



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TÜRKİYE’DE ALKOL KULLANIM BOZUKLUĞU VE
GHRL LEU72MET GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Berfin KILIMAN

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
KRİMİNALİSTİK PROGRAMI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Dilek AKYÜZLÜ**

2020 – ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE’DE ALKOL KULLANIM BOZUKLUĞU VE
GHRL LEU72MET GEN POLİMORFİZMİ
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Berfin KILIMAN

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
KRİMİNALİSTİK PROGRAMI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Dilek AKYÜZLÜ**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü’nün 19B0217001 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2020 – ANKARA

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Türkiye’de Alkol Kullanım Bozukluğu ve GHRL Leu72Met Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması*” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/ hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/ araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Berfin Kılıman

Tarih

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı

Kriminalistik Tezli Yüksek Lisans Programında

Berfin KILIMAN tarafından hazırlanan

“Türkiye’de Alkol Kullanım Bozukluğu ve GHRL Leu72Met Gen Polimorfizmi

Arasındaki İlişkinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak

OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

02.09.2020

Prof. Dr. H. Sinan SÜZEN

Ankara Ü. Eczacılık Fakültesi

Jüri Başkanı

Doç.Dr. Dilek AKYÜZLÜ

Ankara Ü. Adli Bilimler Enstitüsü

Üye

Dr.Öğr. Üyesi Selin ÖZKAN-KOTİLOĞLU

Kırşehir Ahi Evran Ü.Fen Edebiyat Fakültesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	i
KABUL VE ONAY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÖNSÖZ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	viii
ÇİZELGELER	1
1. GİRİŞ	2
1.1. Bağımlılığın Tanımı	2
1.1.1. Bağımlılığın Tarihçesi	3
1.1.2. Madde Kullanım Bozukluğu	5
1.1.3. Madde Kullanım Bozukluğunun Temel Bileşenleri	7
1.1.4. Alkol Kullanım Bozukluğu	8
1.1.5. Alkol Kullanım Bozukluğu Tanı Kriterleri	10
1.1.6. Alkol	12
1.1.7. Alkol Toksikokinetiği	12
1.1.8. Alkol Metabolizmasından Sorumlu Enzimler	16
1.1.8.1. ADH	16
1.1.8.2. ALDH	19
1.1.8.3. Mikrozomal alkol–oksidasyon sistemi (MEOS: microsomal ethanol oxidation system)	20
1.1.8.4. Katalaz	21
1.1.9. Alkol Toksisitesi	22
1.2. Grelin	28
1.2.1. Grelin Keşfinin Tarihçesi	28
1.2.3. Grelinin biyokimyasal yapısı	29
1.2.4. Grelin sinyalizasyonu	32
1.2.5. Grelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri	34
1.2.5.1. İştah Üzerine Etkisi	35
1.2.5.2. Büyüme Hormonu Salınımına Etkileri	36
1.2.5.3. Kardiyovasküler Fonksiyonları	36

1.3. Grelin İle Alkol Kullanım Bozukluğu Arasındaki İlişki	37
1.4. Amaç	38
2. GEREÇ VE YÖNTEM	40
2.1. Gereçler	40
2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	40
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
2.2. Olgü Seçimi	41
2.3. Kan Örneklerinin Toplanması	43
2.4. Sıvı kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu	43
2.5. İzole edilen DNA'ların Agaroz Jelde Yürütülmesi	44
2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	46
2.6.1. PCR Bileşenleri	48
2.6.2. Primerler	49
2.6.3. PCR Programı	49
2.7. PCR Ürünü İçin Agaroz Jel Hazırlanması	50
2.8. PCR Ürününün <i>BsrI</i> Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi	51
2.8.1. <i>BsrI</i> Restriksiyon Enzimi ile Kesim İşlemi	52
2.9. <i>BsrI</i> Kesim Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi	54
2.10. İstatistiksel Analiz	55
3. BULGULAR	56
3.1. Örneklerin Genel Değerlendirmesi	56
3.2. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met Polimorfizm Analiz Sonuçları	59
3.3. Sağlıklı gönüllü bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met Polimorfizm Analiz Sonuçları	61
3.4. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireyler ile sağlıklı gönüllülerin <i>GHRL</i> Leu72Met polimorfizmi genotipleri açısından karşılaştırılması	62
3.5. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerin genotiplerine göre karşılaştırılması	63
4. TARTIŞMA	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
ÖZET	73
SUMMARY	74

KAYNAKLAR	75
EKLER	82
ÖZGEÇMİŞ	84



ÖNSÖZ

Bu çalışmada, alkol kullanım bozukluğu ile grelin hormonunu kodlayan progrelin (*GHRL*) genindeki Leu72Met polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. *GHRL* Leu72Met gen polimorfizmi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)-Restriksiyon Fragman Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile belirlenmiştir. Alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş bireyler (n=50), herhangi bir madde bağımlılığı olmayan sağlıklı gönüllü bireylerle (n=50) karşılaştırıldığında, *GHRL* Leu72Met polimorfizmi açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. *GHRL* Leu72Met gen polimorfizmi ile alkol kullanım bozukluğu arasındaki ilişki Türk erkek bireylerde ilk defa gösterilmiştir.

Bu çalışmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlanmasında yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, çalışmalarına yön veren, tüm bilgisini benimle paylaşan akıl danışmanım değerli danışman hocam **Doç. Dr. Dilek AKYÜZLÜ**'ye teşekkür ederim.

Desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen Adli Bilimler Derneği Başkanı Sayın **Prof. Dr. İsmail Hamit HANCI**'ya, güler yüzü, bilgisi ve tecrübeleriyle her zaman örnek aldığım **Prof Dr. Nergis CANTÜRK**'e ve son olarak; süreç boyunca atıf, iktibas ve intihal sınırlarında mekik dokurken yaşadığım yoğun zamanlara gösterdikleri anlayışla beni destekleyen ve yetişmemde fedakârlıkları ile varlık sebebim olan ailem; canım babam **Ramazan KILIMAN** ve canım annem **Şirin KILIMAN**'a ve **canım kardeşlerime** minnettarlığımı belirtmekten zevk ve gurur duyarım.

Tezimi destekleyen **ANKARA ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNATÖRLÜĞÜ**'ne teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADH	Alkol Dehidrogenaz
AKB	Alkol Kullanım Bozukluğu
ALDH	Aldehit Dehidrogenaz
APA	Amerikan Psikiyatri Birliği
ATP	Adenozin Trifosfat
bp	Baz çifti
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSM	Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı
DSÖ/WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
GHRH	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormonunu
GHRL	Progrelin geni
GHS-R	Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
GPCR	G-protein-kenetli reseptörlere
ICD-10	Hastalıkların Uluslararası Sınıflaması-10
KOM	Kaçakçılık ve organize suçlarla mücadele
MEOS	Mikrozomal alkol–oksidasyon sistemi
Na ⁺ /K ⁺ ATP	Sodyum/potasyum-adenosin trifosfat
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NESARC	National epidemiologic survey on alcohol and related disorders
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Parçası Uzunluk Polimorfizmi
TBE	Tris Borat EDTA

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Alkol Metabolizmasında Rol Oynayan Enzimler	14
Şekil 1.2. ADH ve altbirimleri	18
Şekil 1.3. Alkol Metabolizma Ürünleri ve Etkileri	21
Şekil 1.4. Alkol Metabolizmasında Laktat Üretimi	24
Şekil 1.5. İnsan ve farede grelinin amino asit dizilimi	30
Şekil 1.6. Desaçil grelin, açıl grelin ve obestatinin sinyal yolları ve aktiviteleri	31
Şekil 1.7. Grelinin GHS-R 1a sinyal yolu	33
Şekil 1.8. Grelinin fizyolojik etkileri	35
Şekil 2.1. Sıvı kan örneklerinden “Qiagen Mini Kit” Yöntemi ile izole edilen DNA’ların agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü (M:50 bp ladder, 1-6: genomik DNA)	46
Şekil 2.2. PCR’ın basamakları	47
Şekil 2.3. GHRL Leu72Met polimorfizmini içeren gen bölgesine ait PCR ürününün agaroz jel elektroforez görüntüsü (M: 50 bp ladder, 1-3: 618 bp’lik amplifikasyon ürünü).	51
Şekil 2.4. GHRL Leu72Met polimorfizminin genotiplendirilmesi için çoğaltılan 618 baz çifti uzunluğundaki PCR ürünü, <i>BsrI</i> restriksiyon enziminin kesim noktası (yeşil ok) ve Leu72Met (G>T) tek nükleotid polimorfizmi (mavi ok) görülmektedir.	53
Şekil 2.5. GHRL Leu72Met polimorfizmi RFLP analizi agaroz jel görüntüsü M:100 bp DNA ladder; 1,3,4,7,8,10: GG (517 bp + 101 bp); 2,6,9: GT (618 bp + 517 bp + 101 bp); 5: TT (618 bp)	54

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. DSM-5 ve ICD-10 Alkol Kullanım Bozukluğu Tanı Ölçütleri	11
Çizelge 2.1. <i>GHRL</i> rs696217 polimorfizmi için PCR bileşenleri ile stoktaki ve reaksiyondaki konsantrasyonları	48
Çizelge 2.2. <i>GHRL</i> rs696217 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan Forward ve Reverse primerler ile özellikleri	49
Çizelge 2.3. <i>GHRL</i> rs696217 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PCR programı	50
Çizelge 2.4. <i>GHRL</i> rs696217 gen polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan restriksiyon enzimi ve kesim ürünlerinin uzunlukları (bp).	52
Çizelge 3.1. Çalışmaya dahil edilen alkol kullanım bozukluğu (AKB) tanısı almış bireyler ile sağlıklı gönüllü bireylere ait sosyodemografik bilgiler	57
Çizelge 3.2. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met genotip frekansları	59
Çizelge 3.3. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met alel frekansları	60
Çizelge 3.4. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met polimorfizminin beklenen ve gözlenen alel frekansları	60
Çizelge 3.5. Sağlıklı gönüllü bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met polimorfizmi genotip frekansları	61
Çizelge 3.6. Sağlıklı gönüllü bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met polimorfizmi alel frekansları	61
Çizelge 3.7. Sağlıklı gönüllü bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met polimorfizminin beklenen ve gözlenen alel frekansları	62
Çizelge 3.8. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireyler ile sağlıklı gönüllülerin <i>GHRL</i> Leu72Met polimorfizmi genotip frekanslarının karşılaştırılması	63
Çizelge 3.9. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireylerde <i>GHRL</i> Leu72Met genotiplere göre demografik verilerinin karşılaştırılması	64

1. GİRİŞ

1.1. Bağımlılığın Tanımı

Bağımlılık çok geniş bir kavram olup, birden çok tanımlaması mevcuttur. Bununla birlikte, yapılan tanımlamalar bağımlı olunan şeyin/maddenin özelliklerine göre farklılaşmaktadır. Genel anlamda bağımlılık, bir kişi, varlık veya nesneye duyulan vazgeçilemez ve engellenemez bir istek ya da başka bir iradenin hakimiyetine girme durumudur denilebilir. Bir diğer anlatımla, insanların belirli bir durumu yinelemekte ısrar etmesi, bu konuda engellenemeyen bir istek duymaları ve bu durumu sürdürme halidir (Uzbay, 2011).

Başka bir tanıma göre ise bağımlılık, gelişen tolerans sonucu maddenin sürekli olarak artan miktarda kullanımına devam edilmesi, bireyin yaşamında sorunlar yaratmasına rağmen kullanımının artarak sürmesi ve madde alımı azaldığında ya da kullanılmadığında yoksunluk belirtilerinin ortaya çıktığı bir durumdur. Bu maddelerin ortak özellikleri kendi alımlarını pekiştirmeleridir. Beyindeki ödül yolağı ve ödül sistemi üzerindeki etkileri maddenin keyif verici özelliğine bağımlı olma sonucunu doğurur ve birey tekrar tekrar bu maddeyi almak ister. Yaşanan olumsuz tüm sonuçlara rağmen birey bağımlı olduğu maddenin kullanımını kompulsif şekilde devam ettirir (Uluğ, 2007).

Kaçakçılık ve organize suçlarla mücadele (KOM) 2003 yılında madde bağımlılığını, tedavi amacıyla kullanılmayan ilaçları ve kimyasal içeriği betimlemek için kullanılan maddeler olarak, uyuşturucu maddeleri ise, belirli miktarda alındığında bireyin sinir sistemini etkileyerek tüm vücut dengesini bozan, toplumu ve bireyi olumsuz yönde etkileyen, kanunlarla kullanılması ve bulundurulması yasaklanan

maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bu maddeler narkotik ve psikotrop sözcükleri ile de tanımlanmaktadır. DSM-4'te belirtildiği üzere, maddeye karşı geliştirilmeyen bağımlılık durumları ise davranışsal bağımlılık olarak değerlendirilmektedir. Davranışsal bağımlılık, temel olarak kişinin zarar gördüğü ya da başkalarına zarar verdiği bir eylemi gerçekleştirme konusunda dürtüye karşı koyamama durumu olarak tanımlanabilir. Davranışsal bağımlılıkların madde bağımlılığı ile benzer süreçler içerisinde olduğu bilinse de, davranışsal bağımlılıklarda ilgili eylem tarafından çıkarılan davranış ya da his ile bağlantılı olduğu, ayrıca madde bağımlılığında ortaya çıkan fiziki bulguların davranışsal bağımlılıklarda görülmediği belirtilmiştir (Uzbay, 2011).

1.1.1. Bağımlılığın Tarihçesi

Madde kullanımının ve bağımlılık yapıcı maddelerin geçmişi çok eski tarihlere uzanmaktadır. Eski zamanlarda bağımlılık yapıcı maddelerin bazı tedavilerde ve dini ritüellerde kullanıldığı görülmektedir. Bilimin gelişmediği bu eski zamanlarda bağımlı bireyler günahkar ve suçlu kabul edilerek cezalandırılırken, bilimin gelişmesiyle birlikte bağımlılığın bir rahatsızlık olduğu ortaya çıkmıştır (Güleç ve ark., 2015).

Bağımlılık 1951 yılında DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından bir hastalık olarak kabul edilmiştir. Hastalık olarak kabul edilmesini takip eden süreçte bir davranış bozukluğu olarak görülürken, bağımlılıkla ilgili ilk ciddi adımlar 1980'li yıllarda atılmıştır. Madde bağımlılığına ilk olarak DSM'nin birinci basımında sosyopatik kişilik bozukluğu başlığında yer verilmiştir. DSM-2'de madde bağımlılığı açısından ilk basıma göre bir farklılık yapılmazken, DSM-3'te bazı değişiklikler meydana gelmiş; madde bağımlılığı ile madde kötüye kullanım bozukluğu ayrı iki tanı şeklinde sunulmuş ve hastalığın fizyolojik belirtilerine odaklanılmıştır (Güleç ve ark., 2015).

Bu dönemde APA'ya bağlı bağımlılık ile çalışan bir grup klinisyen DSM-3'te bulunan madde bağımlılığı ile ilgili kısmı revize etmek için bir araya gelmiştir. Aynı komite birkaç yıl süren çalışmalarını 1987'de DSM-3-R olarak yayınlamıştır. Komite, söz konusu bozukluğun kontrolsüz uyuşturucu arama davranışı olduğu konusunda hemfikir olmuş ve kararların çoğu oy birliği ile alınmıştır. Bağımlılıkla ilgili çalışmalarda sadece hastalığın belirtileri ve tanı ölçütleri değil kullanılan kavramlar açısından da tartışmalı noktalar bulunmaktadır. APA'ya bağlı komitenin içerisinde bulunan klinisyenler bu bozukluğun ismi için bağımlılık anlamındaki “addiction” terimini kullanmayı uygun görürken, komitede olmayan klinisyenler “addiction” teriminin kendilerinden yardım isteyen hastaları dışlayan ve aşağılayan bir kavram olduğunu dile getirmişlerdir. Bu dönemde daha tarafsız olan “dependence” terimi kullanılmış ve bu durum DSM-3-R'nin terminolojisine de yansımıştır. 1994 yılında yayınlanan DSM-4 çok az değişikliklerle DSM-3-R'nin terminolojisini kabul etmiştir (O'Brien, 2011). DSM-4'te ise madde kullanım bozukluğu ve madde bağımlılığı tanılarına daha hiyerarşik bir yaklaşım getirilmiş, yoksunluk ve tolerans bağımlılık tanısı için şart olmaktan çıkarılmıştır. Madde kullanımı ile ilişkili bozukluklar bölümü açısından DSM-4 ile DSM-4- TR basımlarında fazla değişiklik olmamıştır. DSM-4 ve DSM-5 arasında ise bağımlılık tanısı açısından farklılıklar olduğu görülmektedir. DSM-5'te olan değişiklikler sırayla; madde kullanımı ile ilgili başlık, tanı ölçütü sayısı, madde bağımlılığı ile madde kötüye kullanımı tek bir tanı altında toplanmıştır, tanıyı belirleyen ölçütler ve madde kullanımının yol açtığı ruhsal bozukluklardır (Güleç ve ark., 2015).

