAT1 düzeyindeki azalmanın DEHB belirtilerinin ortaya çıkmasında etkili olabileceğine ve potansiyel bir biyolojik belirteç (biyomarker) olabileceğine işaret etmektedir.

NEAT1'in yürütücü işlevlerle ilişkisini değerlendirmek amacıyla uygulanan stroop testi TBAG formunda, özellikle stroop 5. bölüm hata sayısı ve düzeltme sayısı ile NEAT1 fold ekspresyonu arasında negatif yönde anlamlı korelasyonlar belirlenmiştir. Bu durum, tepki ketleme işlevi üzerinde NEAT1'in rolü olabileceğini ve bu lncRNA'nın yürütücü işlevlerin nörobiyolojik temellerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

LncRNA'lar, biyolojik işlevlerini yerine getirirken mRNA'lar ve miRNA'lar gibi diğer biyomoleküllerle etkileşim kurarak gen ekspresyonunun hassas bir şekilde düzenlenmesine katkıda bulunur. Bu etkileşimler genellikle oldukça spesifiktir ve hedef genlerin ekspresyon seviyeleri üzerinde çeşitli etkiler gösterebilir. LncRNA'lar, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyici roller üstlenerek, gen ekspresyonunu ya pozitif yönde ya da negatif yönde etkileyebilir. Bu nedenle,

lncRNA'ların diğer genetik bileşenlerle olan etkileşimlerinin incelenmesi, hastalıkların moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için kritik bir öneme sahiptir (187). Çalışmamızda bu bağlamda, NEAT1 lncRNA ve SLC7A11 mRNA arasındaki olası ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

SLC7A11, xCT olarak da bilinen, sistein/glutamat antiport sistemi Xc⁻'in hafif zincir alt birimini kodlar. Bu taşıyıcı, hücre dışından sistein alımını ve aynı zamanda hücre içinden glutamatın dışarı verilmesini sağlar. Bu da glutatyon (GSH) sentezi yoluyla oksidatif dengenin korunmasında önemli bir rol oynar. Merkezi sinir sisteminde ise SLC7A11 ağırlıklı olarak astrositlerde eksprese edilir ve hücre dışı glutamat seviyelerinin düzenlenmesinde, dolayısıyla uyarıcı nörotransmisyon ve nöroproteksiyonda kritik bir rol üstlenir (10). Yaptığımız literatür incelemesinde DEHB tanılı bireylerde SLC7A11 ekspresyon düzeyinin incelendiği çalışmalara rastlayamadık. Ancak yapılan çalışmalar da SLC7A11'in düşük ekspresyon seviyesinin hücrelerin sistein alımını sınırlayarak GSH sentezini olumsuz etkileyebileceğini ve GSH'ın hücrel redoks dengesinin korunması ve ROT'un nötralize edilmesi gibi olumlu etkilerinin oluşamayacağı gösterilmiştir (140). Bu durumun doğal sonucu olarak hücre içinde artmış OS'den bahsedilmiştir. DEHB etiyojisine yönelik yapılan çalışmalar bize oksidatif dengedeki bozuklukların patofizyolojide rol oynayabileceğine dair güçlü kanıtlar sunmuştur.

DEHB etiyojisinde glutamaterjik sistemin rolüne ilişkin artan sayıda bulgu bulunmaktadır. Bu sistem, yalnızca olası patofizyolojik mekanizmalardan biri olarak değil, aynı zamanda gelecekteki tedavi stratejileri için potansiyel bir hedef olarak da değerlendirilmektedir (188). Glutamat, merkezi sinir sisteminde başlıca uyarıcı nörotransmitterlerden biridir ve dopamin ile etkileşim içinde çalışarak kortikostriatal devrelerde dopamin salınımını modüle etmektedir. DEHB tanılı çocuklarla gerçekleştirilen birçok çalışmada, beyin metabolit düzeylerinin değerlendirilmesinde Proton Manyetik Rezonans Spektroskopisi (1H-MRS) yöntemi kullanılmıştır. Bu teknik, beyindeki çeşitli metabolitleri non-invaziv olarak ölçmeye olanak sağlar. Glutamat düzeyleri hem hücre içi hem de hücre dışı ortamlarda bulunsada, 1H-MRS ile elde edilen sinyalin büyük ölçüde hücre içi glutamatı yansıttığı bildirilmektedir (189). Frank ve arkadaşlarının (2003) yürüttüğü bir çalışmada, DEHB tanılı çocuklarda frontal-striatal bölgelerdeki Glx (glutamat + glutamin) sinyallerinin

sağlıklı kontrol grubuna kıyasla artmış olabileceği öne sürülmüştür (190). Benzer şekilde, başka bir çalışmada DEHB'li bireylerin bilateral frontal korteksinde Glutamat/Glutamin oranının yükseldiği tespit edilmiş ve bu artışın dil, bellek ve öğrenme gibi bilişsel işlevlerle anlamlı düzeyde ilişkili olduğu gösterilmiştir (191).

Glutamat dengesinin sağlanmasında taşıyıcı sistemin önemi büyüktür. Sinaptik aralıktaki salınım mekanizması sistem xCT tarafından aktif taşınmayla kontrol edilir (138). Bu sebeple SLC7A11'in glutamat düzenlemesindeki rolü göz önüne alındığında, bu molekülün düşük ya da yüksek ekspresyonun hücre içi/dışı glutamat birikimine neden olabilir. SLC7A11 ekspresyon düzeyinin düşük olması yüksek düzeyde hücre içi glutamata neden olur bu durum eksitotoksosite riski oluşturur yanı hücre içinde artan glutamat aşırı reseptör uyarımına bağlı olarak kalsiyum birikimi ve nöronal ölüme neden olabilir (192). Bunun yanında hücre dışında azalan glutamat sinaptik iletimi etkileyebilir bu da öğrenme ve hafıza gibi süreçleri olumsuz etkileyebilir. DEHB'de gözlemlenen dikkatsizlik, hiperaktivite ve dürtüsellik gibi semptomların, bu nörotransmitter dengesizliğinden kaynaklanabileceği öne sürülebilir (193).

Çin'de yapılan bir çalışmada şizofreni tanılı bireyler ile sağlıklı kontroller karşılaştırılmış ve şizofreni hastalarında SLC7A11 ve SLC3A2 periferik gen ifade düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha düşük olabileceğini ve bu durumun şizofreni etiyolojisi içerisinde yer alan hipo-glutamaterjik nörotransmisyon hipotezini destekler kanıtlar sunmuştur (10). Bizim çalışmamızda ise, DEHB tanısı almış çocuklarda, SLC7A11 fold mRNA düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). 2023 yılında yayımlanan bir çalışmada, SLC7A11 geninin fonksiyon kaybına uğradığı fare modellerinde gözlemlenen davranışsal özelliklerin, DEHB'yi modellemek amacıyla kullanılan standart fare modellerinde görülen bulgularla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (142). Aynı çalışmada, söz konusu farelerde yürütücü işlevlerde bozulma olduğu da belirlenmiştir (142). Bu çalışmayla benzer şekilde çalışmamızda yürütücü işlevlerle SLC7A11 fold mRNA düzeyleri ile stroop test sonuçları karşılaştırılmış ve 4. ve 5. bölümlerine ait toplam süreler arasında negatif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. NEAT1 fold ile SLC7A11 fold arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı. literatüre incelemesinde bulgularımızın tersine NEAT1 ve

SLC7A11 arasında negatif yönde korelasyon olduğu görülmüştür (194). Belki de DEHB de NEAT1 → SLC7A11 eksenin baskın yol olmayabileceği, her iki molekül de ayrı patolojik sorunlar olarak oksidatif stres/sinaptik işlev bozukluğuna katkı sunarak etiyojide yer alabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak DEHB’de hem hücrel stres yanıtı (NEAT1) hem de redoks/glutamat dengesi (SLC7A11) aksak olabilir. Ayrıca bunlar doğrudan birbirine bağlanmadan farklı iki sorun olarak çalışıyor olabilir. Son olarak çalışmamızda SLC7A11 mRNA değerinin DEHB’yi predikte edebilmeleri ROC analizi ile araştırılmış ve % 70 sensitivite, % 87,5 spesifite saptanmış ve iyi bir belirleyici olduğu görülmüştür.

SLC7A11 son yıllarda birçok çalışmada ferroptozisin temel düzenleyicilerinden biri olarak tanımlanmaktadır (195). Bulgularımız, ferroptozisin DEHB’nin patofizyolojisinde rol oynayabileceğine ilişkin güçlü kanıtlar sunmaktadır. Literatürde yer alan bir çalışmada sistemik lupus eritematozus (SLE) tanısı almış erişkin bireylerde tedaviye N-asetilsistein (NAC) eklenmesi sonucunda DEHB semptomlarında iyileşme gözlenmiştir (196). Bu bulgu, SLC7A11’in nöropsikiyatrik hastalıkların etiyojisinde rol oynayabilecek potansiyel bir molekül olduğunu destekler niteliktedir.

Literatüre baktığımızda SLC7A11 ile GPX4, MDA, GSH ilişkisini karşılaştıran çalışmaların bir çoğunda SLC7A11 ve GPX4 ile GSH seviyeleri arasında pozitif yönde korelasyon gösterilirken, MDA seviyeleriyle negatif yönde korelasyon gösterdikleri saptanmıştır. Bir başka ifade ile nöroinflamasyon için koruyucu bir molekül olan SLC7A11 hücre içine sistin molekülü olarak bir antioksidan olan GSH sentezini artırır ve bu sentezde görevli GPX4 seviyesinde artış olur. Ancak bu sistem tam çalışmazsa hücre zarı yıkım ürünü olan MDA seviyesinde artış olabileceğine dair kanıtlar sunulmuştur (197, 198). Buna karşın bizim çalışmamızda bu moleküller ile SLC7A11 fold ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir. Bu durum örneklem büyüklüğümüz ve yaş ortalaması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, SLC7A11 mRNA ekspresyonundaki azalmanın, DEHB patofizyolojisini hem artmış oksidatif stres hem de bozulmuş glutamat homeostazı aracılığıyla etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, SLC7A11’in DEHB

açısından potansiyel bir biyobelirteç ve tedavi hedefi olarak değerlendirilmesini desteklemektedir.

DEHB'nin etiyojisi yönelik son zamanlarda yapılan çalışmalarda oksidatif stres arasında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir (7). Oksidatif stres, hücre yapı taşlarında (lipid, proteinler ve DNA) hasara yol açarak biyolojik işlevlerin bozulmasına neden olur. Bu durum, proteinlerin yapısal özelliklerini ve hücre içi dağılımını etkiler. Membran lipidlerinin bütünlüğünün zedelenmesi ise mitokondriyal işlev kaybına ve nihayetinde apoptozun tetiklenmesine neden olabilir (89). Beyin, yüksek düzeyde metabolik aktivite gösteren bir organdır. Bu da onu oksidatif stresin zararlı etkilerine oldukça duyarlı hale getirir. Artan oksidatif stres nöronal proliferasyonun aksamasını ve programlanmış hücre ölümü olan apoptozu da tetikleyebilir. Bu durum, zamanla nöronal bütünlüğün bozulmasına ve buna bağlı olarak bilişsel ve nörolojik işlevlerin olumsuz etkileyebileceğine dair kanıtlar sunulmuştur (89). Oksidatif stres, nöronal plastisiteyi ve yapısal proteinlerin doğru katlanma süreçlerini olumsuz yönde etkileyerek, nöronal hücre göçünü bozabilir. Bu bozulmalar, dopamin başta olmak üzere çeşitli nörotransmitterlerin sentezinde de aksamalar meydana getirebilir (89, 92, 93). Oksidatif stresin merkezi sinir sistemi üzerindeki çok yönlü etkileri dikkate alındığında, DEHB'li bireylerde oksidatif stres düzeylerine odaklanan araştırmalar, bu biyolojik sürecin DEHB etiyojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar oksidatif stresin DEHB'nin patofizyolojisi üzerindeki etkilerine ilişkin tutarlı veya doğrudan destekleyici bulgular sunmamıştır (97). Bunun aksine literatürde oksidatif stresle DEHB arasında anlamlı ilişkiler saptayan çalışmalar da yer almaktadır (7, 89).

Çalışmamızda GPX4 ve GSH gibi antioksidan sistemle ilişkilendirilen moleküller ile MDA gibi oksidatif stresle doğrudan ilişkili biyobelirteçlerin protein düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. GPX4, lipid peroksidasyon ürünlerini ortadan kaldırarak hücreleri ferroptozis gibi demir bağımlı hücre ölüm yollarından koruyan temel bir antioksidan enzimdir (104). Literatürde DEHB ile GPX4 ilişkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamakla birlikte Alzheimer (199), Parkinson (200), OSB (201) gibi patolojilerde çalışma konusu olmuş bir moleküldür. 2025 yılında yapılan bir çalışmaya OSB tanılı çocuklar ve anneleri dahil edilmiş olup hem annelerinde hem de çocuklarda artan GPX4 kan ekspresyon

seviyelerinden bahsedilmiştir. Artan GPX4 düzeylerinin, anti-apoptotik ve anti-ferroptotik protein ekspresyonunu artırarak hücre ölümüne karşı direnç geliştirilmesine katkı sağlayabileceği öne sürülmüştür. Bu direncin, artan hücre sağkalımı ve proliferasyonu ile ilişkili olarak yükselen enerji ihtiyacını karşılamak amacıyla metabolik aktivitede bir değişimle birlikte ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Söz konusu süreç, klonal hücre çoğalmasını destekleyerek, OSB gözlenen anormal beyin büyümesiyle ilişkilendirilmiştir (201). Bir çalışmada bu molekülün ekspresyon seviyesinin yaşla birlikte azalacağı da saptanmıştır (199). Belki çalışmamızın genç bir popülasyondan oluşması aynı zamanda örneklem büyüklüğümüzün yeteri kadar büyük olmaması sonuçlarımızı etkileyebileceği düşünülmüştür.