DSM-4'te, belirlenen yedi ölçütten üç veya daha fazlasının olması bağımlılık tanısı için yeterli kabul edilmekteydi, buna ek olarak belirlenen dört ölçütten bir veya daha fazlasının olduğu durumlarda “madde kötüye kullanımı” tanısı almak da mümkündü. DSM-5'te ise bağımlılık tanısı için belirlenen on bir ölçüt değerlendirilmekte, son bir yıl içinde bu ölçütlerden en az ikisi kendini gösteriyorsa ve klinik açıdan belirgin sıkıntılara ve işlevselliğin bozulmasına yol açıyorsa tanı konulmaktadır. DSM-5'te madde kötüye kullanımı tanı ölçütleri de bağımlılık tanı ölçütlerinin içinde değerlendirilmektedir. Değerlendirilen 11 ölçüt içinden 2 veya 3'ü

varsa hafif, 4 veya 5'i varsa orta, 6 veya daha fazlası varsa şiddetli bağımlılık tanısı konulmaktadır (Ögel 2017). Ayrıca DSM-5 terminolojisinde “dependence” ve “addiction” terimleri arasındaki kullanım sorunlarını gidermek için bazı değişiklikler yapılmış ve bozukluk anlamına gelen “disorder” kelimesi kullanılmaya başlanmıştır. Genel başlık “Bağımlılık ile İlgili Bozukluklar” olarak isimlendirilmiş, kumar bozukluğu bu başlığın altında madde ile ilişkili olmayan bozukluklar olarak sınıflandırılmıştır (O'Brien 2011). Esrar yoksunluğu ve kafein bağımlılığı gibi madde ile ilişkili olmayan bozukluklardan ilk defa DSM-5'te bahsedilmiştir (Güleç ve ark., 2015).

1.1.2. Madde Kullanım Bozukluğu

Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı olan DSM-V 2013 yılında hayatımıza girmiştir. Bu el kitabının temel amacı zihinsel hastalıklara tanı koymak için ölçütleri belirleyen bir kaynak olmasıdır. DSM-V'te bağımlılık yapıcı maddeler on altı gruba ayrılmıştır. Bunlar, alkol, kannabis, kafein, halusinojen, inhalan, sedatif-hipnotik ve anksiyolitik, opiat, nikotin, stimulanlar ve diğerleri şeklindedir. Madde kullanım bozukluğunda ise şu belirtilerden söz edilmektedir:

- Klinik bakımdan belirgin derecede deformasyona sebep olmasına rağmen madde kullanımının sınırlandırılmaması,
- Sürekli bir şekilde madde kullanımı isteğinin duyulması ve tekrar edici davranış gelişmesi,
- İstenen etki amacıyla kullanılan maddenin tekrarlanması ve arttırılması (tolerans),
- Maddeyi bırakmak için gerçekleştirilen denemeler sonrası endişe, bulantı, terleme, çarpıntı, huzursuzluk gibi çekilme belirtilerinin gelişmesi,
- Madde kullanımı nedeniyle aile, iş hayatında ve sosyal ilişkilerde bozulma, genel iyi oluş hâlinin bozulması.

Yukarıda belirtildiği gibi madde kullanan birey bu işten zarar görmesine rağmen kullanımı sınırlandırma ya da sonlandırmada problem yaşamakta, istenilen etkiyi ortaya çıkarmak için daha fazla maddeye yönelmekte, bırakma sonrasında fiziksel ve psikolojik sıkıntılar yaşamakta ve tüm ilişkileri zarar görmektedir. Madde kullanımı ile ilgili olarak temel bazı evrelerden söz edilmektedir. Bu madde kullanım evreleri şu şekildedir; (Dayi, 2013).

1. Evre: Merak dönemidir ve özellikle önleme çalışmaları açısından en önemli dönemdir.
2. Evre: Deneme dönemidir. Bu dönemde madde akranlar arasında kabul görmek amacıyla ya da eğlence amacıyla kullanılmaktadır. Büyük oranda bir davranış değişikliği görülmez.
3. Evre: Toleransın geliştiği dönemdir. Zaman maddeyi aramak için harcanır. Bu dönemde birey içinde bulunduğu sosyal ortamlarda ve aile içinde çeşitli problemler yaşamaktadır. Bu problemleri çözmek yerine genelde çoğu zaman maddeye yönelmek tercih edilir.
4. Evre: Yasal problemlerin başlayabileceği bu dönemde artık kontrol kaybedilmiş ve zihinde sürekli madde yer edinmiştir.
5. Evre: Bağımlılık dönemi olarak adlandırılmaktadır.

Bağımlı bireyler sosyal hayatlarında da problemler yaşamaktadırlar. Maddenin kullanım kontrolü ortadan kalkar ve kişi için en önemli yaşantı maddeye ulaşmaktır. Kişi zamanını, parasını ve yaşantısını maddeye adar. Tolerans arttıkça, birey geri dönmeyecek bir kısır döngüye girer. Madde kullanım bozuklukları özellikle ergenlik dönemi olmak üzere küçük yaşlarda da karşımıza çıkmaktadır. 2019 yılında Birleşmiş Milletler tarafından yayımlanan Dünya Uyuşturucu Raporu'na göre, tüm dünyada 31 milyon uyuşturucu bağımlısı bulunmaktadır. Bu rakam 2016 yılında 29,5 milyon

olarak belirlenmişti. Dünya genelinde uyuşturucu kullanımı 275 milyon olarak bildirilmişken bu rakam 2016 yılında 250 milyon civarında idi. Sürekli artan uyuşturucu kullanımı bu konudaki problemi gözler önüne sermektedir. Uyuşturucu kullanımı sürekli artmaktadır. Rapora göre uyuşturucu trafiğinde en tehlikeli bölgelerden birisi Türkiye’dir. Türkiye özellikle Afganistan ve Pakistan bölgelerinden çıkan uyuşturucunun Batı’ya ulaştırılmasında kilit ülke konumunda yer almaktadır. Bu transfere Orta Asya ve Hindistan’dan gelen uyuşturucunun da eklendiği bu raporda göze çarpan ayrıntılar arasında yer almaktadır. Gerek madde kullanımının ergenlik döneminde başlaması gerek dünya genelinde uyuşturucu kullanımının ve bağımlı sayısının artması gerekse içinde bulunduğumuz ülkenin büyük bir trafiğin içinde yer alması bu konuda daha fazla çalışma yapılması sonucunu doğurmaktadır. Özellikle maddeye başlamamış bireylere yönelik uygulanacak önleyici rehberlik çalışmaları bu konuda bireyleri koruyucu ve destekleyici rol oynayacak ve bireylerin maddeye başlamalarını zorlaştıracaktır.

1.1.3. Madde Kullanım Bozukluğunun Temel Bileşenleri

Yoksunluk: Uzun süre kullanılan bir maddenin sonlandırılması veya azaltılmasına bağlı olarak ortaya çıkan durumdur. Yoksunluğun fiziksel ve ruhsal belirtileri, şiddeti ve süresi kullanılan maddenin cinsine göre değişmektedir (Roberts ve ark., 2004).

Tolerans: Düşük dozda başlanan madde kullanımı, kişi üstünde yarattığı etkisi azaldığı ve rahatlama sağlamadığı için kişinin, kullandığı maddenin dozunu artırma gereksinimi duymasıdır (Ögel, 1997).

Entoksikasyon: Bağımlı olunan maddenin merkezi sinir sistemine etki etmesiyle oluşan durumdur. Alınan maddenin içerisindeki zehirleyici madde cinsine, miktarına, kişilik yapısına ve maddeyi kullanma süresine göre değişir (Yargıç, 2007).

Sosyal İçicilik: Özellikle alkol içicilerinin uzun süre alkol kullanımında herhangi bir sağlık sorunu ve/veya sosyal sorun oluşmadığında ve alkol alımı kesildiğinde de hiçbir

sorun ortaya çıkmadığından bu kişiler sosyal içici olarak adlandırılabilir (Coşkunol, 1997).

1.1.4. Alkol Kullanım Bozukluğu

Alkol Kullanım Bozuklukları sık görülen psikiyatrik rahatsızlıklar arasındadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre dünyada yaklaşık iki milyar insan alkollü içecek tüketmekte ve yaklaşık 77 milyon insanda, alkol kullanım bozukluğu bulunmaktadır (WHO, 2005). Epidemiyolojik çalışmalarda alkol bağımlılığı hızının bölgelere göre değişiklik gösterdiği görülmektedir. Kuzey Amerika'da yapılan geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalardan "National Comorbidity Survey" çalışmasında yaşam boyu alkol bağımlılığı prevalansı erkeklerde %20,1, kadınlarda %8,7 olarak saptanmıştır. Erkeklerde alkol kullanım bozukluğu, herhangi bir madde kullanım bozukluğu tanısından sonra en sık saptanan psikiyatrik tanı olmuştur (Kessler ve ark., 1996). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2001-2002 yılları arası 12 aylık prevalans değerlerini değerlendiren NESARC (National epidemiologic survey on alcohol and related disorders) çalışmasında ise, alkol bağımlılığı için 12 aylık prevalans %3,8 olarak saptanmıştır (Coskunel ve ark., 1999). Avrupa Birliği verilerine göre alkol bağımlılığı prevalansı, erkeklerde %5, kadınlarda ise %1'dir (Anderson ve ark., 2006). Ülkemizde bu yönde yapılmış geniş çaplı epidemiyolojik çalışma bulunmamaktadır. Ancak Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre alkol bağımlılığı nokta prevalansı %1,3 olarak bulunmuştur. Bu oran erkeklerde %1,7, kadınlarda % 0,7 olarak saptanmıştır (WHO, 2005). Ülkemizde alkol kullanım bozuklukları sıklığı pek çok batı ülkesinden düşük olsa da, kişi başına alkol tüketimi 1960'lı yıllardan bu yana giderek artmaktadır (WHO, 2005). Ülkemizde, 1997 yılında 2000 kişilik bir örneklem üzerinde yürütülen bir çalışmada, örneklemin %26,1'inin alkollü içecek tükettiği, bunların da %34,63'ünde bağımlılık sendromu olduğu görülmüştür (Anderson ve ark., 2006). Türkiye'den 20683 üniversite öğrencisinin değerlendirildiği diğer bir çalışmada DSM-IV ölçütlerine göre, öğrencilerin %1,2'sine alkol bağımlılığı, %2,2'sine ise alkol kötüye kullanımı tanıları konulmuştur (Uluğ, 2007).

Alkolizmin tarihçesine bakıldığında önemli olaylar dikkat çekmektedir. Amerikalı yerliler 1750'li yılların sonu ve 1800'lü yılların başında alkolle ilgili yardımlaşma grupları kurmaya başlamışlardır. 1774 yılında Anthony Benezet alkol üzerine ilk makalelerden biri olan "Mighty Destroyer Displayed" çalışmasını kaleme almıştır. 1784'te ise Amerikan Psikiyatri Birliği (APA)'nin kurucularından olan Benjamin Rush "Inquiry into the Effects of Ardent Spirits on the Human Mind and Body" adlı eserinde süregelen alkolizmin etkilerinden bahsederek bu durumun doktorlar tarafından tedavi gerektiren bir hastalık olduğunu savunmuştur. Rush'ın bu yayını Amerika'daki alkol karşıtı akımı başlatmıştır. 1849 yılında İsveçli Doktor Magnus Huss, süregelen alkol tüketiminden kaynaklanan bir hastalığı tanımlamış ve "Alcoholismus chronicus"u vurgulamıştır. 1937'de Alkol Sorunları Araştırma Konseyi, önde gelen bilim insanlarını alkolle ilgili sorunların araştırılması için bir araya getirmiştir. 1939'da Adsız Alkolikler kitabı yayımlanmıştır. 1944'te Marty Mann Alkolizm Eğitimi Ulusal Komitesi (National Committee for Education on Alcoholism)'ni kurmuş ve beş aşamalı bir yaklaşım çağrısında bulunmuştur. Bu aşamalar: Yerel halk eğitimi kampanyalarının alkolizm konusunda başlatılması, hastaneleri akut detoksifikasyon için alkolik kabul etmeye teşvik etmek, yerel alkol bilgi merkezlerinin kurulması, alkolizm tanı ve tedavisi için yerel klinikler kurmak ve uzun süreli bakım için "dinlenme merkezleri" kurulmasıdır. 1952'de ise Amerikan Tabipler Birliği alkolizmi tanımlamıştır (White, 2001).

Alkol kullanım bozukluğu tanısı alan hastaların önemli bir çoğunluğu hekime önce ailenin, arkadaşlarının ya da işyerinin baskısı ile gitmektedir. Bu nedenle kişi, içtiği içki miktarını, sıklığını, sürekliliğini, alkolün kendisine yaptığı zararlı etkilerini, işteki ve aile içindeki sorunlarını saklayabilir. Muayene esnasında hastanın belirgin fiziksel ve nörolojik belirtisi olmayabilir. Hastanın kendisinden ve yakınlarından alınacak bilgilerin yanı sıra iyi bir fizik ve nörolojik muayene yapılması, karaciğer enzimlerine bakılmasının uygun olacağı önerilmektedir. Hastada amnezik durumlar, bellek bozukluğu, sık düşme ve kafa travması öyküsü varsa kafa grafileri, EEG ve beyin görüntüleme tetkikleri gerekli olabilir (Uluğ, 2007).

Alkol, bütün dünyada hastalık ve şiddet ile ilişkisi bulunan, toksikoloji laboratuvarlarında çokça rastlanan bir maddedir. Adli Tıp Uzmanlarının meslek açısından bütün uygulama alanlarında çokça karşılaşmış olduğu problemlerden biridir. Alkol etki alanının etkisini değerlendirmede; alkolün fizyolojik davranış, motorlu ve fonksiyonel motorlu araçların kullanımında işyerleri ile ilişkisi bulunan sosyal ve aktivite eylemler üzerine olan etkileri konusunda epeyce sorular sorulabilmektedir. Bunun yanında adli laboratuvarlarda yapılan otopsilerde ölüm ile sonuçlanmasına sebebiyet veren maddenin etil alkol olup olmadığı, öteki toksik maddelere ilave olarak gerekli rol oynayıp oynamadığı, toksik olmadığı durumlarda tek başına ölüm konusundan sorumlu olup olmadığı, postmortem tespiti yapılmış olan ölünün ölüm anından önceki davranışa etkisinin ne boyutta olduğu, geciken ölüm hadiselerinde yaralanma zamanındaki kan alkol konsantrasyonunun ne kadar olduğu hususunda problemlere sebebiyet vermektedir (Coskunel ve ark., 1999).

1.1.5. Alkol Kullanım Bozukluğu Tanı Kriterleri

Alkol ve madde kullanım bozukluğunun tanısı için DSM-5'te 11 ölçüt belirlenmiştir. Yapılan değerlendirmeler bu 11 ölçütün son bir yılda karşılanıp karşılanmadığına göre yapılmaktadır. Kişi bu ölçütlerden iki ya da üçünü karşılıyorsa hafif, dört ya da beşini karşılıyorsa orta, altı veya daha fazlasını karşılıyorsa ağır derecede bağımlılık tanısı konulmaktadır. DSM-5'te ve ICD-10'da belirlenen alkol kullanım bozukluğu tanı ölçütleri Çizelge 1.1'de verilmiştir (Coskunel ve ark., 1999). Bu ölçütler alkol ve diğer bağımlılık yapıcı maddeler için ortak değerlendirilmektedir. Alkol dışında bir madde kullanımının olduğu durumlarda "alkol" kelimesi kişinin sık kullandığı madde ile değiştirilerek değerlendirme yapılmaktadır.

ICD-10' daki esas yenilik tek harf ve beraberindeki üç rakamın oluşturduğu dört haneli alfanümerik yapıdan oluşturulmuştur. Bu yapı sayesinde ICD-9' a göre kodlama iskeletinin kapasitesi iki katına çıkmıştır. Harflerden 26 tanesinden 25'i

kullanılmış ve ‘U’ harfi kullanılmamıştır. Bu harf olası geçici sınıflamalar, gelecekteki eklemeler ve değişiklikler için boş bırakılmıştır. ICD-10’ daki yeni değişikliklerden biri de bağışıklık sistemi hastalıklar kan ve kan yapan organların hastalıklarıyla birlikte sınıflandırılmıştır. Diğer bir değişiklik de sinir ve duyu sistemi hastalıkları bölümünün tek harf altında toplanamayacağına karar verilmiş ve ‘Göz ve eklerinin hastalıkları’ ile ‘Kulak ve mastoid çıkıntı hastalıkları’ olarak H harfinde sınıflandırılmıştır. ICD-10 pek çok ülkede klinik modifikasyonlara uğramıştır. Avusturalya’ da 1998’ de ICD-10-AM kullanılmaya başlanmış ve ülkemizde bu modifikasyon kullanılmaktadır (Öksüz ve Malhan, 2005).

Çizelge 1.1. DSM-5 ve ICD-10 Alkol Kullanım Bozukluğu Tanı Ölçütleri

“12 aylık bir süre içinde, aşağıdakilerden en az ikisi ile kendini gösteren, klinik açıdan belirgin bir sıkıntıya ya da işlevsellikte düşmeye yol açan, sorunlu bir madde kullanım örüntüsü”:
• İstendiğinden daha büyük ölçüde ya da daha uzun süreli olarak alkol alınması
• Alkol kullanımını azaltmak için sürekli bir isteğin ya da sonuç vermeyen çabaların olması
• Çok zaman ayırma
• Alkol kullanmak için güçlü istek duyma
• Konumunun gereği olan başlıca sorumluluklarını yerine getirememe
• Kişilerarası ya da toplumsal sorunlar doğurmasına rağmen alkol kullanımını sürdürme
• Alkol için diğer etkinliklerini bırakma
• Tehlikeli olabilecek durumlarda kullanma
• Bedensel ya da ruhsal sorunlara rağmen kullanımı sürdürme

1.1.6. Alkol

Alkol (etil alkol) meyve, sebze ve tahıllardaki karbonhidratların fermantasyonu sonucu kolayca elde edilebilmektedir. Bu nedenle tarih boyunca hemen her toplumda sıklıkla kullanılmıştır. Alkol kullanımına ilişkin ilk kaynaklar M.Ö. 3000–4000 yıllarına dayanmaktadır. Eski Mısır, Mezopotamya, Yunan ve Roma uygarlıklarında alkolün kullanıldığı, hatta hastalıkların tedavisi için reçete tabletlerine yazıldığı görülmektedir. Kolonya gibi birçok ev ürünüde yaygın olarak kullanılmakta olan alkolün modern tıpta kullanımı sınırlıdır. Öksürük şurupları, ağız yıkama çözeltileri ve cilt antiseptikleri gibi bazı ilaçların içerisinde bulunmaktadır (Kleinschmidt ve ark., 1998). Alkol, kafein ve tütünden sonra dünyada en yaygın olarak kullanılan, suiistimal edilen bir psikostimulandır (Coskunel ve ark., 1999).

Alkol, renksiz, karakteristik bir kokusu olan, yakıcı, suda çözünebilir organik bir çözücüdür. Erime derecesi $-141,1^{\circ}\text{C}$, kaynama derecesi ise $78,5^{\circ}\text{C}$ 'dir. Alkolün 20°C 'deki yoğunluğu $0,789\text{ g/mL}$ 'dir (Kleinschmidt ve ark., 1998).

1.1.7. Alkol Toksikokinetiği

Oral alımından sonra mide-bağırsak sistemindeki mukoza epitellerinden pasif difüzyonla alkolün yaklaşık %20'si mide, kalan %80'i ise duodenum ve ince bağırsak mukozasından emilir (Holford ve ark., 1987; Gemma ve ark., 2006). Absorbsiyon oranı, günün zamanına, dozaj formuna, alkol konsantrasyonuna, içilen ürüne, midenin boş olup olmama durumuna göre değişir (Bosron ve ark., 1986; Uzbay, 2005; Gemma ve ark., 2006). Alkol, $<0,3\text{ mg/kg}$ oral absorbsiyon sonrası diğer organlara gitmeden önce karaciğere taşınır ve ilk geçişte eliminasyona uğrar. Yüksek doz alkol alımında ise, absorbsiyon yüzdelerindeki olası bireysel farklılıklardan dolayı sayısal olarak bu

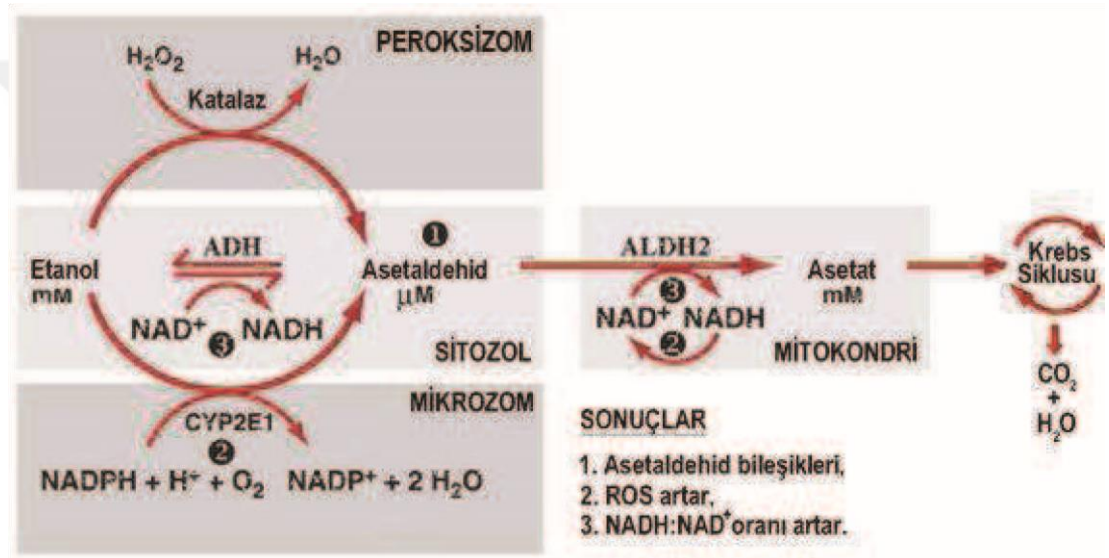
etkiyi tanımlamak kolay değildir (Gemma ve ark., 2006). Alkolün absorpsiyon hızının fazla olmasının sebebi; sıvı, ufak molekülü ve noniyonize olmasıdır. Alındıktan beş dakika içinde kanda belirir. Sağlıklı bir kişide tek dozdan sonra maksimum kan konsantrasyonuna 40-60 dk'da ulaşır, gastrektomili hastalarda ise bu süre yaklaşık 20 dk'dır. Mide dolu olduğunda absorpsiyon yavaşlar ve bağırsağa geçiş süresi uzar. Bununla birlikte, yiyecekler karaciğer kan akımını arttırıp alkolü metabolize eden enzimleri indüklerler ve alkolün eliminasyonunu hızlandırırlar (Bosron ve ark., 1986). Alınan içkide alkol konsantrasyonu yüksekse, pasif difüzyonla ilgili konsantrasyon farkının fazlalığı nedeniyle absorpsiyon daha hızlı olur. Eğer içkideki alkol oranı çok yüksekse pilorospazm gelişebilir ve alkolün ince bağırsağa geçişi engellendiği için absorpsiyon gecikebilir (Uzbay, 2005).

Alkol vücutta bütün sıvı kompartmanlara kolayca ve homojen olarak dağılır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı oldukça düşüktür. Vücut boşluklarındaki sıvılarda bulunan alkol konsantrasyonu kandakine yaklaşık olarak eşittir. Alkolün lipid/su dağılım kat sayısı yaklaşık olarak 1/30'dur. Vücut sıvı ve dokularında alkolün dağılım hızı, dokunun büyüklüğüne, geçirgenliğine ve kan akışına bağlı olarak değişim gösterir (Sayın ve ark., 2000; Uzbay, 2005).

Emilen alkolün %90'dan fazlası karaciğerde oksidasyon yolu ile metabolize olur. Alkol metabolizmasında başta alkol dehidrogenaz (ADH) ve aldehit dehidrogenaz ALDH olmak üzere, ayrıca mikrozomal alkol- oksidasyon sistemi (microsomal ethanol oxidation system; MEOS; mikrozomal CYP4502E1; CYP2E1) ve hidrojen peroksida bağlı peroksizomal katalaz (CAT) sistemleri rol oynamaktadır (Quertemont 2004; Ilter ve ark., 2005; Gemma ve ark., 2006).

Alkol, ADH, CYP2E1 ve CAT'ın rol oynadığı enzimatik ve nonenzimatik reaksiyonlar ile asetaldehite dönüşür. Alkolün ADH enzimi ile asetaldehite yıkım

süreci yavaş bir metabolik aşamadır. Çünkü ortaya çıkan hidrojen için kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) kullanılması gerekmektedir. NAD^+ indirgenerek NADH 'ya dönüşür. Yüksek miktarlardaki alkolün varlığında karaciğer hücresi endoplazmik retikulumunda bulunan MEOS devreye girer. MEOS'un alkole afinitesi ADH enzimine göre çok azdır. Dolayısıyla az miktarlarda alınan alkolün metabolizmasında MEOS'un rolü yoktur (Şekil 1.1) (İlter ve ark. 2005; Gemma ve ark., 2006).



Şekil 1.1. Alkol Metabolizmasında Rol Oynayan Enzimler (http://www.niaaa.nih.gov/Resources/GraphicsGallery/Metabolism/pathways_alcohol.htm.)

Daha sonraki basamakta asetaldehit karaciğerde ALDH'nin rol oynadığı enzimatik yolak ile asetik aside, sonrasında asetik asidin aktif formu olan asetil CoA'ya ve daha ileri safhasında ise keton cisimlerine, aminoasidlere, yağ asidlerine ve steroidlere metabolize olur. En son basamakta ise Krebs siklusuna girerek okside olur ve son ürün olarak CO_2 ve su açığa çıkar (Gemma ve ark., 2006). Bu koruyucu süreç hızlıdır ve asetaldehit birikimini engeller (İlter ve ark., 2005).

Asetaldehit, alkolün toksik etkili metabolitidir. Hücresel DNA tamir mekanizmasını düşürerek, serbest radikaller oluşturup lipid peroksidasyonu ve hepatik kollajen sentezini arttırarak karaciğer toksisitesine neden olur (Kleinschmidt 1998; Lee ve ark., 2001). Asetaldehitin kanda birikmesiyle yüzde kızarma, çarpıntı, baş ağrısı, kusma, terleme gibi belirtiler ortaya çıkar. ADH, alkolü ne kadar hızlı asetaldehite dönüştürürse veya ALDH, asetaldehiti asetata ne kadar yavaş çevirirse, ortamdaki asetaldehit miktarı o kadar artar, bu belirtiler belirginleşir ve kişinin aldığı alkol miktarını kısıtlar (Tanaka ve ark., 1997; Yokoyama ve ark., 2003; Quertemont 2004).

Alkol oksidasyonunda NAD^+ 'nin NADH 'ye indirgenmesi oldukça önemlidir. NADH 'nin NAD^+ 'ye rejenere olması alkolün biyotransformasyonunda hız kısıtlayıcı basamaktır. NAD^+ rejenerasyonu; karaciğer hücresinde piruvatın laktata, oksalasetatin maltata indirgenmesi ve benzeri indirgenme olaylarına bağlı olarak gerçekleşir. Bu sebeple, alkol alındığında hepatositlerde piruvat/laktat oranı 6,5 kez azalır. Kronik alkol tüketenlerde hepatositlerin oksijen ve ATP tüketimi hızlanır. NAD^+ 'nın rejenerasyon hızı kısıtlı olduğundan NADH/NAD^+ oranı yükselir. Yağ asitleri ve ürik asid birikir. Piruvatın azalmasından dolayı glukoneojenez bloke edilir (Uzbay, 2005).

Alkolün asetaldehite dönüşümü alkol konsantrasyonuna bağlı olarak hızlanabilir. Konsantrasyon 100 mg/100 mL düzeyine ulaştığında maksimuma erişir, bundan sonra konsantrasyon artsa bile hız sabit kalır. Bunun nedeni NADH rejenerasyon hızının kısıtlı olmasıdır (Uzbay, 2005). Vücudun alkole karşı savunma düzeneklerinden bir diğeri ise, midede alkol yoğunluğu arttığında mukus salgılanır, pilor kapanır ve bu durum alkolün ince bağırsağa geçişini yavaşlatarak emiliminin azalmasını sağlar. Pilonun kasılması ile bulantı ve kusma da ortaya çıkar (Zernig, 2000).

Alınan alkolün küçük bir kısmı değişmeden akciğerden (% 0,7), böbreklerden (% 0,3) ve ter bezlerinden (% 0,1) de atılır (Holford ve ark., 1987). Kadınlar ve erkeklerde alkol metabolizmasında farklılık vardır. Aynı miktar alkol alımına rağmen kadınlarda kandaki alkol miktarı erkeklere oranla daha yüksektir. Nedenleri; (i) kadınlarda vücut yağ oranı fazla olduğundan erkeklere oranla alkolün dağılım hacim daha düşüktür (ii) kadınlarda gastrik ADH miktarı daha azdır ve midede alkolün yıkım hızı erkeklerdekinin yaklaşık 1/4'ü kadardır (Frezza ve ark., 1990; Ammon ve ark., 1996; Chen ve ark., 1999).

Uzun süre alkol kullanan kişilerde enzim indüksiyonu ve duyarlılık artışı nedeniyle metabolizma daha hızlıdır (Gemma ve ark., 2006; Zernig, 2000). Alkolün uzun süre kullanımı CYP2E1 enzimini indükler. Kronik alkol alanlarda bu enzimlerle yıkılan ilaçlar alındığında ilaçların etkinliği azalır. Ancak alkolün vücutta bulunduğu süre boyunca bu enzimler inhibe edilmiş şekildedir. Örneğin; alkolik birinin alkol almadığında barbitüratları hızlı inaktive olurken, alkolle birlikte barbitürat aldığı anda barbitürat yıkımı yavaşlar (Uzbay, 2005).