Benzer şekilde glutatyon (GSH) düzeylerinde de anlamlı fark olmaması, hücrel redoks dengesinin glutatyon aracılığıyla sürdürüldüğünü gösterebilir. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olarak oksidatif hasarın dolaylı bir göstergesi olmasına rağmen, bu çalışmada MDA seviyelerinde anlamlı fark saptanmamıştır. Bu durum, sistemik düzeyde oksidatif hasarın belirgin olmaması ya da lokal düzeyde sınırlı kalmış olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, bu çalışma DEHB’de oksidatif stres yanıtının klasik biyokimyasal belirteçler (MDA, GSH, GPX4) ile değil, gen ekspresyon düzeylerinde (özellikle SLC7A11 ve NEAT1) ortaya çıkan değişikliklerle ilişkilendirilebileceğini ortaya koymuştur. SLC7A11 ve NEAT1 gibi moleküllerin, DEHB’nin moleküler temeline dair biyobelirteç adayları olarak değerlendirilmesi, ilerleyen çalışmalarda epigenetik regülasyon, stres adaptasyonu ve nörogelişimsel bozukluklar arasındaki ilişkilere daha bütüncül bir bakış açısı sunabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, SLC7A11 mRNA, NEAT1 lncRNA ve oksidatif stres belirteçlerinin DEHB ile ilişkisini incelemek ve bunların yürütücü işlevlerle olan bağlantılarını değerlendirmek amaçlanmıştır. Birleşik tip DEHB tanılı çocuklar ile sağlıklı kontrol grubunun sosyodemografik özellikleri, SLC7A11 mRNA ve NEAT1 lncRNA düzeyleri, oksidatif stres göstergeleri, ölçek puanları ve Stroop Testi TBAG formu sonuçları karşılaştırılmıştır. Literatür bakıldığında, DEHB tanılı çocuk ve ergenlerde lncRNA düzeylerini ele alan çalışmaların oldukça sınırlı olduğu, özellikle yürütücü işlevler ile oksidatif stres ilişkili lncRNA'ların henüz araştırılmadığı görülmektedir. Bu bağlamda, çalışmamız DEHB'nin patofizyolojisinde lncRNA'ların potansiyel rolünü; yürütücü işlev bozuklukları ve oksidatif stres ile etkileşimleri bağlamında inceleyen öncü araştırmalardan biridir. Çalışma bulgularımız, mevcut literatürle de uyumlu olarak, DEHB grubunun kontrol grubuna kıyasla yürütücü işlevlerde (özellikle tepki ketleme alanında) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda; DEHB'li katılımcılarda, NEAT1 fold lncRNA, SLC7A11 (fold) mRNA kan ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tespit edildi, oksidatif stres düzeyleri ise vaka ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ek olarak vaka grubunda, stroop testinin tüm bölümleri için toplam süre, hata sayısı ve düzeltme sayıları kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek çıktı. Ayrıca SLC7A11 fold ile Stroop bölüm 4 toplam süre ve Stroop bölüm 5 toplam süre arasında negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edilirken, NEAT1 fold ile Stroop bölüm 5 hata sayısı ve Stroop bölüm 5 düzeltme sayısı arasında negatif yönde anlamlı korelasyon belirlendi. Bu sonuçlar hipotezimi destekler nitelikte olup bu moleküllerin azalan ekspresyon seviyeleri daha kötü yürütücü işlevlerle ilişkilendirilebileceğine dair kanıtlar sundu. Uyguladığımız CADÖ-YK ve CÖDÖ-YK ölçekleri alt grupları ile NEAT1 fold lncRNA, SLC7A11 fold mRNA kan ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında NEAT1 (fold) ile CADÖ-YK dikkatsizlik ve DEHB indeksi arasında negatif yönde anlamlı korelasyon görülmüş olup, SLC7A11 fold ile ölçek puanları arasında anlamlı bir

farklılık tespit edilemedi. Araştırmamızın bir başka alt başlığı olan oksidan ve antioksidan moleküllerin karşılaştırılmasında ise her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Son olarak yapılan ROC analizlerinde SLC7A11 fold mRNA değerinin DEHB'yi predikte edebilme oranları % 70 sensitivite, % 87,5 spesifite olarak belirlenirken, NEAT1 fold için bu oranlar % 50 sensitivite, % 92,5 spesifite olarak saptandı ve her iki molekülün de DEHB için iyi bir belirleyici olduğu görüldü.

Sonuç olarak, bu çalışma, DEHB birleşik tip tanılı çocukların kontrol grupları ile yürütücü işlevler, oksidatif stresle ilişkili genler ve ilişkili lncRNA'lar açısından karşılaştırıldığı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Çalışmamız, DEHB etiolojisinde lncRNA'ların yerine yönelik kısıtlı literatür bilgisine katkı sağlamakta olup, lncRNA NEAT1 ve mRNA SLC7A11'in DEHB etiolojisinde rolü olabileceğini göstermektedir. DEHB için biyobelirteç adayları olan lncRNA'ya yönelik araştırmaların hâlen emekleme aşamasında olduğu göz önüne alındığında, bu çalışmanın mevcut literatürdeki önemli bir boşluğu dolduracağı düşünülmektedir. lncRNA'ların birçok hücresel süreçte kritik düzenleyici roller üstlendiği bilinmektedir. Bu nedenle, DEHB etiopatogenezinde lncRNA'ların olası rolünü ortaya koymak ve biyobelirteç potansiyellerini değerlendirmek amacıyla daha fazla sayıda ve kapsamlı araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Barkley RA, Peters H. The earliest reference to ADHD in the medical literature? Melchior Adam Weikard's description in 1775 of "attention deficit". *J Atten Disord.* 2012;16(8):623-30.
2. Ercan ES, Unsel-Bolat G, Tufan AE, et al. Effect of impairment on the prevalence and comorbidities of attention deficit hyperactivity disorder in a national survey. *J Atten Disord.* 2022;26(5):674-84.
3. Salari N, Ghasemi H, Abdoli N, et al. The global prevalence of ADHD in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Ital J Pediatr.* 2023;49(1):48.
4. Barkley RA, Murphy KR. Attention-deficit hyperactivity disorder: A clinical workbook. New York: The Guilford Press; 2006.
5. Young SJ, Adamou M, Bolea B, et al. The identification and management of ADHD offenders within the criminal justice system: a consensus statement. *BMC Psychiatry.* 2011;11:1-14.
6. Swanson JM, Kinsbourne M, Nigg J, et al. Etiologic subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychol Rev.* 2007;17:39-59.
7. Verlaet AA, Breynaert A, Ceulemans B, et al. Oxidative stress and immune aberrancies in ADHD: A case-control comparison. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2019;28:719-29.
8. Kalenderođlu A. Psikotik özellikli mani ve psikotik özellikli olmayan maninin oksidatif stres açısından karşılaştırılması [Uzmanlık tezi]. 2008.
9. Selek S, Herken H, Bulut M, et al. Oxidative imbalance in obsessive compulsive disorder patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008;32(2):487-91.
10. Lin C-H, Lin P-P, Lin C-Y, et al. Decreased mRNA expression for the two subunits of system xc⁻ in patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2016;72:58-63.