1.1.8. Alkol Metabolizmasından Sorumlu Enzimler

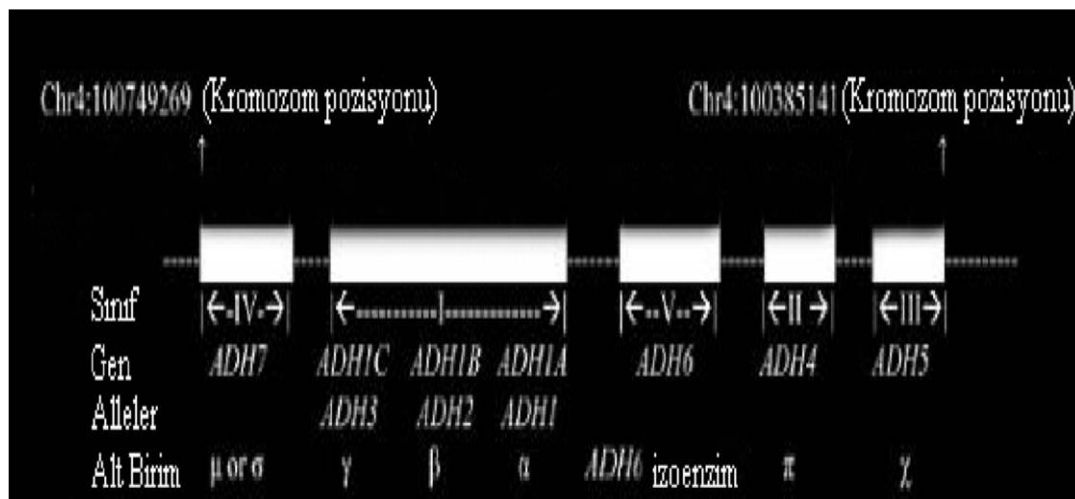
1.1.8.1. ADH

Alkol oksidasyon hızını etkileyen önemli faktörlerden biri karaciğer ADH miktarı ve spesifik aktivitesidir. Alkol metabolizmasının temel oksidatif yolağında görev alan ADH, etil alkol dışında alifatik diğer alkoller, hidroksisteroidler ve lipid peroksidasyon ürünleri olmak üzere geniş bir substrat yelpazesine sahiptir (Gemma ve ark., 2006; Jelski ve ark., 2008).

Karaciğer ADH aktivitesi, çevresel ve genetik faktörlere bağlı olarak bireyler arasında büyük farklılıklar gösterir (Sayın ve ark., 2000; Quertemont, 2004; Gemma ve ark., 2006). Kronik alkol kullananlarda ADH aktivitesi değişmezken akut alımlarda karaciğer ADH düzeyi %40 oranına kadar düşebilir (Kleinschmidt, 1998). Beyaz ırkta ve kadınlarda gastrik ADH aktivitesinin düşük olduğu görülmüştür. Bu sebeple mideden ilk geçişte düşük oranda eliminasyon olur, alkol klerensi azalır ve kan konsantrasyonu artar. Ayrıca bu durum kadınlarda alkolün indüklediği etkilere karşı hassasiyetin de artmasına neden olur (Frezza ve ark., 1990; Gemma ve ark., 2006).

İnsan ADH'sı, her birinin molekül ağırlığı 40 kDa olan, iki altbirimin oluşturduğu dimerik bir proteindir (Vural ve ark., 2000; Gemma ve ark., 2006). ADH enzimini kodlayan gen, 4. kromozom üzerinde lokalizedir (4q21-q24) ve yaklaşık 365 kb uzunluğundadır (Chinnaswamy ve ark., 2005; Gemma ve ark., 2006; Jelski ve ark., 2008).

İnsanlarda 7 tane ADH geni tanımlanmıştır. Bunlar 5 temel gruba ayrılır. Alkol metabolizmasında 1. 2. ve 4. sınıf izoenzimler önemli rol oynar. 1.sınıf ADH izoenzimleri esas olarak karaciğerde bulunurlar, toplam alkol oksidasyon kapasitesinin yaklaşık %70'inden sorumludurlar. Alfa (α , ADH1A, ADH1), beta (β , ADH1B, ADH2) ve gama (ADH1C, ADH3) olmak üzere 3 altbirimden oluşurlar (Li ve ark., 2001; Gemma ve ark., 2006). Homo ve heterodimerik yapılara sahiptirler (Lee ve ark., 2004). 2. sınıf ADH izoenzimleri sadece pi (π , ADH4) homodimeriktir. 4.sınıf ADH'lar ise sigma (μ veya σ , ADH7) homodimeriktir ve sadece midede bulunurlar (Li ve ark., 2001; Jelski ve ark., 2008). Homodimerik proteinler aynı lokus tarafından kodlanırken, heterodimerik proteinler ya farklı lokustaki aleller ya da aynı lokustaki farklı aleller tarafından kodlanırlar (Şekil 1.2) (Gemma ve ark.,2006).



Şekil 1.2. ADH ve altbirimleri (Luo ve ark., 2006).

Başta karaciğer olmak üzere gastrointestinal yol, böbrek ve akciğerlerde bulunan ve “klasik ADH” olarak bilinen 1. sınıf ADH izoenzimleri, alkol metabolizmasında önemli rol oynarlar, alkol oksidasyonunu reversibl olarak kataliz ederler, yüksek affiniteleri, fakat düşük kapasiteleri vardır (Jelski ve ark., 2008). Ayrıca biyoamin ve prostaglandin metabolizması, steroid dehidrojenasyonu ve doymuş yağ asitlerin oksidasyonuna katılırlar. Retinoik asidin biyosentezinde birinci basamak olan retinolün retinale oksidasyonunu kataliz ederler (Napoli, 1999; Hellgren ve ark., 2007; Jelski ve ark., 2008).

ADH izoenzimlerinin polimorfik biçimleri, yapı ve kinetik özellikler açısından farklılıklar gösterir (Quertemont, 2004). Kinetik özelliklerindeki değişiklikler alkolün in vivo eliminasyon oranında farklılıklara yol açmaktadır. Atipik ADH'nın aktivitesi fizyolojik pH'ta normal enzim aktivitesinden birkaç kat daha fazla olduğundan atipik izoenzime sahip olan bireyler alkolü normal ADH fenotipi olanlarla karşılaştırıldıklarında daha hızlı metabolize ederler. Aynı zamanda yüksek alkol konsantrasyonlarında alkol eliminasyonunun toksikokinetik eğrisi atipik ADH biçimi olanlarda belirgin farklılık göstermektedir (Kassam ve ark., 1989).

1.1.8.2. ALDH

Asetaldehitin asetik aside dönüşmesini NAD⁺ bağımlı kataliz eden ALDH'nın alifatik ve aromatik aldehitler olmak üzere geniş bir substrat yelpazesi vardır ve bunları irreversibl olarak karboksilik asitlerine çevirir (Li ve ark., 2001; Gemma ve ark., 2006). Membranlarda lipid peroksidasyonu neticesinde üretilmiş olan aldehitlerin metabolizmasına katılması enzimin önemini artırır. Asetaldehitin asetik aside dönüşme hızı alkolün asetaldehite dönüşme hızına göre hızlıdır ve vücutta asetaldehit birikimini önler. Asetik asidin kandaki konsantrasyonu alkolün %1'i kadardır. Alkol kullanım bozukluğu olanlarda mitokondrilerin bozulmasından dolayı asetaldehit oksidasyonu yavaşlar (Jelski ve ark., 2008). Karaciğere asıl toksik etkiyi gösteren metabolit asetaldehit, alkol alımını takiben gelişen yüzde kızarma, çarpıntı, baş ağrısı, kusma, terleme gibi belirtilerin ortaya çıkmasından sorumludur (Kuo ve ark., 2008).

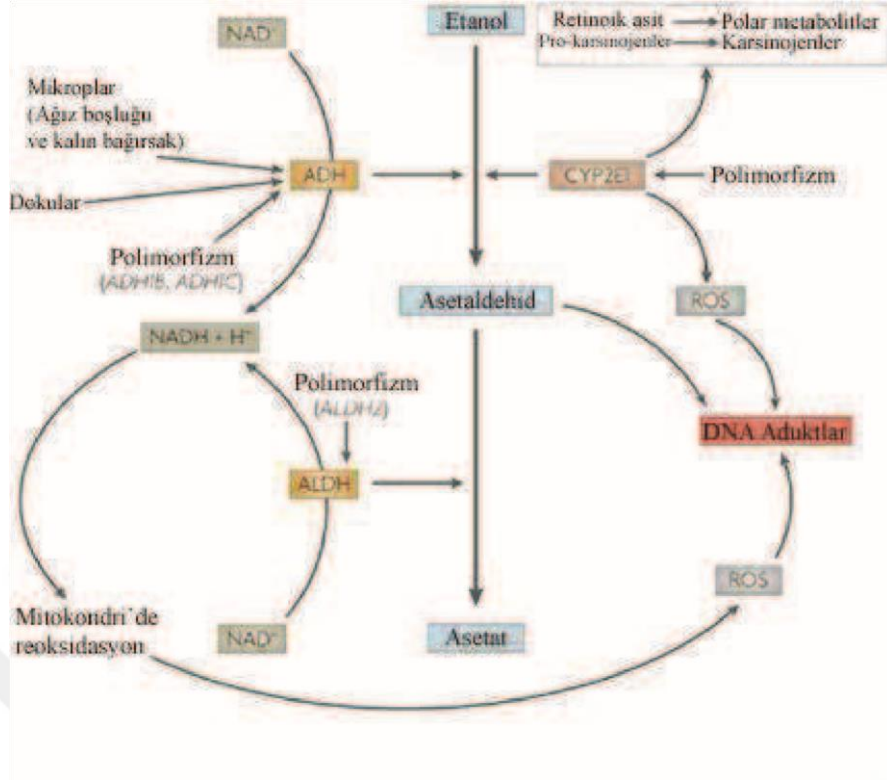
ALDH enzimini kodlayan genler farklı kromozomlar üzerinde lokalize olmuşlardır. ALDH gen ailesinde 19 esas fonksiyonel gen ve 3 psödogen kodlama yapmaktadır. Bunlar farklı kinetik özelliklere sahiptirler, hücre ve dokularda dağılımları farklıdır (Gemma ve ark., 2006). Sadece ALDH1 (ALDH1A1, 9q21.13, sitozolik izoenzim) ve ALDH2 (12q24.2, mitokondrial izoenzim) belirgin şekilde asetaldehit oksidasyonundan sorumludurlar (Li ve ark., 2001; Jelski ve ark., 2008; Chen ve ark., 2009). ALDH3 ise mide, ter bezleri ve hepatokarsinomlarda bulunur (Gemma ve ark., 2006). ALDH2 asetaldehite karşı yüksek affinite gösterir. ALDH2 asetaldehit metabolizmasında %65'ten fazla rol alırken, ALDH1 sadece alkol metabolizmasından üretilmiş asetaldehitin %20'sini kataliz eder. Diğer sınıf ALDH'lar asetaldehit oksidasyonunda oldukça az rol oynarlar. Ancak monoaminler, diaminler ve poliaminler gibi toksik biyojenikleri ve ksenobiotikleri elimine ederler (Jelski ve ark., 2008).

ALDH1 ve ALDH2 homotetramerik proteinlerdir. ALDH2'nin insan karaciğerinde birçok formu bulunurken ALDH1'e beyinde sık rastlanmıştır (Crabb ve ark., 1989). Asetaldehit oksidasyonunda temel rol oynayan ALDH2'nin fonksiyonel polimorfizmi ile alkol kullanımı ve alkolizm arasında ilişki olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Li 2001; Jelski ve ark., 2008; Lee ve ark., 2008).

ALDH2 enzimi için yabanıl (wild) alel ALDH2*1'dir. Çeşitli ALDH2 mutantları olmasına rağmen en iyi çalışan 12. ekzonda bulunan G/CA/T tek nükleotid değişimidir. Bu tek nükleotid değişimi Glu487Lys ile sonuçlanır. 487Glu (ALDH2*1) aleli aktif enzimi kodlarken, 487Lys (ALDH2*2) aleli inaktif enzimi kodlar (Vasiliou ve ark., 2000; Chen ve ark., 2009). Basit bir ifadeyle ALDH2*2 gen polimorfizmine sahip kişilerin ALDH enzimleri inaktiftir. Bu durum asetaldehitin asetata dönüşümünü yavaşlatacaktır. ALDH2*2 homozigot bireylerde aktivite yokken, ALDH2*1/2 heterozigot bireylerde %30-50 ALDH aktivitesi vardır. ALDH2*2 genini taşıyan bireylerde kandaki asetaldehit seviyesi ALDH2*1 genini taşıyanlara göre 6-20 kat fazladır (Gemma ve ark., 2006). ALDH2*2 aleline sahip bireylerin bir bardak içki içmeleri bile zordur, çünkü asetaldehiti detoksifiye edemezler (Crabb ve ark., 1989; Tamakoshi ve ark., 2003; Higuchi ve ark., 2004; Druessne ve ark., 2009). Kanda asetaldehit seviyesinin yükselmesiyle birlikte asetaldehitin kalp atım hızı, baş ağrısı, kızarma gibi alkolizmden koruyan, hoş olmayan etkilerinde artış olur (Ehlers ve ark., 2001; Higuchi ve ark., 2004). ALDH2'de 1486. ve 1464. kodonlarında da ayrıca polimorfizm bulunur. 1486'daki G→A değişimi 479Lys alelini 479Glu aleline (ALDH2*3) dönüştürür. 1464'teki G→A değişiminde ise amino asid değişimi görülmez (Salman, 2007).

1.1.8.3. Mikrozomal alkol–oksidasyon sistemi (MEOS: microsomal ethanol oxidation system)

Alkol metabolizmasında rol oynayan MEOS, CYP450'ye bağılı enzim sistemidir. Esas olarak CYP2E1'in etkin olduğı sistemde CYP1A2 ve CYP3A4 de aktiviteye katkı sağlar (Quertemont, 2004). Ancak MEOS, sistemin esas enzimi olmasından dolayı CYP2E1'in karaciğerde endoplazmik retikuluma yerleşmiş olan alkol oksidasyonu yapan bölümü olarak adlandırılmaktadır (Uzbay, 2005). Bu yolla CYP2E1'e bağılı olarak alkol asetaldehite okside olurken NADPH, NADP⁺ya redükte olur. Sadece alkolün %10'u sitoplazmada bu yolla asetaldehite çevrilir. MEOS'un alkole afinitesi, ADH enzimine göre daha azdır. Kronik alkol içen kişilerde CYP2E1 aktivitesi 10 kata kadar artar (Lieber ve ark., 2000; Quertemont, 2004). Fazla miktarda alkol alındığında CYP2E1, alkolü okside ederken reaktif oksijen türlerini de üretir (Şekil 1.3). Reaksiyon süresince, CYP2E1, hidrojen peroksid, süperoksid anyonu ve hidroksil radikali gibi lipid peroksidasyonunu katalizleyen, sitokin ürününü arttıran, mitokondri ve DNA hasarıyla başlayıp hücre ölümüne kadar giden toksik etkilere sahip reaktif oksijen radikalleri oluşturur (Gemma ve ark., 2006). Yüksek miktarda alkol alanlarda ve alkoliklerde (alkolün tüketilmediğı zamanlarda dahi) CYP2E1 indüklenmiş durumdadır, böylece alkol klerensi artarken beraberinde alkolle birlikte alınan diğeri ilaçların metabolizmaları da hızlanır (Ariyoshi ve ark., 1970; Gemma ve ark., 2006). Bununla birlikte alkolle ilaç kullanımında, mikrozomal sistemde CYP2E1 tarafından metabolize olan ilaçlar alkolle yarışır ve sonuçta ilaçların metabolizmasında azalma görülür (Ariyoshi ve ark., 1970; Uzbay, 2005).



Şekil 1.3. Alkol Metabolizma Ürünleri ve Etkileri (Helmut ve ark., 2007)

1.1.8.4. Katalaz

Katalaz alkol metabolizmasında rol oynayan bir diğer enzimdir (Cichoz-Lach ve ark., 2007). Ancak yüksek miktarda alkol alındığında alkolün asetaldehite dönüşmesinde aktif rol oynar (Tekin ve ark., 2005). Katalaz, H_2O_2 aracılığıyla, alkolü 1 mol asetaldehid ve 2 mol oksijene okside ederek katalizler. Bazı araştırmacılar H_2O_2 'ın sınırlı bulunmasından dolayı alkolün eliminasyonuna katkısının az olduğunu öne sürmektedir (Lieber ve ark., 2000). Bununla birlikte hipermetabolik durumda H_2O_2 peroksizomal oksidasyon yolunun artmasıyla alkol metabolizmasında artış gözlemlenmiş ve bu durum alkol inflamasyonu ve alkolik karaciğer hastalığı olan nekroz ile ilişkilendirilmiştir (Handler ve ark., 1999).