11. Cogill SB, Srivastava AK, Yang MQ, et al. Co-expression of long non-coding RNAs and autism risk genes in the developing human brain. *BMC Syst Biol.* 2018;12:65-73.
12. Safari MR, Komaki A, Arsang-Jang S, et al. Expression pattern of long non-coding RNAs in schizophrenic patients. *Cell Mol Neurobiol.* 2019;39:211-21.
13. Sayad A, Omrani MD, Fallah H, et al. Aberrant expression of long non-coding RNAs in peripheral blood of autistic patients. *J Mol Neurosci.* 2019;67:276-81.
14. Wu G, Du X, Li Z, et al. The emerging role of long non-coding RNAs in schizophrenia. *Front Psychiatry.* 2022;13:995956.
15. Lezak MD. *Neuropsychological assessment.* New York: Oxford University Press; 2004.
16. Rebai M, Bernard C, Lannou J. The Stroop's test evokes a negative brain potential, the N400. *Int J Neurosci.* 1997;91(1-2):85-94.
17. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5.* Washington: American Psychiatric Association; 2013.
18. Palmer ED, Finger S. An early description of ADHD (inattentive subtype). *Child Psychol Psychiatry Rev.* 2001;6(2):66-73.
19. Thome J, Jacobs KA. ADHD in a 19th century children's book. *Eur Psychiatry.* 2004;19(5):303-6.
20. Still GF. Some abnormal psychical conditions in children. *Lancet.* 1902.
21. Neumärker K-J. The Kramer-Pollnow syndrome. *Hist Psychiatry.* 2005;16(4):435-51.
22. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders.* 2nd ed. Washington: American Psychiatric Association; 1968.

23. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 3rd ed. Washington: American Psychiatric Association; 1980:205-24.
24. Ercan ES, Kandulu R, Uslu E, et al. Prevalence and diagnostic stability of ADHD and ODD in Turkish children. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health*. 2013;7:1-10.
25. Polanczyk G, Jensen P. Epidemiologic considerations in ADHD. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2008;17(2):245-60.
26. Willcutt EG. The prevalence of DSM-IV ADHD: a meta-analytic review. *Neurotherapeutics*. 2012;9(3):490-9.
27. Banerjee TD, Middleton F, Faraone SV. Environmental risk factors for ADHD. *Acta Paediatr*. 2007;96(9):1269-74.
28. Kian N, Samieefar N, Rezaei N. Prenatal risk factors and genetic causes of ADHD in children. *World J Pediatr*. 2022;18(5):308-19.
29. Akutagava-Martins GC, Salatino-Oliveira A, Kieling CC, et al. Genetics of ADHD: current findings and future directions. *Expert Rev Neurother*. 2013;13(4):435-45.
30. Schachar R. Genetics of ADHD: Recent updates and future prospects. *Curr Dev Disord Rep*. 2014;1:41-9.
31. Li Z, Chang S-h, Zhang L-y, et al. Molecular genetic studies of ADHD and its candidate genes: a review. *Psychiatry Res*. 2014;219(1):10-24.
32. Sciberras E, Mulraney M, Silva D, et al. Prenatal risk factors and the etiology of ADHD—review of existing evidence. *Curr Psychiatry Rep*. 2017;19:1-8.
33. Demontis D, Walters GB, Athanasiadis G, et al. Genome-wide analyses of ADHD identify 27 risk loci, refine the genetic architecture and implicate several cognitive domains. *Nat Genet*. 2023;55(2):198-208.
34. Thapar A, Cooper M, Eyre O, et al. Practitioner review: what have we learnt about the causes of ADHD? *J Child Psychol Psychiatry*. 2013;54(1):3-16.

35. Mehta TR, Monegro A, Nene Y, et al. Neurobiology of ADHD: a review. *Curr Dev Disord Rep.* 2019;6:235-40.
36. Cortese S. The neurobiology and genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): what every clinician should know. *Eur J Paediatr Neurol.* 2012;16(5):422-33.
37. Bedard A-C, Ickowicz A, Logan GD, et al. Selective inhibition in children with attention-deficit hyperactivity disorder off and on stimulant medication. *J Abnorm Child Psychol.* 2003;31:315-27.
38. Itami S, Uno H. Orbitofrontal cortex dysfunction in attention-deficit hyperactivity disorder revealed by reversal and extinction tasks. *Neuroreport.* 2002;13(18):2453-7.
39. Aron AR, Robbins TW, Poldrack RA. Inhibition and the right inferior frontal cortex. *Trends Cogn Sci.* 2004;8(4):170-7.
40. Godefroy O, Rousseaux M. Divided and focused attention in patients with lesion of the prefrontal cortex. *Brain Cogn.* 1996;30(2):155-74.
41. Shaw P, Eckstrand K, Sharp W, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(49):19649-54.
42. Shaw P, Gilliam M, Liverpool M, et al. Cortical development in typically developing children with symptoms of hyperactivity and impulsivity: support for a dimensional view of attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry.* 2011;168(2):143-51.
43. Arnsten AF, Pliszka SR. Catecholamine influences on prefrontal cortical function: relevance to treatment of attention deficit/hyperactivity disorder and related disorders. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011;99(2):211-6.
44. Kesner RP, Churchwell JC. An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function. *Neurobiol Learn Mem.* 2011;96(3):417-31.

45. Berquin P, Giedd J, Jacobsen L, et al. Cerebellum in attention-deficit hyperactivity disorder: a morphometric MRI study. *Neurology*. 1998;50(4):1087-93.
46. Castellanos FX, Lee PP, Sharp W, et al. Developmental trajectories of brain volume abnormalities in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *JAMA*. 2002;288(14):1740-8.
47. Caplan D. *Language: Structure, processing, and disorders*. Cambridge: The MIT Press; 1992.
48. Heilman K, Pandya D, Geschwind N. Trimodal inattention following parietal lobe ablations. *Trans Am Neurol Assoc*. 1970;95:259-61.
49. Makris N, Biederman J, Valera EM, et al. Cortical thinning of the attention and executive function networks in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Cereb Cortex*. 2007;17(6):1364-75.
50. Sowell ER, Thompson PM, Welcome SE, et al. Cortical abnormalities in children and adolescents with attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet*. 2003;362(9397):1699-707.
51. Badgaiyan RD, Posner MI. Mapping the cingulate cortex in response selection and monitoring. *Neuroimage*. 1998;7(3):255-60.
52. Bush G, Frazier JA, Rauch SL, et al. Anterior cingulate cortex dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder revealed by fMRI and the Counting Stroop. *Biol Psychiatry*. 1999;45(12):1542-52.
53. Cortese S, Kelly C, Chabernaud C, et al. Toward systems neuroscience of ADHD: a meta-analysis of 55 fMRI studies. *Am J Psychiatry*. 2012;169(10):1038-55.
54. Da Silva BS, Grevet EH, Silva LCF, et al. An overview on neurobiology and therapeutics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Discov Ment Health*. 2023;3(1):2.
55. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol Psychiatry*. 2005;57(11):1215-20.

56. Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet*. 2005;366(9481):237-48.
57. Linnet KM, Dalsgaard S, Obel C, et al. Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am J Psychiatry*. 2003;160(6):1028-40.
58. Rutter M, Cox A, Tupling C, et al. Attainment and adjustment in two geographical areas: I—the prevalence of psychiatric disorder. *Br J Psychiatry*. 1975;126(6):493-509.
59. Mukaddes NM. Yaşam boyu dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu ve eşlik eden durumlar. İstanbul: Nobel Tıp; 2015.
60. Mayfield AR, Parke EM, Barchard KA, et al. Equivalence of mother and father ratings of ADHD in children. *Child Neuropsychol*. 2018;24(2):166-83.
61. Caye A, Swanson JM, Coghill D, et al. Treatment strategies for ADHD: an evidence-based guide to select optimal treatment. *Mol Psychiatry*. 2019;24(3):390–408.
62. Nazarova VA, Sokolov AV, Chubarev VN, et al. Treatment of ADHD: drugs, psychological therapies, devices, complementary and alternative methods as well as the trends in clinical trials. *Front Pharmacol*. 2022;13:1066988.
63. Görmez V. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğunda Tedavi Yaklaşımları: İlaç Tedavileri. *Turkiye Klin Child Psychiatry-Spec Top*. 2015;1(1):77–86.
64. Stahl SM. Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications. Cambridge: Cambridge University Press; 2021.
65. Banaschewski T, Soutullo C, Lecendreux M, et al. Health-related quality of life and functional outcomes from a randomized, controlled study of lisdexamfetamine dimesylate in children and adolescents with ADHD. *CNS Drugs*. 2013;27:829–40.

66. Hammerness PG, Perrin JM, Shelley-Abrahamson R, et al. Cardiovascular risk of stimulant treatment in pediatric ADHD: update and clinical recommendations. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2011;50(10):978–90.
67. Zhou J. Norepinephrine transporter inhibitors and their therapeutic potential. *Drugs Future*. 2004;29(12):1235.
68. Sallee F, Connor DF, Newcorn JH. A review of the rationale and clinical utilization of α 2-adrenoceptor agonists for the treatment of ADHD and related disorders. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2013;23(5):308–19.
69. Arnsten AF. The use of α -2A adrenergic agonists for the treatment of ADHD. *Expert Rev Neurother*. 2010;10(10):1595–605.
70. Sallee FR, Mcgough J, Wigal T, et al. Guanfacine extended release in children and adolescents with ADHD: a placebo-controlled trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2009;48(2):155–65.
71. Hirota T, Schwartz S, Correll CU. Alpha-2 agonists for ADHD in youth: a systematic review and meta-analysis of monotherapy and add-on trials to stimulant therapy. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2014;53(2):153–73.
72. Wisor J. Modafinil as a catecholaminergic agent: empirical evidence and unanswered questions. *Front Neurol*. 2013;4:139.
73. Ng QX. A systematic review of the use of bupropion for ADHD in children and adolescents. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2017;27(2):112–6.
74. Young S, Myanthy Amarasinghe J. Practitioner review: non-pharmacological treatments for ADHD: a lifespan approach. *J Child Psychol Psychiatry*. 2010;51(2):116–33.
75. Daley D, Van Der Oord S, Ferrin M, et al. Practitioner review: current best practice in the use of parent training and other behavioural interventions in the treatment of children and adolescents with ADHD. *J Child Psychol Psychiatry*. 2018;59(9):932–47.

76. Brown TE. Attention deficit disorder: the unfocused mind in children and adults. New Haven: Yale University Press; 2005.
77. Diamond A. Executive functions. *Annu Rev Psychol.* 2013;64(1):135–68.
78. Baddeley A. Essentials of human memory. Classic ed. Hove: Psychology Press; 2013.
79. Davidson MC, Amso D, Anderson LC, et al. Development of cognitive control and executive functions from 4 to 13 years: evidence from manipulations of memory, inhibition, and task switching. *Neuropsychologia.* 2006;44(11):2037–78.
80. Cristofori I, Cohen-Zimerman S, Grafman J. Executive functions. *Handb Clin Neurol.* 2019;163:197–219.
81. Tripp G, Ryan J, Peace K. Neuropsychological functioning in children with DSM-IV combined type ADHD. *Aust N Z J Psychiatry.* 2002;36(6):771–9.
82. Barkley R. ADHD and the nature of self-control. New York: Guilford Press; 1997.
83. Savcı U, Tufan AE, Öztürk Y, et al. Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu Tanılı Çocuk ve Ergenlerde Yürütücü İşlev Sorunları ve Tedavisi. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar.* 2019;11(2):223–38.
84. Brown T. Dikkat eksikliği bozukluğu. Sönmez EÇ, editor. Ankara: ODTÜ Yayıncılık; 2010.
85. Pennington BF, Ozonoff S. Executive functions and developmental psychopathology. *J Child Psychol Psychiatry.* 1996;37(1):51–87.
86. Willcutt EG, Doyle AE, Nigg JT, et al. Validity of the executive function theory of ADHD: a meta-analytic review. *Biol Psychiatry.* 2005;57(11):1336–46.
87. Skogli EW, Andersen PN, Hovik KT, Øie M. Development of hot and cold executive function in boys and girls with ADHD: a 2-year longitudinal study. *J Atten Disord.* 2017;21(4):305–15.