1.1.9. Alkol Toksisitesi

Alkol az miktarda alındığında hafif sedasyon yapar. Kişide anksiyete, endişe, sıkılgnalık ve sorumluluk duygusunu azaltır, öfori oluşturur. Kişinin kendini kontrol yeteneği azalır, beceri isteyen işleri yapmakta zorlanır ve psikomotor testlerde başarı oranı düşer. Alkol, iç kulaktaki denge organını da bozar, buna bağlı olarak pozisyonel nistagmus yapabilir. Fazla miktarda alkol alındığında ise, kişi yaklaşık olarak dört saat kadar derin bir uykuya dalar, fakat sonrasında huzursuzlaşır ve eksitasyon belirtileri ortaya çıkar. Ertesi sabah dinlenmiş olarak değil yorgun şekilde, başağrılı, baş dönmeli, kan basıncı değişmiş, susamış ve asidoz gibi belirtilerle uyanır. Kanda asetaldehit seviyesinin yükselmesiyle asetaldehitin sebep olduğu bu hoş olmayan etkiler artar (Ehlers ve ark., 2001; Higuchi ve ark., 2004; Roberts-Thomson ve ark., 2004).

Alkol metabolizmasından sorumlu enzimlerdeki genetik polimorfizmler alkol oksidasyon kapasitesi ve içme alışkanlığında bireyler arası farklılıklara sebep olmaktadır. Birçok bireyde düşük düzeylerde dahi alkol kullanılması yüzde kızarma, nabız artışı, sol ventrikül işlevlerinin artması, midede gerginlik, çarpıntı, kas güçsüzlüğü gibi alkol duyarlılık belirtilerinin ortaya çıkmasına sebep olabilir (Harada ve ark., 1982; Coskunel ve ark., 1999; Matsuo ve ark., 2005). Beyaz ırkta alkole karşı kızarma tepkisi %5 gibi düşük oranlarda görülürken, Amerikan yerlileri ve Çinlilerde %80'lere yükselen rakamlar bildirilmiştir. Alkolün öforik ve disforik etkileri arasındaki bireysel ve ırksal farklılıklar da birçok etnik grupta gösterilmiştir (Agarwal ve ark., 1990).

Alkol intoksikasyonda ve yoksunluk sendromunda nöropsikiyatrik etkilere ek olarak, kronik kullanımda, Wernicke's ensefalopati, Korsakoff's psikoza, demans görülür. Akut alkol alımında şuur kaybı da oluşur. Yaygın nörolojik semptom, polinöropatidir. Tiamin eksikliği ile güçsüzlük, Wernicke's ensefalopatisi şiddetlenir (Kleinschmidt ve Delaney, 1998).

Alkol kullanımıyla ilgili kardiyak sorunlar; kongestif kalp yetmezliği ile birlikte kardiyomiyopati, disaritmi, hipertansiyon ve koroner arter rahatsızlıklarıdır. Alkolik kardiyak rahatsızlığı genetik yatkınlık ve alkolün kullanım süresi ile ilgilidir. Patolojisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak sodyum/potasyum-adenosin trifosfat ($\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPaz}$) pompası, kalsiyum homeostazı, protein kontraktilitesindeki değişmelerin sebep olabileceği düşünülmektedir. Fazla alkol tüketenlerde sistolik ve diastolik kan basıncı yükselir. Diğer taraftan akut alkol alanlarda kardiyak fonksiyonlarının ve damar direncinin düşmesi diastolik kan basıncının düşmesine neden olabilir (Kleinschmidt ve Delaney, 1998).

Alkolün koroner arter aterosklerozuna etkisinde, az alkol alanlarda, fazla tüketenlere göre risk düşüktür. Bu koruma özelliği, alkolün yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyesini arttırması, düşük yoğunluklu lipoprotein seviyesini ise düşürmesinden ileri gelmektedir (Kleinschmidt ve Delaney, 1998).

Alkol, gastrointestinal yolda da özofajit, gastrit, peptik ülser, malabsorbsiyon gibi rahatsızlıklara neden olur. Alkol, diürezi, mide bulantısı ve zayıf beslenmeyi de indükler. Alkolik hastaların multivitamin, tiamin ve folat almaları, ketoasidoz ve glikojen eksikliği nedeniyle de rutin olarak glikoz almaları öne sürülmektedir (Kleinschmidt ve Delaney, 1998). Hem akut hem de kronik alkol kullanımı kemik iliğindeki hematopoetik elementleri baskılar. Bu etki hem direkt alkolün etkisi hem de vitamin eksikliğinden dolayıdır (Kleinschmidt ve Delaney, 1998).

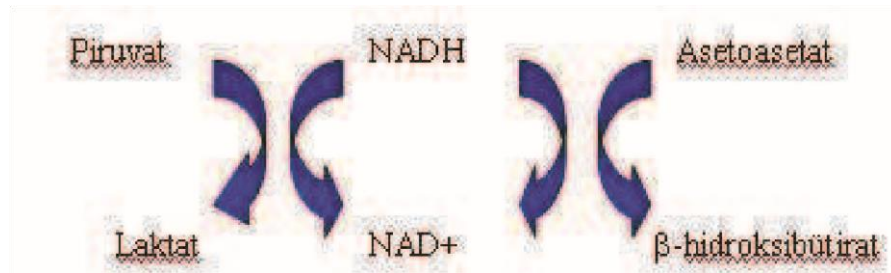
Alkol gonadal aktivite ile mineral, glukokortikoid veya karbonhidrat metabolizmalarını içeren endokrin fonksiyonları etkiler. Hipotalmik-hipofiz-testiküler eksenini direkt veya indirekt etkiler. Alkol ve metabolitleri, testesteron ürünlerini direkt olarak azaltır. Sirozlu alkolik hastaların yarısında atrofik testis ve jinekomasti görülür.

Fazla alkol tüketen kadınlarda anovülatuar siklusa rastlanır. Siroz olan kadınlarda siroz olmayanlara göre amenore daha sık rastlanır (Kleinschmidt ve Delaney, 1998).

Kronik alkol kullanımı, hem kadınlarda hem erkeklerde osteoporoza sebep olur. Alkol direkt olarak osteoblastlara toksik etkilidir. Hipogonadizm, kalsiyum alımının ve malabsorpsiyonun düşmesi, üriner kalsiyum atılımının artması ve hipokalsemi de paratroid cevabının değişmesi osteoporozu etkileyen diğer faktörlerdir (Kleinschmidt ve Delaney, 1998).

Akut veya kronik alkol alımı ile hipotalmik-hipofiz-adrenal eksenini de etkilenir. Adrenokortikotropin seviyesi yükselir, oluşan yüksek kortisol seviyesi bazı alkoliklerde Cushing sendromuna neden olur. Glukokortikoid sekresyonundaki artış, alkolün bırakılmasından sonraki bir kaç hafta içinde normale döner (Adler 1992).

Alkoliklerde çeşitli asit-baz anormallikleri görülür. Alkol kendi başına laktik asidoza anlamlı derecede neden olmasa da diğer patolojik olaylarda dikkate alınmalıdır. Alkoliklerde yaygın olarak ketoasid ve laktik asid kombinasyonu sonucu anyon açığı olarak asidoz durumu ortaya çıkar. NADH/NAD⁺ oranının artması üzerine piruvat üzerinden laktat üretimi artar (Şekil 1.4) (Kleinschmidt, 1998).



Şekil 1.4. Alkol Metabolizmasında Laktat Üretimi

Alkol ve karaciğer hasarı; büyük kısmı karaciğerde metabolize olduğundan alkolün toksik metabolitlerinden en çok karaciğer etkilenir (Cichoz-Lach ve ark., 2007). Aşırı alkol tüketiminden doğan karaciğer hasarı basamaklardan oluşur. İlk olarak karaciğer yağlanması gelişir. Daha sonra alkolik hepatit, son olarak da siroz gözlenir. Siroz ölü hücrelerin etrafında üretilen fibroz yapılar ve skarlı dokularla karakterizedir. Karaciğerin birçok biyokimyasal fonksiyonuna zarar veren siroz, alkoliklerin yaklaşık %25'inde görülür ve karaciğer sirozu olanların yaklaşık % 75'i alkoliktir (Berg ve ark., 2002). Alkol, serbest radikallerin oluşumunu artırarak reaktif radikalleri detoksifiye eden antioksidan mekanizmalar olan glutatyon-S-transferaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz miktarını azaltarak karaciğer hasarına neden olur (Gemma ve ark., 2006).

Alkolün asetaldehit metaboliti de karaciğer hasarı yapar. Eğer karaciğerde asetat oluşumu inaktif hale gelirse, kanda asetaldehit birikir. Oldukça reaktif bir bileşik olan asetaldehit proteinlerin birçok fonksiyonel grubuna kovalent bağlanarak fonksiyonlarına zarar verir. Eğer çok yüksek seviyede alkol alınır, asetaldehit hücre ölümüyle sonuçlanacak şekilde karaciğer hasarına yol açabilir (Salman, 2007).

Alkol karbonhidrat ve yağ metabolizmasını da değiştirir. Hepatik lipojenez artar ve lipoprotein salınımı azalır. Dolaşımdaki yağların hepatik alımından dolayı, periferik yağ mobilizasyonu artar. NADH/NAD⁺ oranının artması krebs (trikarboksilik asit) siklusuna engel olur ve yağ asit oksidasyonu yavaşlar. Dolayısıyla hepatositlerde trigliserid birikimine ve serumda trigliserid seviyesinin yükselmesine sebep olur (Salman, 2007). Hipoglisemi çok yaygındır. Özellikle açlık bulunuyorsa, karaciğer glikojen depoları 12 saatte boşalır. Değişmiş redoks oranı glukoneojenik aktiviteyi düşürür (Adler, 1992).

Alkole balı patolojiler bazı durumlarda kronik alkol kullananların yetersiz beslenmesiyle de ilgili olabilir. Çünkü alkol karbonhidrat, lipid, vitamin (özellikle vitamin A) alımını ve faydalanmasını engeller. Alkol, ADH için yarışarak retinolün retinoik aside (A vitaminin aktif formu) oksidasyonunu engeller ve dolayısıyla alkoliklerde büyümek için esansiyel olan ve epitel fonksiyonları sürdürmeyi sağlayan retinoik asid seviyesi düşer. Retinol ADH tarafından retinale, ALDH tarafından da retinoik aside okside olur (Bosron ve ark., 1986; Gemma ve ark., 2006). ALDH1 retinale yüksek afinite gösterir; hem trans hem de 9-cis retinal oksidasyonunda rol oynar (Jelski ve ark., 2008).

Alkol kronik karaciğer hastalığına yol açan önemli nedenlerden biri olmasına rağmen bazı durumlarda aşırı alkol tüketen kişilerde siroz gelişmeyebilir. Alkoliklerin sadece % 10-20'sinde siroz geliştiği görülmektedir (Lee ve ark., 2001). Alkol alanların önemli bir kısmında alkolik karaciğer hastalığı gelişmezken, sadece bir kısım hastada, daha az alkol almaları durumunda dahi karaciğer sirozuna kadar varan alkolik karaciğer hasarlarının gelişmesinden alkol metabolizmasında rol alan enzimlerdeki genetik değişiklikler sorumlu tutulmaktadır (Frenzer ve ark., 2002; Tekin ve ark., 2005; Drusense-Peccolo ve ark., 2009).

Hamilelikte kullanımı: alkollün potansiyel teratojenik etkili olduğu birçok araştırmacı tarafından kanıtlanmıştır (Arfsten ve ark., 2004). Hamilelikte alkol kullanımı ile doğumdan önce ve sonra büyüme geriliği, nörolojik gelişimde gecikme, mikrosefali, davranış anomalileri, kafatası, yüz, kalp ve ürogenital yol gibi vücudun çeşitli bölgelerinde anomaliler gözlemlenir (Viljoen ve ark., 2001; Das ve ark., 2004). Hamilelik süresince alkol tüketimi fetal alkol sendromu olarak bilinen çok ciddi bir nörolojik sendromla sonuçlanabilir. Bu sendrom hem alkol metabolizması, hem oksidatif stresle ilgili hem de hamilelikte retinoik asid üretiminin azalmasıyla ilgilidir (Ehlers ve ark., 2001; Arfsten ve ark., 2004; Gemma ve ark., 2006).

Alkol ve kanser: birçok epidemiyolojik çalışmada kronik alkol alımı ile karaciğer, kolon, pankreas ve diğer organlarda kanser oluşumu arasında güçlü bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (Kimura ve ark., 2000; Askage ve ark., 2007; Gao ve ark., 2008; Kanda ve ark., 2008).

Alkol tüketiminin kanser oluşturma nedenleri başlıca;

- Gastrointestinal sistemdeki lokal etki
- Sigara ve diğer karsinojenler üzerine alkolün solvent etkisi
- Kanser oluşum mekanizmasında rol oynayan başta CYP2E1 olmak üzere mikrozomal enzimlerin indüksiyonu
- Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyon ürünleri
- Yetersiz beslenme (başta vitamin ve mineraller olmak üzere)
- Bağışıklık sistemlerinin baskılanmasıdır (Yokoyama ve ark., 2003).

Alkole bağlı oluşan kanserden metaboliti asetaldehitin sorumlu olduğu yönünde çok sayıda bulgu bulunmaktadır. Asetaldehit alkolden daha güçlü bir karsinojendir (Druesne ve ark., 2009). Çalışmalarda asetaldehitin direkt mutajenik ve karsinojenik etkileri gösterilmiştir. Asetaldehit DNA sentezi ve tamirine zarar verir ve bunun sonucu tümör gelişir. Asetaldehit hızlıca hücresel proteinlere bağlanır, böylece hücrelerde fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere yol açar. Asetaldehitden oluşan stabil eklentiler onkogenlerde veya tümör süpresör genlerde replikasyon hatalarının oluşumunu tetikler (Jelski ve ark., 2008). Yapılan hayvan denemelerinde; asetaldehitin inhalasyon yolu ile alınması sonucu sıçanlarda solunum yolu, spesifik adenokarsinomlar, burun mukozasında skuamöz hücre karsinomları, hamsterlerde gırtlak karsinomları tespit edilmiştir. Asetaldehitin memeli kültür hücrelerinde kromozomal aberasyon, mikronukleus ve kardeş kromatit değişimine yol açtığı rapor edilmiştir (Yokoyama ve ark., 2003; Jelski ve ark., 2008).

1.2. Grelin

Grelin, Kojima ve arkadaşları tarafından ilk kez 1999 yılında, fare midesinde büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün (GHS-R) endojen ligandı olarak tanımlanmıştır. Grelinin midenin oksintik mukozasında bulunan nöroendokrin fonksiyonlara sahip oksintik hücreleri tarafından sentezlendiği gösterilmiştir. Grelinin aynı zamanda az miktarda bağırsak, böbrek, hipofiz, plasenta ve hipotalamus tarafından da sentezlenip dolaşıma verildiği bildirilmiştir. İnsanda grelin geni üçüncü kromozomda (3p25-26) yer almaktadır (Altun, 2008).