88. Miller M, Nevado-Montenegro AJ, Hinshaw SP. Childhood executive function continues to predict outcomes in young adult females with and without childhood-diagnosed ADHD. *J Abnorm Child Psychol.* 2012;40:657–68.
89. Joseph N, Zhang-James Y, Perl A, et al. Oxidative stress and ADHD: a meta-analysis. *J Atten Disord.* 2015;19(11):915–24.
90. Gergerlioglu HS, Savas HA, Bulbul F, et al. Changes in nitric oxide level and superoxide dismutase activity during antimanic treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;31(3):697–702.
91. Guney E, Tuncturk DB, Torun YT, et al. Increased serum thioredoxin levels are not correlated with executive functions in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Lett.* 2019;705:118-23.
92. Ceylan M, Sener S, Bayraktar AC, Kavutcu M. Oxidative imbalance in child and adolescent patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34(8):1491-4.
93. Iuga C, Alvarez-Idaboy JR, Vivier-Bunge A. ROS initiated oxidation of dopamine under oxidative stress conditions in aqueous and lipidic environments. *J Phys Chem B.* 2011;115(42):12234-46.
94. Leal G, Afonso PM, Salazar IL, Duarte CB. Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain Res.* 2015;1621:82-101.
95. Liu XM, Feng Y, Li AM. Nerve protective effect of Baicalin on newborn HIBD rats. *Asian Pac J Trop Med.* 2014;7(10):806-10.
96. Kawatani M, Tsukahara H, Mayumi M. Evaluation of oxidative stress status in children with pervasive developmental disorder and attention deficit hyperactivity disorder using urinary-specific biomarkers. *Redox Rep.* 2011;16(1):45-6.
97. Oztop D, Altun H, Baskol G, Ozsoy S. Oxidative stress in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Clin Biochem.* 2012;45(10-11):745-8.

98. Kul M, Unal F, Kandemir H, et al. Evaluation of oxidative metabolism in child and adolescent patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatry Investig.* 2015;12(3):361.
99. Spahis S, Vanasse M, Bélanger SA, et al. Lipid profile, fatty acid composition and pro-and anti-oxidant status in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008;79(1-2):47-53.
100. Sezen H, Kandemir H, Savik E, et al. Increased oxidative stress in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Redox Rep.* 2016;21(6):248-53.
101. Avshalumov MV, Rice ME. Activation of ATP-sensitive K⁺ (KATP) channels by H₂O₂ underlies glutamate-dependent inhibition of striatal dopamine release. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(20):11729-34.
102. Bloch MH, Qawasmi A. Omega-3 fatty acid supplementation for the treatment of children with attention-deficit/hyperactivity disorder symptomatology: systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2011;50(10):991-1000.
103. Hirschhorn T, Stockwell BR. The development of the concept of ferroptosis. *Free Radic Biol Med.* 2019;133:130-43.
104. Liu Y, Wan Y, Jiang Y, et al. GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2023;1878(3):188890.
105. Yang WS, Stockwell BR. Ferroptosis: death by lipid peroxidation. *Trends Cell Biol.* 2016;26(3):165-76.
106. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell.* 2012;149(5):1060-72.
107. Mercille S, Massie B. Induction of apoptosis in nutrient-deprived cultures of hybridoma and myeloma cells. *Biotechnol Bioeng.* 1994;44(9):1140-54.

108. Murphy TH, Schnaar RL, Coyle JT. Immature cortical neurons are uniquely sensitive to glutamate toxicity by inhibition of cystine uptake. *FASEB J.* 1990;4(6):1624-33.
109. Liu L, Lai Y, Zhan Z, et al. Identification of ferroptosis-related molecular clusters and immune characterization in autism spectrum disorder. *Front Genet.* 2022;13:911119.
110. Lv S, Luo C. Ferroptosis in schizophrenia: Mechanisms and therapeutic potentials. *Mol Med Rep.* 2024;31(2):37.
111. Zhang G, Lv S, Zhong X, et al. Ferroptosis: a new antidepressant pharmacological mechanism. *Front Pharmacol.* 2024;14:1339057.
112. Mahoney-Sánchez L, Bouchaoui H, Ayton S, et al. Ferroptosis and its potential role in the physiopathology of Parkinson's Disease. *Prog Neurobiol.* 2021;196:101890.
113. Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell.* 2003;3(3):285-96.
114. Yagoda N, Von Rechenberg M, Zaganjor E, et al. RAS–RAF–MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature.* 2007;447(7146):865-9.
115. Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol.* 2008;15(3):234-45.
116. Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol.* 2014;16(12):1180-91.
117. Liu J, Kang R, Tang D. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis. *FEBS J.* 2022;289(22):7038-50.

118. Ishii T, Bannai S, Sugita Y. Mechanism of growth stimulation of L1210 cells by 2-mercaptoethanol in vitro. Role of the mixed disulfide of 2-mercaptoethanol and cysteine. *J Biol Chem.* 1981;256(23):12387-92.
119. Wang X, Shen T, Lian J, et al. Resveratrol reduces ROS-induced ferroptosis by activating SIRT3 and compensating the GSH/GPX4 pathway. *Mol Med.* 2023;29(1):137.
120. Xie Y, Kang R, Klionsky DJ, Tang D. GPX4 in cell death, autophagy, and disease. *Autophagy.* 2023;19(10):2621-38.
121. Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell.* 2014;156(1):317-31.
122. Li J, Liu J, Zhou Z, et al. Tumor-specific GPX4 degradation enhances ferroptosis-initiated antitumor immune response in mouse models of pancreatic cancer. *Sci Transl Med.* 2023;15(720):eadg3049.
123. Shimizu J, Murao A, Nofi C, et al. Extracellular C1R1 promotes GPX4-mediated ferroptosis in sepsis. *Front Immunol.* 2022;13:903859.
124. Niu B, Liao K, Zhou Y, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: Enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy. *Biomaterials.* 2021;277:121110.
125. Li H, Sun Y, Yao Y, et al. USP8-governed GPX4 homeostasis orchestrates ferroptosis and cancer immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2024;121(16):e2315541121.
126. Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(5):3143-53.
127. Wu G, Lupton JR, Turner ND, et al. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004;134(3):489-92.
128. Ng F, Berk M, Dean O, et al. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008;11(6):851-76.