1.2.1. Grelin Keşfinin Tarihçesi

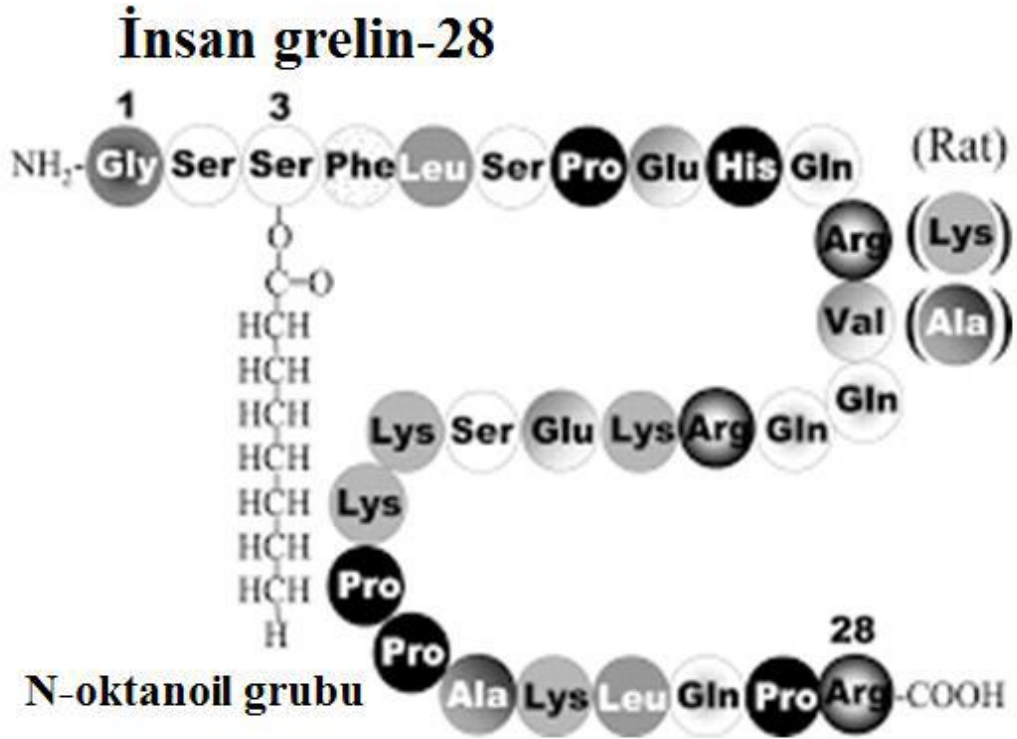
“Büyüme hormonu (BH) salgılatıcı (GHS, growth hormone secretory)” olarak da isimlendirilen grelin hormonu salınımına neden olan madde, in vitro durumlarda met-enkefalin opiyatı olarak bilinen yapay peptit analogunu Bowers (2001) keşfetmiştir. Hipofizi direkt etkileyen bu yapay peptit yapısal olarak tirozinden, D-triptofandan, glisinden, fenilalaninden, metiyoninden ve aminden oluşmaktadır. 1996’da GHS-R’nin bulunması ve sonrasında bu reseptörün endojen ligandının aranmasıyla grelinin bir hormon olduğunun keşfi gerçekleşmiştir (Petersenn, 2002).

Grelin, GHS-R’ye bağlanmış endojen ligand olarak tanımlanmıştır. Grelin isminin anlamının anlaşılabilmesi için kelimeyi “ghre-relin” şeklinde iki parça halinde değerlendirmek gerekmektedir ve Hint-Avrupa diller ailesinden olan bu kelimeler “gelişim-salgılatma” anlamını ifade etmektedir. İki kelimededen türetilen grelin, sonraki dönemde iştah hormonu (Appetite Hormone) olarak da adlandırılmıştır (Bowers, 2001).

1.2.3. Grelinin biyokimyasal yapısı

Birçok memelide, insanda, sıçanda, köpekte, koyunda, domuzda, sığırdı, rhesus maymununda ve farelerde grelin homologları tanımlanmıştır. Memeli grelinleri tamamen birbirinden farklıdır ve moleküler ağırlığı yaklaşık 3300 Da kadardır. İnsanlarda bulunan grelinin N-ucunda, 3. aminoasitteki serine bağlanmış 8 karbondan oluşan bir yağ asidi (oktanil grubu) bulunmaktadır. İnsan grelini 117 amino asit içerir ve fare ile sıçanlardaki grelinle aynı yapıya sahip olmasına rağmen sadece iki aminoasit bakımından birbirlerinden farklıdırlar (Kojima ve ark., 1999).

Grelın 28 amino asitten oluşan lipopeptid yapıda bir hormondur (Şekil 1.5). Bu 28 amino asitlik peptid hormon, 117 amino asitlik grelin gen ürününün (preprogrelin) parçalanması sonucu oluşmaktadır (Kojima ve ark., 1999). Ön hipofiz bezinden GH'nın salınımının stimüle edilebilmesi ve aynı zamanda GHSR1a'ya bağlanabilmesi için peptidin N-ucundaki 3. amino asit olan serin amino asidine oktanil grubunun (C₇H₁₅CO) posttranslasyonel modifikasyonla bağlanması gerekmektedir (Kojima ve ark., 1999). Serin-3'e bağlı oktanoil yan zinciri içeren hormon aktif hormondur (aGAH) ve GHSR1a reseptörüne bağlanabilmesinin yanı sıra kan-beyin bariyerinden geçişine de imkan sağlamaktadır (Date ve ark., 2001).

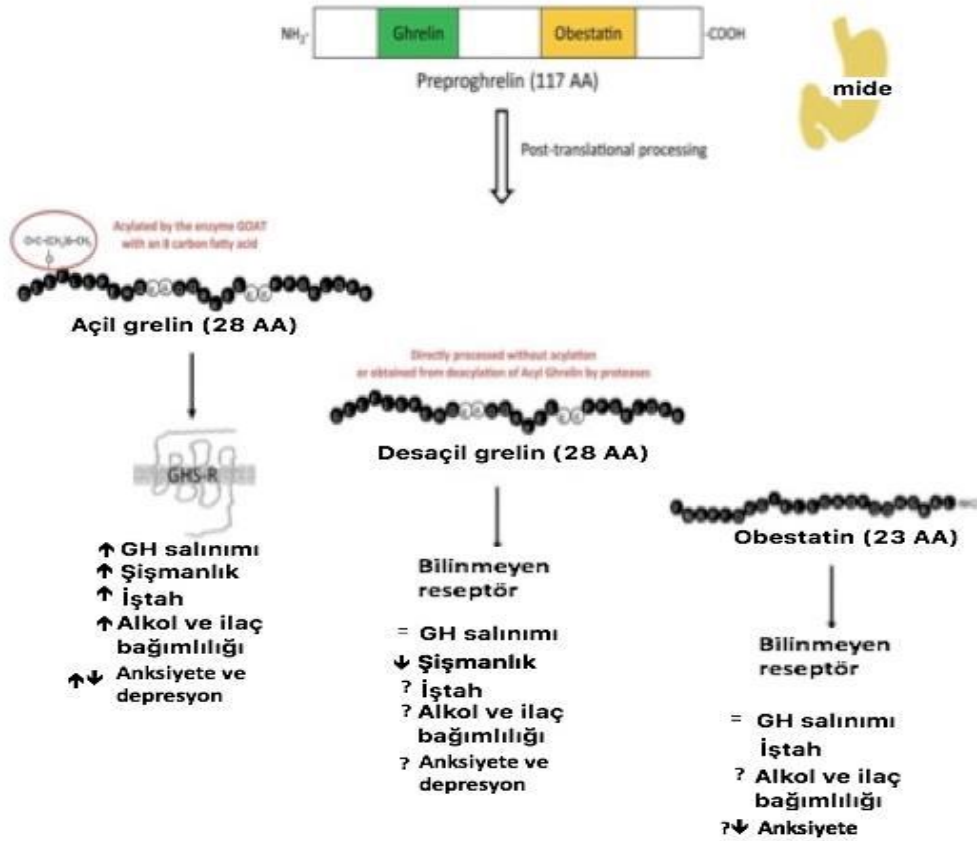


Şekil 1.5. İnsan ve farede grelinin amino asit dizilimi

Vücut sıvı ve dokularında iki formda bulunan grelin 15-20 dakikada yarılanmaktadır. Grelın geni insan, sıçan ve farelerde 5 ekzondan oluşmaktadır. Bu 5 ekzondan molekül ağırlığı 13 kDa olan ve 117 amino asitten oluşan pre-progrelın molekülü oluşur. Oluşan yapının ikinci ve üçüncü ekzonundan grelin ortaya çıkar. Kodlamaya katılmayan birinci ekzondaki 23 amino asitlik kısım artık kısım olarak ayrılır (Cassoni ve ark., 2001). Diğer 94 amino asitlik kısım progrelın olarak adlandırılır. Progrelının ilk 28 amino asitlik kısmı (1-28) grelin ve C-ucundaki 66 amino asitten oluşan kısım C-grelın olarak adlandırılır (Cassoni ve ark., 2001).

İnsan midesinde izole edilen grelin ve analogları iki çeşittir. Amino asit uzunluklarına göre grelin (1-28) ve grelin (1-27) vardır. Grelın peptidi dört çeşittir ve bunlar N-ucundaki 3. amino asit olan serin kalıntısının açılasyonuna göre açılınmeyen, oktanoillenmiş (C8:0), dekanooillenmiş (C10:0) ve muhtemelen

dekenoillenmiş (C10:1) grelin şeklindedir. Aktif grelin (grelin 1-28), grelinin 3. pozisyonundaki serin amino asidi bir oktanoyl grubu ile açıldığında oluşmaktadır. İnsan plazmasında aktif grelinin yanı sıra oktanoyl grelin (1-27), dekanoyl grelin (1-28), dekenoyl grelin (1-27), des-açıl grelin (1-28) ve des-açıl grelin (1-27) den oluşan farklı grelin analogları da bulunmaktadır. Grelinin aktivitesi ve reseptörüne (GHS-R) bağlanması için grelin peptidinde oluşan bu açıl modifikasyonları oldukça gereklidir (Hosoda ve ark., 2003).



Şekil 1.6. Desaçıl grelin, açıl grelin ve obestatinin sinyal yolları ve aktiviteleri (Labarthe ve ark., 2014).

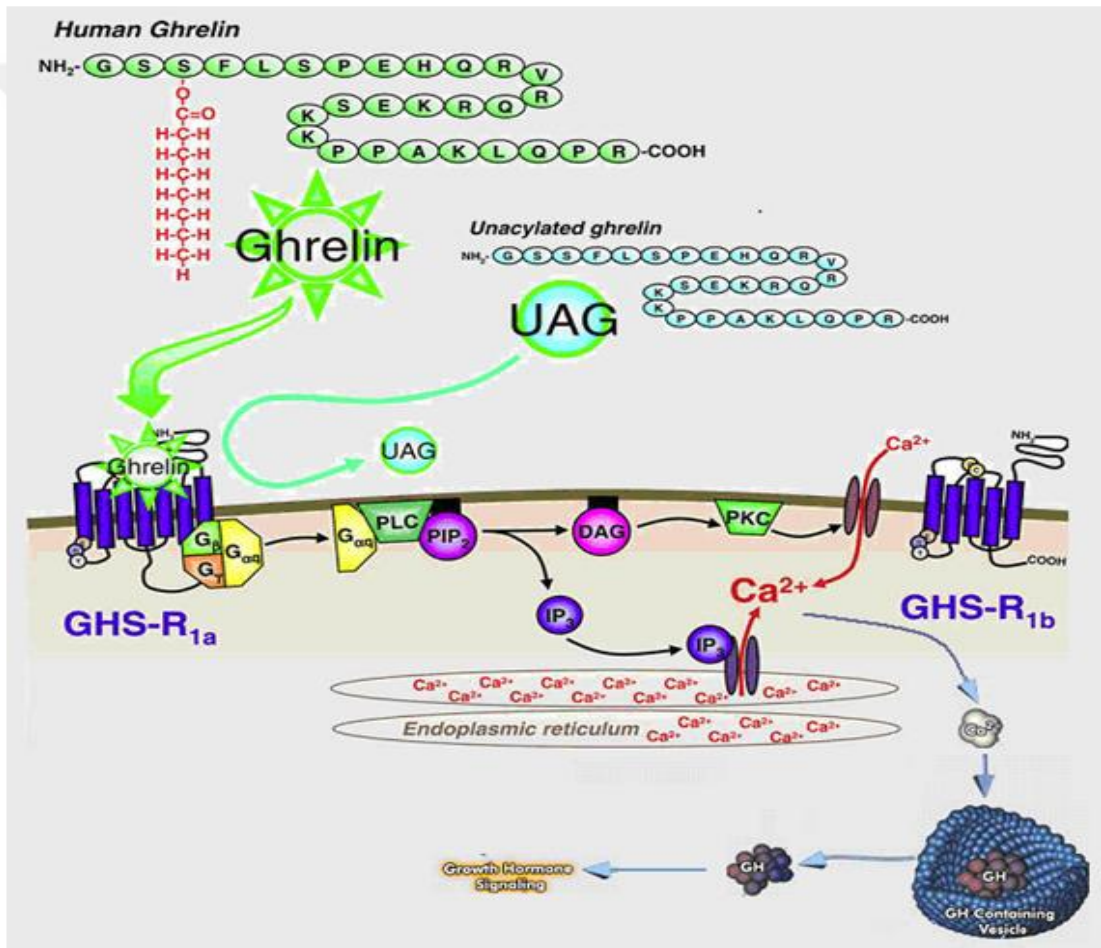
İnsanlardaki grelin geninin alternatif grelin haricinde temel olarak desaçil grelin ve obestatin olmak üzere farklı aktif molekülleri de oluşturabileceği Şekil 1.6.'da gösterilmiştir. Bu moleküller üç ana grupta sınıflandırılabilir ki, bunlar da grelin ve analogları, C-grelin ve obestatin şeklindedir (Labarthe ve ark., 2014).

Açilli grelin organizmalarda, dolaşımda bulunan grelinin sadece yaklaşık %20'sini teşkil etmektedir. Organizmalarda grelinin antagonisti gibi hareket eden ve GPR (G protein reseptörü) grubundan GPR39'la bağlanmış şekilde etkili olan obestatin ise, progrelininden geriye kalan 66 amino asitlik C-grelinden sentezlenir (Kojima ve ark., 1999).

1.2.4. Grelın sinyalizasyonu

Grelın, GHS-R tip 1a reseptörüne bağlanarak etkisini göstermektedir (Caminos ve ark., 2003). Reseptöre bağlanan grelin, beynin hipotalamus bölgesinden Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormonunu (GHRH) uyarmaktadır. Yapılmış araştırmalarla GHS-R'nin (Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptörü) 2 tipi; yapısal olarak uzun tipi GHS-R 1a ve yapısal olarak kısa tipi GHS-R 1a keşfedilmiştir. GHS-R tip 1A işlevsellik göstererek aktif yapıda olup sinyali taşıyandır. 6. ve 7. transmembran bölgelerinden yoksun olması nedeniyle GHS-R tip 1b ligand bağlama ve sinyal iletimi kapasitesine sahip değildir. Grelinin hedef dokularında etkinliğini gösterebilmesi açısından GHS-R tip 1b ile GHS-R tip 1a'nın etkileşim içinde olması gerekmektedir. GHS-R 1a (Gen Bankası No: U60179) 336 amino asitten ve 7 transmembran bölgeden oluşmaktadır, GHS-R 1a (Gen Bankası No: U60181) ise 289 amino asitten oluşmaktadır (Caminos ve ark., 2003).

GH salınmasını stimüle eden GHS'ler sentetik bileşiklerdir. GHS'ler G-protein-kenetli reseptörlere (GPCRs) ve GHS reseptörüne (GHS-R) bağlanarak etkilerini gösterirler (Hattari ve ark., 2001). Hücre içindeki kalsiyum konsantrasyonlarının artışıyla ve protein kinaz C sistemiyle GHS-R'nin aktivasyonu yoluyla grelinin sinyal iletimi gerçekleşir. GHRP-6'nın (GH Salgılayıcı Peptid 6) ve hücrel Ca^{2+} konsantrasyonları 2 mekanizmayla artmaktadır (Caminos ve ark., 2003).