129. Nunomura A, Tamaoki T, Motohashi N. [Role of oxidative stress in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders]. *Seishin Shinkeigaku Zasshi*. 2014;116(10):842-58.
130. Zhang XY, Yao JK. Oxidative stress and therapeutic implications in psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;46:197-9.
131. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995. p. 57-63.
132. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
133. Monaghan P, Metcalfe NB, Torres R. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecol Lett*. 2009;12(1):75-92.
134. Murray R, Granner D, Mayes R, et al. Fizyolojik öneme sahip lipidler. In: Dikmen N, Özgünen T, editors. *Harper'ın Biyokimyası*. 1996.
135. Bulut M, Selek S, Gergerlioglu HS, et al. Malondialdehyde levels in adult attention-deficit hyperactivity disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2007;32(6):435-8.
136. Moore CM, Biederman J, Wozniak J, et al. Differences in brain chemistry in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder with and without comorbid bipolar disorder: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Am J Psychiatry*. 2006;163(2):316-8.
137. Carrey NJ, MacMaster FP, Gaudet L, et al. Striatal creatine and glutamate/glutamine in attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2007;17(1):11-7.
138. Bridges RJ, Natale NR, Patel SA. System xc- cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS. *Br J Pharmacol*. 2012;165(1):20-34.

139. Lewerenz J, Hewett SJ, Huang Y, et al. The cystine/glutamate antiporter system xc⁻ in health and disease: from molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(5):522-55.
140. Beart P, O'Shea R. Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. *Br J Pharmacol*. 2007;150(1):5-17.
141. Barry G, Briggs J, Vanichkina D, et al. The long non-coding RNA Gomafu is acutely regulated in response to neuronal activation and involved in schizophrenia-associated alternative splicing. *Mol Psychiatry*. 2014;19(4):486-94.
142. Frare C, Pitt SK, Hewett SJ. Sex- and age-dependent contribution of System xc⁻ to cognitive, sensory, and social behaviors revealed by comprehensive behavioral analyses of System xc⁻ null mice. *Front Behav Neurosci*. 2023;17:1238349.
143. Lu B, Chen XB, Ying MD, et al. The role of ferroptosis in cancer development and treatment response. *Front Pharmacol*. 2017;8:992.
144. Consortium EP. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012;489(7414):57.
145. Frankish A, Diekhans M, Ferreira A-M, et al. GENCODE reference annotation for the human and mouse genomes. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D766-73.
146. Bánfai B, Jia H, Khatun J, et al. Long noncoding RNAs are rarely translated in two human cell lines. *Genome Res*. 2012;22(9):1646-57.
147. Briggs JA, Wolvetang EJ, Mattick JS, et al. Mechanisms of long non-coding RNAs in mammalian nervous system development, plasticity, disease, and evolution. *Neuron*. 2015;88(5):861-77.
148. Punzi G, Ursini G, Shin JH, et al. Increased expression of MARCKS in post-mortem brain of violent suicide completers is related to transcription of a long, noncoding, antisense RNA. *Mol Psychiatry*. 2014;19(10):1057-9.

149. Zhang S, You L, Xu Q, et al. Distinct long non-coding RNA and mRNA expression profiles in the hippocampus of an attention deficit hyperactivity disorder model in spontaneously hypertensive rats and control Wistar Kyoto rats. *Brain Res Bull.* 2020;161:177-96.
150. Kahaei MS, Ghafouri-Fard S, Namvar A, et al. Association study of a single nucleotide polymorphism in brain cytoplasmic 200 long-noncoding RNA and psychiatric disorders. *Metab Brain Dis.* 2020;35(7):1095-100.
151. Nigg J. *What causes ADHD? Understanding what goes wrong and why.* New York: Guilford Press; 2006.
152. Fu GH, Chen W, Li HM, et al. A potential association of RNF219-AS1 with ADHD: Evidence from categorical analysis of clinical phenotypes and from quantitative exploration of executive function and white matter microstructure endophenotypes. *CNS Neurosci Ther.* 2021;27(5):603-16.
153. Yuhong M, Jing L, Zhang S, et al. Role of LncMALAT1-miR-141-3p/200a-3p-NRXN1 axis in the impairment of learning and memory capacity in ADHD. *Physiol Res.* 2023;72(5):645.
154. He C, Zhou H, Chen L, et al. NEAT1 promotes valproic acid-induced autism spectrum disorder by recruiting YY1 to regulate UBE3A transcription. *Mol Neurobiol.* 2024:1-15.
155. Prinz F, Kapeller A, Pichler M, et al. The implications of the long non-coding RNA NEAT1 in non-cancerous diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):627.
156. Cheng C, Spengler RM, Keiser MS, et al. The long non-coding RNA NEAT1 is elevated in polyglutamine repeat expansion diseases and protects from disease gene-dependent toxicities. *Hum Mol Genet.* 2018;27(24):4303-14.
157. Karimi E, Azari H, Tahmasebi A, et al. LncRNA-miRNA network analysis across the Th17 cell line reveals biomarker potency of lncRNA NEAT1 and KCNQ1OT1 in multiple sclerosis. *J Cell Mol Med.* 2022;26(8):2351-62.
158. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, et al. 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*. 1997;36(7):980-8.
159. Gökler B, Ünal F, Pehlivantürk B, ve ark. Okul çağı çocukları için duygulanım bozuklukları ve şizofreni görüşme çizelgesi-Şimdi ve yaşam boyu şekli-Türkçe uyarlamasının geçerlik ve güvenirliği. *Çocuk Gençlik Ruh Sağlığı Derg*. 2004.
160. Conners CK, Sitarenios G, Parker JD, et al. Conners' parent rating scale--revised. *J Abnorm Child Psychol*. 1997.
161. Kaner S, Büyüköztürk Ş, İşeri E. Conners öğretmen dereceleme ölçeği-yenilenmiş kısa: Türkiye uyarlama çalışması. *Eğitim Bilim*. 2013;38(167).
162. Schmidt JR, Cheesman J. Dissociating stimulus-stimulus and response-response effects in the Stroop task. *Can J Exp Psychol*. 2005;59(2):132.
163. Gaub M, Carlson CL. Gender differences in ADHD: A meta-analysis and critical review. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36(8):1036-45.
164. Ercan ES, Bilaç Ö, Uysal Özaslan T, et al. Prevalence of psychiatric disorders among Turkish children: the effects of impairment and sociodemographic correlates. *Child Psychiatry Hum Dev*. 2016;47:35-42.
165. Anderson PJ, De Luca CR, Hutchinson E, et al. Attention problems in a representative sample of extremely preterm/extremely low birth weight children. *Dev Neuropsychol*. 2011;36(1):57-73.
166. Harris MN, Voigt RG, Barbaresi WJ, et al. ADHD and learning disabilities in former late preterm infants: a population-based birth cohort. *Pediatrics*. 2013;132(3):e630-6.
167. Heinonen K, Räikkönen K, Pesonen A-K, et al. Behavioural symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder in preterm and term children born small and appropriate for gestational age: a longitudinal study. *BMC Pediatr*. 2010;10:1-8.