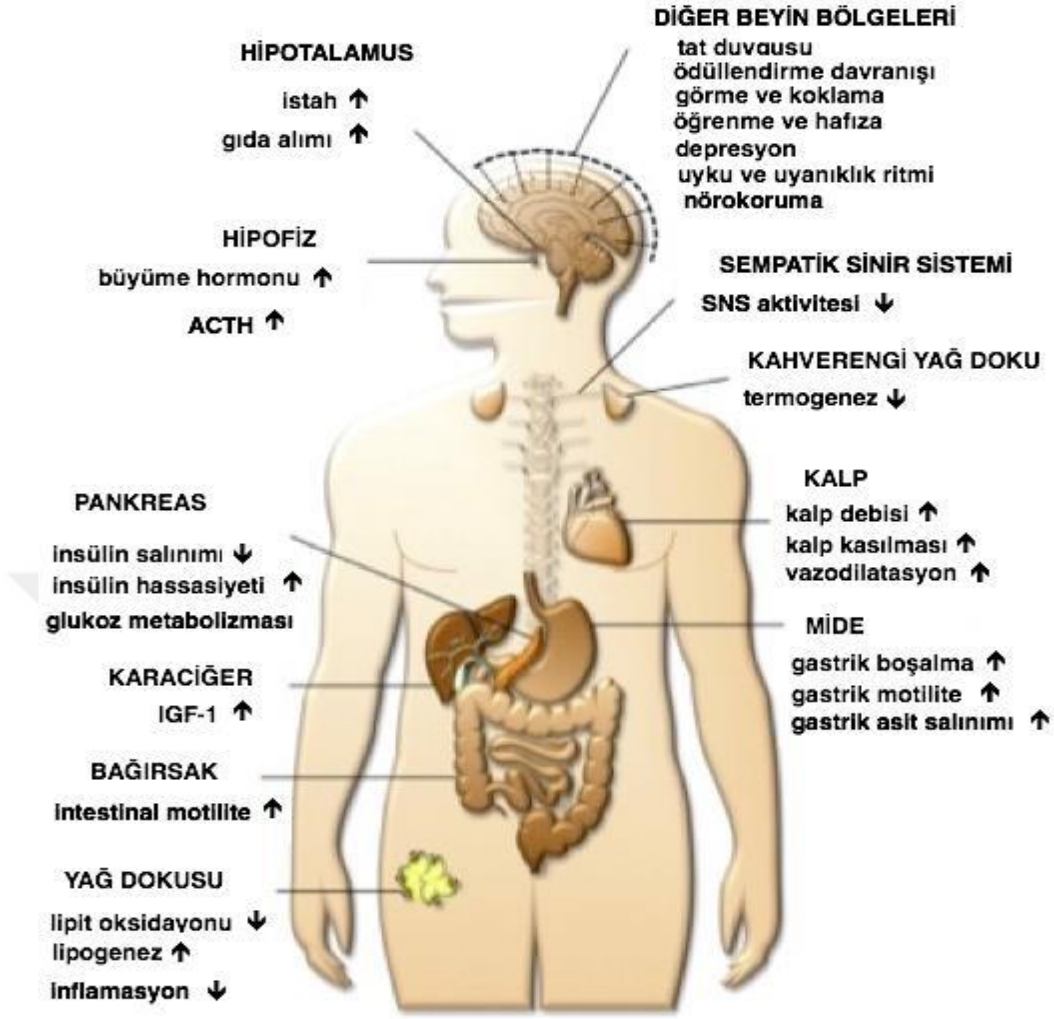


Şekil 1.7. Grelinin GHS-R 1a sinyal yolu

İlk olarak GHS-R 1a ile bağlanmış grelin fosfolipaz C'i aktive eder (Şekil 1.7). Plazma zarında birikmiş halde bulunmakta olan fosfatidil inozitol 4,5 bifosfat hidrolizlenerek diaçilgliserol (DAG) ve endoplazmik retikulumdaki IP3 reseptörüne bağlanan inozitol trifosfat (IP3) oluşur. Ca^{+2} depolarından kalsiyum salınır ve IP3 ile GH salınımı kolaylaşır. Başka bir taraftan ise DAG; plazma zarında bulunan protein kinaz C'i aktif hale getirir. Potasyum kanallarını fosforilasyon yoluyla inhibe eden protein kinaz C tirozin depolarizasyona neden olur ve bu şekilde voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanalları açılır. GHRP- 6'nın, Na^{+} 'a duyarlı iyon kanallarının açılmasını kolaylaştırdığı ve depolarizasyona sebebiyet verdiği tespit edilmiştir (Furuta ve ark., 2001).

1.2.5. Grelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri

Grelin başta yemek yeme ve iştah olmak üzere organizmada çok çeşitli sistemler üzerine etkileri vardır. Uyku, hücre proliferasyonu, kardiyovasküler sistem, karbonhidrat ve enerji metabolizması, pankreatik endokrin ve egzokrin fonksiyonu üzerine etkileri başlıcalarıdır (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Ghrelinin fizyolojik etkileri (Furuta ve ark., 2001).

1.2.5.1. İştah Üzerine Etkisi

Yemek yeme ve iştah mekanizması beyinde hipotalamustaki arkuat nükleus tarafından kontrol edilir. Ghrelinin iştahı 3 yolla etkilediği gösterilmiştir; başta arkuat nükleus olmak üzere direkt merkezi sinir sistemi (MSS)'ni etkileyerek, nükleus solitarius üzerinden vagal sinir uçlarını uyararak ve hipotalamusta lokal olarak sentezlenerek nöropeptid Y ve diğer hücreleri uyararak. Dolaşımdaki ghrelin seviyesi gün içinde açlık halinde yükselmekte, yemek sonrası 60-120 dakika içinde düşmektedir. Böylece

grelinin öğün aralarının oluşumunda önemli bir etkisi olabileceği düşünülmüştür. Yemek sonrası grelin düzeyindeki bu düşüklüğün nedeninin midenin gıdalarla dolup gerilmesinden çok glukoz ile kimyasal olarak uyarılmasının etkili olduğu gösterilmiştir. Gün içinde en yüksek seviyesi gece 2-4 saatleri arasındadır. Grelın salınımı bloke edildiğinde açlık hissi olmaz ve hızla kilo verme gözlenir. Günümüzde grelin ve grelin mimetikler (Growth hormon salgılatıcı ya da GHS olarak ta bilinir) kansere bağılı anoreksi-kaşeksi sendromunun tedavisinde etkili bir tedavi yöntemi olarak önerilmektedir (Caminos ve ark., 2003).

1.2.5.2. Büyüme Hormonu Salınımına Etkileri

Grelın hem in vitro hem de in vivo şartlarda doz bağımlı olarak büyüme hormonu salınımını arttırmaktadır. Kojima ve ark., (1999) grelinin intravenöz olarak verilmesinin büyüme hormonu salınımını uyardığını ve somatostatin salınımını baskıladığını göstermişlerdir. Hipofizer büyüme hormonu salımı 2 farklı yol üzerinden olmaktadır. Klasik yolda hipotalamus kaynaklı büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) kendi reseptörü üzerinden etki ederek cAMP üzerinden büyüme hormonu salınımını sağlar. İkinci yol ise Grelın ya da grelin mimetikler tarafından fosfolipaz C aktivasyonu sonucu hücre içi Ca^{+2} iyonu derişiminin artmasıyla büyüme hormonu salınır (Caminos ve ark., 2003).

1.2.5.3. Kardiyovasküler Fonksiyonları

Grelın reseptörlerinin sol atrium, sol ventrikül ve aort endotel hücrelerinde üretildiği gösterilmiştir. Bu durum grelinin kardiyovasküler etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Nagaya ve ark., (2001) sağlıklı gönüllülerde yaptıkları bir çalışmada intravenöz yolla grelin uygulandığında kan basıncında artış olduğu,

kardiak indeks ve strok volüm indeksinin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca grelin, arterlerdeki endotelin-1'in damar daraltıcı etkisini ortadan kaldırmaktadır (Nagaya ve ark., 2001).

1.3. Grelın İle Alkol Kullanım Bozukluğu Arasındaki İlişki

Son yıllarda yeme ve bağımlılık davranışlarının nörobiyolojilerinin benzer özelliklere sahip olduğunun keşfedilmesi araştırmacıları, alkol bağımlılığı ve grelin gibi besin alımında önemli olan peptidler ve hormonlar arasındaki ilişkiyi araştırmaya sevk etmiştir.

Grelinin alkol bağımlılığı ile ilişkisi hem alkol bağımlılarında hem de sağlıklı bireylerde araştırılmıştır. Sağlıklı bireylerle (Calissendorff ve ark., 2005, 2006; Calissendorff ve ark., 2012; Zimmermann ve ark., 2007) ve bağımlı olmayan sosyal içicilerle (Leggio ve ark., 2013; Ralevski ve ark., 2017) yapılan çalışmalarda alkol tüketiminin kan grelin düzeyinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Alkol bağımlıları ve sağlıklı bireylerin karşılaştırıldığı çalışmalarda ise, çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda alkol bağımlılarında total ya da açilli grelin düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edilmişken (Kim ve ark., 2005; Kraus ve ark., 2005; Wurst ve ark., 2007), bazı çalışmalarda alkol bağımlılarında kan grelin düzeyinin azaldığı belirlenmiştir (Addolorato ve ark., 2006; Badaoui ve ark., 2008; de Timary ve ark., 2012). Çalışmalardaki bu farklılığın grelin düzeyinin ölçüldüğü dönemlerden, cinsiyet farklılığından, beslenme durumundan veya bağımlılığın alt tiplerinden kaynaklanabileceğini ileri sürülmektedir (Badaoui ve ark., 2008; Landgren ve ark., 2008). Grelinin alkole aşırme, yoksunluk ve alkolden uzak durma gibi alkolle ilişkili parametrelerle ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda çelişkili sonuçların elde edilmesi bu fikri destekler niteliktedir. Grelın düzeyleri, beslenme durumu ile bağlantılı olarak değişmektedir. Sadece yeme istediğini arttırmaz aynı zamanda enerji tüketimini de azaltır. Alkol bağımlılarında, beslenme düzeninin bozulmasına ilaveten

enerji kaynağı olarak lipidlerin kullanılması ve buna bağlı olarak yağ kütlesinin azalması, vücut sıvı dağılımının değişmesi ve ekstraselüler sıvı miktarının artması gibi birçok metabolik değişiklik de meydana gelmektedir ve genellikle alkolden uzaklaştıktan en az 3 ay sonra düzelme göstermeye başlamaktadır (Addolorato ve ark., 2006).

Türkiye’de ise Kumsar ve ark. (2012), 107 erkek alkol bağımlısı ile yaptıkları çalışmada besin alımında önemli hormonlar olan grelin, adinopektin ve resitin düzeyleri ile alkol alımı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Alkol bağımlılarının kan örneklerinde hastaneye yatıkları ilk gün ve 7. gün bu hormonların düzeyleri ölçülmüş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Birinci günde, grelin düzeyi alkol bağımlılarında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek iken 7. günde anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Kumsar ve Dilbaş, 2015 yılında yaptıkları çalışmada ise, yukarıda adı geçen besin alımında önemli hormonlar ile alkole aşerme arasındaki ilişkiyi aynı hasta grubunda değerlendirmiştir. Alkol bağımlılarının hastaneye yatıkları ilk günde hormonlarla alkole aşerme arasında bir ilişki tespit edilememiş, ancak 7. günde grelin düzeyi ile alkole aşerme arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir.

1.4. Amaç

Bireylerin alkolü kötüye kullanımı ve alkol kullanım bozukluğunun sebepleri arasında alkolün kolay elde edilebilirliğinden, toplumun alkol kullanımına bakış açısına, bireyin sosyo-kültürel, psikolojik, fizyolojik ve genetik yapısına kadar bir çok faktör rol oynamaktadır (Coskunel ve ark., 1999).

Halk sağlığı için ciddi sorunlardan biri olan alkol bağımlılığı, kronik ve tekrarlayan bir sorun olduğu için, önleyici ve tedavi edici yaklaşımların geliştirilmesinde bağımlılığın patofizyolojisinde önemli biyolojik mekanizmaların

aydınlatılması artık yapılan araştırmaların başlıca hedeflerinden biridir. Genetik, çevresel, kültürel, gelişimsel ve nörobiyolojik etkiler, bir bireyin alkol bağımlısı olması için gerekli faktörler olarak kabul edilmesine rağmen, alkol bağımlılığına yatkınlığı tetikleyen nörobiyolojik süreçler tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Son yıllarda yeme davranışı nörobiyolojisi ile bağımlılık yapan maddelere aşırme davranışının nörobiyolojisinin benzer özelliklere sahip olduğunun keşfedilmesi araştırmacıları, alkol bağımlılığı ile grelin ve leptin gibi besin alımında önemli olan peptidler ve hormonlar arasındaki ilişkiyi araştırmaya sevk etmiştir. Şimdiye kadar yapılan hem prelinik hem de klinik çalışmalar alkol kullanım bozukluğunda ve alkole aşırmede grelin sisteminin rolünü ve önemini göstermiştir. Bununla birlikte, bu ilişkinin biyolojik mekanizmasının aydınlatılması için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Dolayısıyla bu tez çalışmanın amacı, Türk erkek alkol bağımlılarında, alkol kullanım bozukluğu ile grelin hormonu arasındaki ilişkiyi grelin hormonunu kodlayan GHRL genindeki Leu72Met polimorfizmi düzeyinde araştırmaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Laminar Flow kabin	ESCO
Thermal Cycle PCR cihazı	Techne Tc512
Jel Görüntüleme cihazı	Syngene
Yatay elektroforez cihazı	Scie-Plas
Güç Kaynağı	Bio-Rad
Su banyosu	Nüve Bm 402
Otoklav	Nüve
Mikrodalga fırın	Arçelik
Elektrikli hassas terazi	Schimadzu Libror
Steril ependorf tüp (1,5 ml ve 0,2 ml'lik)	Axygen Genuine
Pipet uçları (10 µl, 100 µl, 1000 µl)	Finntip
Otomatik mikropipetler	Ependorf, Thermo
Etüv	Memmert
Santrifüj	Heraeus

Su Purifikasyon Sistem

Human Up 900

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Restriksiyon Enzimi (BsrI)	NEB (New England Biolab)
Primerler	Ella Bio
Etanol	Merck
Agaroz	Hi-Media
Etidyum Bromür	Applichem
6X loading çözeltisi	Qiagen
Hot Star Taq DNA polimeraz	Qiagen
100 bp ladder	Fermentas
dNTP mix	Fermentas
MgCl ₂	Fermentas

2.2. Olgu Seçimi

Bu çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran alkol kullanım bozukluğu tanısı almış 50 erkek dahil edilmiştir.

Alkol bağımlılarının çalışmaya dahil edilme kriterleri;

(1) 18-65 yaş aralığında olmak,

(2) Hastalıkların Uluslararası Sınıflaması-10 (International Classification of Diseases/ICD-10) kriterlerine göre alkol kullanım bozukluğu tanısı almış olmak,

(3) ayaktan ya da yatarak tedavi edilmesine karar verilmiş olmak olarak belirlenmiştir.

Çalışma grubuna,

(1) herhangi bir psikiyatrik ya da nörolojik rahatsızlığı olan,

(2) alkol ve sigara dışında kokain, cannabis, opiyat, halüsinojen vb. bağımlılık yapan madde kullanan,

(3) kadın alkol bağımlıları dahil edilmemiştir. Kadın alkol bağımlılarının çalışmaya dahil edilmeme nedeni, tedavi amacıyla başvuran kadın alkol bağımlı sayısının, erkeklere göre daha az olması ve bu durumun çalışmanın istatistiksel analiz kısmında güçlükler neden olacak olmasıdır.

Kontrol grubu olarak da erkek alkol bağımlısı bireyler ile yaş ve sigara kullanımı açısından uyumlu, herhangi bir psikiyatrik rahatsızlığı ve herhangi bir madde bağımlılığı olmayan 50 sağlıklı erkek çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubundaki sağlıklı gönüllüler, araştırmacıların tanıdıkları içerisinde alınmaya başlanarak, sayıları kartopu örnekleme şeklinde arttırılmıştır.

Çalışmaya katılan her bireye yaşları, kiloları, boyları, aylık gelirleri, kaç yıldır alkol bağımlısı oldukları, ilaç kullanımları, sigara kullanıp kullanmadıkları, günlük sigara sayıları, en son alkol alımı üzerinden geçen süre, tüketilen günlük alkol miktarı, meslekleri ile eğitim durumları, alkol ve sigara dışında bağımlılık yapan madde kullanıp kullanmadıkları gibi bilgileri içeren bir form doldurulmuştur.

2.3. Kan Örneklerinin Toplanması

1. Alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş bireylerden, hastaneye ilk başvurdıklarında, 1 adet mor kapaklı (EDTA'lı) tüpe venöz kan örneği alınmıştır.
2. Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerden de sadece 1 defa, 1 tüp EDTA'lı tüplere venöz kan örneği alınmıştır.