168. Østergaard SD, Trabjerg BB, Als TD, et al. Polygenic risk score, psychosocial environment and the risk of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Transl Psychiatry*. 2020;10(1):335.
169. Russell AE, Ford T, Williams R, et al. The association between socioeconomic disadvantage and attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): a systematic review. *Child Psychiatry Hum Dev*. 2016;47(3):440-59.
170. Ford T, Goodman R, Meltzer H. The relative importance of child, family, school and neighbourhood correlates of childhood psychiatric disorder. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2004;39(6):487-96.
171. Breaux RP, Harvey EA, Lugo-Candelas CI. The role of parent psychopathology in the development of preschool children with behavior problems. *J Clin Child Adolesc Psychol*. 2014;43(5):777-90.
172. Cheung K, Theule J. Parental psychopathology in families of children with ADHD: a meta-analysis. *J Child Fam Stud*. 2016;25(12):3451-62.
173. Condo JS, Chan ESM, Kofler MJ. Examining the effects of ADHD symptoms and parental involvement on children's academic achievement. *Res Dev Disabil*. 2022;122:104156.
174. Gillberg C, Gillberg IC, Rasmussen P, et al. Co-existing disorders in ADHD: implications for diagnosis and intervention. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2004;13 Suppl 1:I80-92.
175. Pliszka S. Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2007;46(7):894-921.
176. MacLeod CM, Dunbar K. Training and Stroop-like interference: evidence for a continuum of automaticity. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn*. 1988;14:126-35.
177. Burke DM, Light LL. Memory and aging: the role of retrieval processes. *Psychol Bull*. 1981;90(3):513-4.

178. Rapport MD, Chung KM, Shore G, et al. Upgrading the science and technology of assessment and diagnosis: laboratory and clinic-based assessment of children with ADHD. *J Clin Child Psychol.* 2000;29(4):555-68.
179. Bhattacharyya N, Pandey V, Bhattacharyya M, et al. Regulatory role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in neurological disorders: from novel biomarkers to promising therapeutic strategies. *Asian J Pharm Sci.* 2021;16(5):533-50.
180. Zimmer-Bensch G. Emerging roles of long non-coding RNAs as drivers of brain evolution. *Cells.* 2019;8(11).
181. Wang Y, Chen LL. Organization and function of paraspeckles. *Essays Biochem.* 2020;64(6):875-82.
182. Ingram HB, Fox AH. Unveiling the intricacies of paraspeckle formation and function. *Curr Opin Cell Biol.* 2024;90:102399.
183. Liu X, Haugh W, Zhang Z, Huang J. Emerging role of long, non-coding RNA nuclear-enriched abundant transcript 1 in stress- and immune-related diseases. *Int J Mol Sci.* 2025;26(9).
184. Kukharsky MS, Ninkina NN, An H, et al. Long non-coding RNA Neat1 regulates adaptive behavioural response to stress in mice. *Transl Psychiatry.* 2020;10(1):171.
185. Ghirardi L, Brikell I, Kuja-Halkola R, et al. The familial co-aggregation of ASD and ADHD: a register-based cohort study. *Mol Psychiatry.* 2018;23(2):257-62.
186. Wu H, Liu A. Long non-coding RNA NEAT1 regulates ferroptosis sensitivity in non-small-cell lung cancer. *J Int Med Res.* 2021;49(3):300060521996183.
187. Baruah C, Nath P, Barah P. LncRNAs in neuropsychiatric disorders and computational insights for their prediction. *Mol Biol Rep.* 2022;49:11515-34.

188. Maltezos S, Horder J, Coghlan S, et al. Glutamate/glutamine and neuronal integrity in adults with ADHD: a proton MRS study. *Transl Psychiatry*. 2014;4(3):e373.
189. Caldwell S, Rothman DL. (1)H magnetic resonance spectroscopy to understand the biological basis of ALS, diagnose patients earlier, and monitor disease progression. *Front Neurol*. 2021;12:701170.
190. MacMaster FP, Carrey N, Sparkes S, Kusumakar V. Proton spectroscopy in medication-free pediatric attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2003;53(2):184-7.
191. Courvoisie H, Hooper SR, Fine C, et al. Neurometabolic functioning and neuropsychological correlates in children with ADHD-H: preliminary findings. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2004;16(1):63-9.
192. Verma M, Lizama BN, Chu CT. Excitotoxicity, calcium and mitochondria: a triad in synaptic neurodegeneration. *Transl Neurodegener*. 2022;11(1):3.
193. Peng S, Zhang Y, Zhang J, et al. Glutamate receptors and signal transduction in learning and memory. *Mol Biol Rep*. 2011;38(1):453-60.
194. Xu L, Zhang L, Xiang Y, Zhang X. Knockdown of lncRNA NEAT1 suppresses streptococcus pneumoniae-induced ferroptosis in alveolar epithelial cells by regulating the Nrf2-GPX4 pathway. *Toxicon*. 2024;243:107705.
195. Rochette L, Dogon G, Rigal E, et al. Lipid peroxidation and iron metabolism: two corner stones in the homeostasis control of ferroptosis. *Int J Mol Sci*. 2022;24(1).
196. Lopresti AL. Oxidative and nitrosative stress in ADHD: possible causes and the potential of antioxidant-targeted therapies. *Atten Defic Hyperact Disord*. 2015;7(4):237-47.
197. Li Z, Lu J, Dong Z, et al. Glutathione supplementation improves fat graft survival by inhibiting ferroptosis via the SLC7A11/GPX4 axis. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15(1):25.

198. Qiao Y, Su M, Zhao H, et al. Targeting FTO induces colorectal cancer ferroptotic cell death by decreasing SLC7A11/GPX4 expression. *J Exp Clin Cancer Res.* 2024;43(1):108.
199. Köseoğlu P, Güven G, Lohmann E, et al. Peripheral expression levels of selected oxidative stress-related genes in Alzheimer's disease. *Experimed.* 2021;11(3):143-8.
200. Shahid MM, Hohman G, Eldeeb M. Fine-tuning ferroptosis by modulating GPX4 and its potential in mitigating neuronal degeneration in Parkinson's disease. *ChemBioChem.* 2025;26(9):e202401052.
201. Chen S, Shcherbina A, Schafer ST, et al. Cellular mechanisms of early brain overgrowth in autistic children: elevated levels of GPX4 and resistance to ferroptosis. *bioRxiv.* 2025.