Toplanan tüm venöz kan örnekleri, genetik polimorfizm çalışmalarında kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

2.4. Sıvı kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu

Analiz süresinceye kadar -20°C'de muhafaza edilen numuneler oda ısısında eritilmiş ve "Qiagen Mini Kit" Yöntemi ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

1. 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine 20 µl QIAGEN Proteaz konulmaktır. 200 µl sıvı kan örneği eklenmiştir.
2. 200 µl "Buffer AL" eklenmiştir. Vortekslenerek iyice karıştırılmıştır.
3. 56°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
4. 200 µl etanol (%96-100) eklenmiştir. Vortekslenerek iyice karıştırılmıştır.
5. Karışım, "QIAamp Mini spin" kolonlarına (2 ml toplama tüpleri içindeki) pipetlenmiştir ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü ve süpernatant atılmıştır.

6. “QIAamp Mini spin” kolonu yeni bir 2 ml toplama tüpüne yerleştirilmiş ve 500 µl “Buffer AW1” eklenmiştir. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü ve süpernatant atılmıştır.

7. “QIAamp Mini spin” kolonu yeni bir 2 ml toplama tüpüne yerleştirilmiş ve 500 µl “Buffer AW2” eklenmiştir. 14,000 rpm’de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü ve süpernatant atılmıştır.

8. QIAamp Mini spin” kolonu yeni bir 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiş, 100 µl “Buffer AE” eklenmiş ve oda ısısında 1 dakika inkübe edilmiştir. DNA’yı elüye etmek için 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

2.5. İzole edilen DNA’ların Agaroz Jelde Yürütülmesi

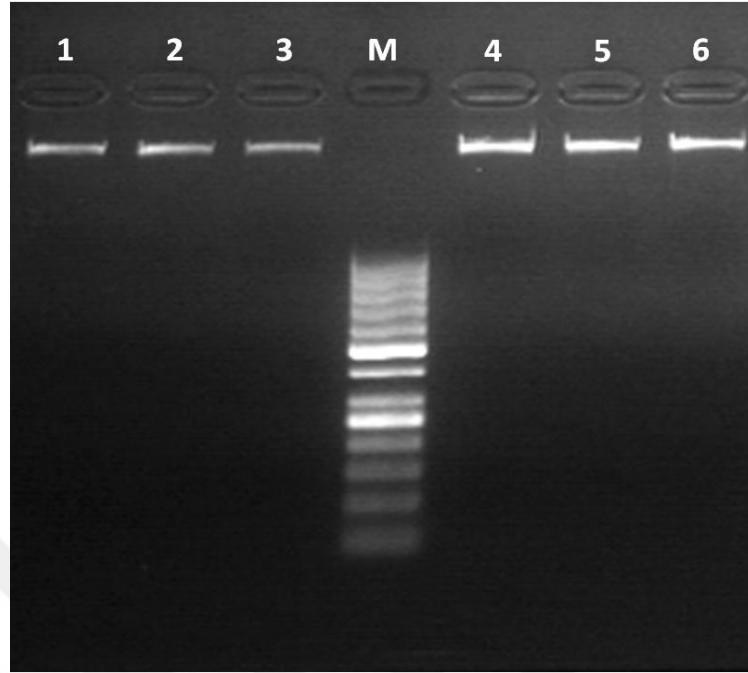
Sıvı kan örneklerinden genomik DNA’nın izole edilip edilmediği, %1’lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir (Şekil 2.1).

1. 1,2 gr agaroz tartılmış ve 120 ml 1X TBE çözeltisi içerisinde çözülmüştür.
2. Çözelti oda sıcaklığında 50–60°C’ye düşünceye kadar bekletilmiştir.
3. Üzerine 10 µl EtBr (10 mg/ml) eklenmiş ve hafifçe çözelti pembeleşip homojen karışım sağlanıncaya kadar erlen çalkalanmıştır.
4. Bu karışım, jel tarakları ve bariyerleri yerleştirilmiş jel kalıplarına hava kabarcığı oluşturulmayacak şekilde dökülmüştür.
5. Jelin katılaşması için oda sıcaklığında 30–45 dakika bekletilmiştir.
6. Kalıp, jel tarakları ve bariyerleri çıkarılarak elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jel kuyucuklarının, yürüme tankının katot elektrot (-) tarafına yerleştirilmesine dikkat edilmiştir.

7. Jelin üzerini 2–3 mm kaplayacak miktarda tank içerisine 1X TBE çözeltisi eklenmiştir.

Agaroz jel hazırlandıktan sonra, örnekler agaroz jele yüklenmek üzere hazırlanmış ve yürütülmüştür. Bu amaçla yapılan işlemler aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. 15 cm uzunluğunda parafilm kesilerek buz kalıbı üzerine yerleştirilmiştir.
2. 1µl 6X Jel Loading Buffer ve 5 µl DNA örneği parafilm üzerine konulmuş ve homojenizasyon için mikropipet yardımı ile yavaşça karıştırılmıştır.
3. Karışım, jel kuyucuklarına yüklenmiştir.
4. Elektroforez tankının kapağı kapatılmış ve anot ile katot uçlarının bağlantıları takılmıştır.
5. Güç kaynağı 100 volt ve 70 ampere ayarlanarak, numuneler 30 dakika jel üzerinde yürütülmüştür.
6. UV ışık altında, jel görüntüleme cihazında sonuçlar değerlendirilmiştir.

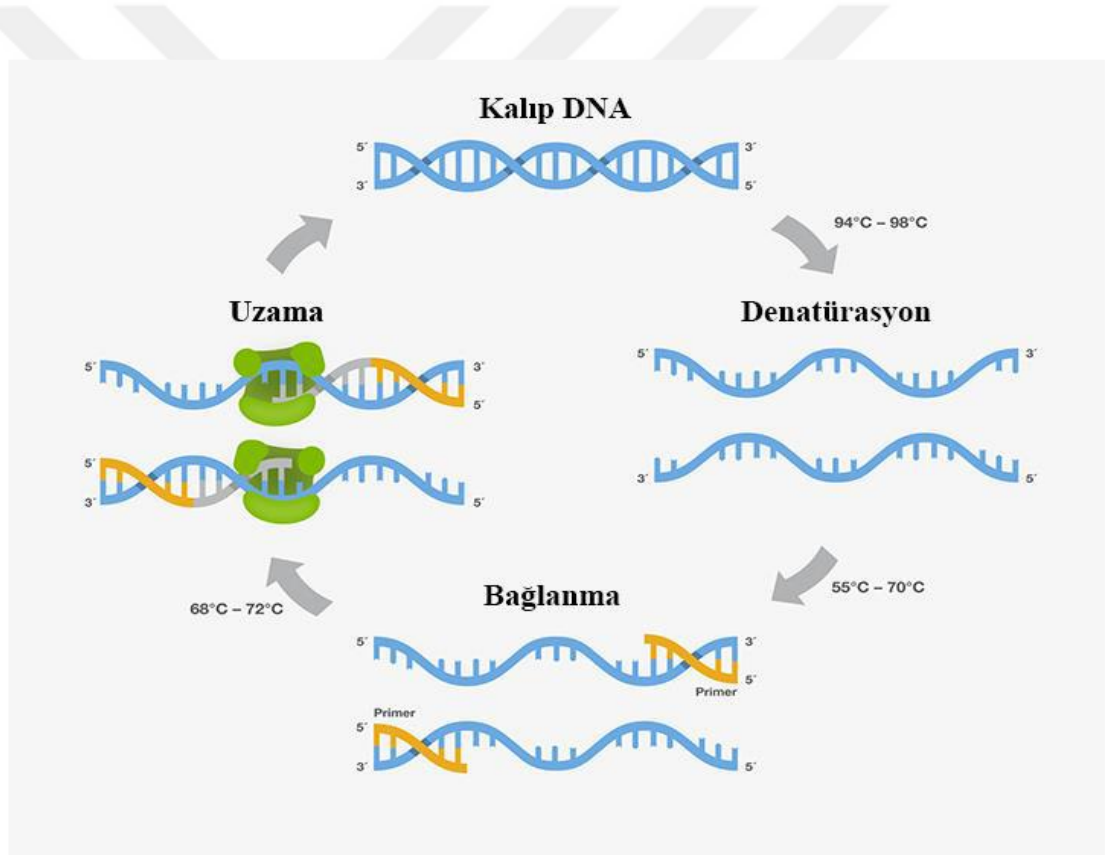


Şekil 2.1. Sıvı kan örneklerinden “Qiagen Mini Kit” Yöntemi ile izole edilen DNA’ların agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü (M:50 bp ladder, 1-6: genomik DNA)

2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu belirli bir DNA parçasının milyonlarca kopyasını çıkarmaya yarayan ve yaygın bir şekilde kullanılan moleküler biyolojik bir yöntemdir. PCR ilk olarak 1983 yılında Kary Mullis tarafından geliştirilmiştir. Mullis geliştirdiği bu teknik sayesinde 1993 yılında Nobel Kimya ödülüne layık görülmüştür. Enzimatik DNA çoğaltma işleminin gerçekleşmesi için yalnızca birkaç komponent gerekmektedir. Reaksiyon için $MgCl_2$, KCl ve Tris içeren tampon çözelti, primerler, nükleotit bazları, yüksek sıcaklıkta stabil kalabilen DNA polimeraz ve gerçek DNA örneği gerekmektedir. Buradaki primer ve polimeraz olarak adlandırılan reaktantlar, DNA zincirinin çözülmesi sonrasında enzim ile sürdürülen DNA kopyalama işlemini sağlamaktadır. PCR metodunun önemli ve en büyük parçası termal döngüdür. Termal

döngü, reaktantların tekrarlanan çeşitli sıcaklık döngüleri ile sıcaklığa bağlı birden fazla reaksiyonu gerçekleştirmesini sağlamaktadır. PCR'ın ilk basamağında, çift sarmal yüksek sıcaklıkla birbirinden ayrılarak DNA denatürasyonu gerçekleşir. İkinci basamakta sıcaklık azalarak primerlerin komplementeri olduğu bölgeye bağlanması gerçekleşir. Bağlanma sonrasında DNA'nın iki zinciri arasında DNA polimerazın çalışması için bir şablon oluşur ve DNA polimeraz enzimatik olarak serbest nükleotitlerden yeni DNA zincirleri yaratır. Tekrarlanan bu süreçte yaratılan her yeni zincirin, yeni bir kalıp haline gelmesiyle katlanarak artan bir DNA kopyalama işlemi gerçekleşir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. PCR'ın basamakları (Thermo Fisher Scientific, 2019).

Bu yöntem, DNA klonlama, DNA dizileme, gen klonlama, mutasyon analizleri, DNA tabanlı filogeni, genlerin fonksiyonel analizi, kalıtsal hastalıkların

teşhisi ve takibi, antik DNA'nın çoğaltılması, adli bilimlerde genetik parmak izinin analizi ve DNA profileme, patojenlerin tespiti ve enfeksiyon hastalıklarının tanısı gibi pek çok klinik ve bilimsel alanda kullanılmaktadır.

2.6.1. PCR Bileşenleri

Çalışmamızda optimize edilen PCR reaksiyonunun bileşenleri, bileşenlerin stok konsantrasyonları, reaksiyondaki miktarları ile reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonları Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. *GHRL* rs696217 polimorfizmi için PCR bileşenleri ile stoktaki ve reaksiyondaki konsantrasyonları

PCR Bileşenleri	Stok konsantrasyon	Reaksiyona konulan miktar	25 µl'lik reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon
10 X PCR Buffer	10X	2.5 µl	1X
dNTP karışımı	2mM	2 µl	200 µM
F Primer	10 pmol/ µl	1 µl	10 pmol/ µl
R Primer	10 pmol/ µl	1 µl	10 pmol/ µl
Hot Star Taq DNA Polimeraz	5 U/ µl	0,125 µl	1,25 U
MgCl₂	25 mM	1,5 µl	
DNA		2 µl	~200 ng
Steril H₂O		14,875 µl	

2.6.2. Primerler

GHRL rs696217 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan Forward ve Reverse primerler ve özellikleri Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. *GHRL* rs696217 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan Forward ve Reverse primerler ile özellikleri

<i>GHRL</i> rs696217	F primer	R primer
	5’- GCTGGGCTCCTACCTG AGC-3’	5’- GGACCCTGTTCACTGCCAC -3’
Uzunluk	19 bp	19 bp
Erime sıcaklığı (T _m)	62,4 °C	61,6 °C
Primerler arası T _m farkı	0,8 °C	

2.6.3. PCR Programı

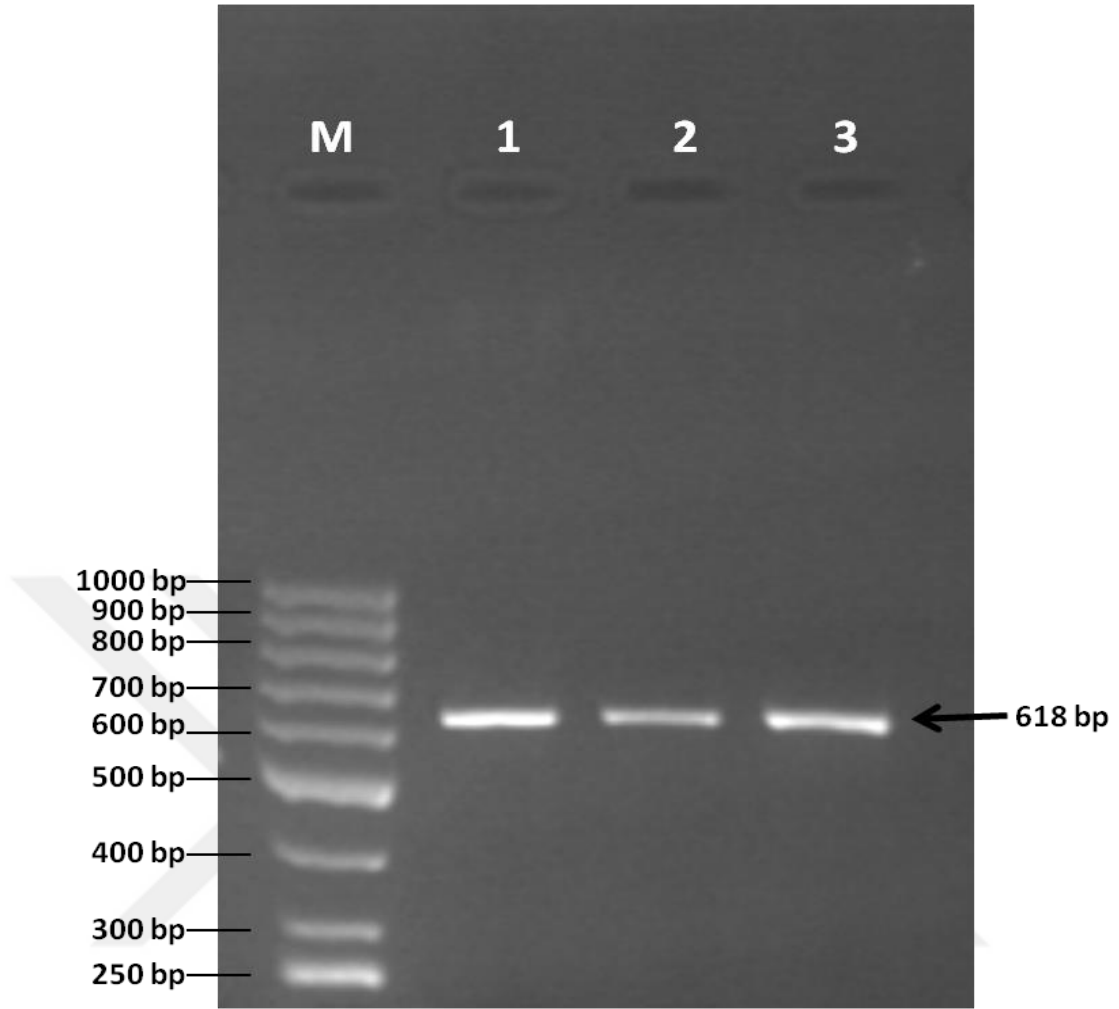
GHRL rs696217 gen bölgesinin çoğaltılması için optimize edilen PCR programı Çizelge 2.3’te verilmiştir.

Çizelge 2.3. *GHRL* rs696217 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PCR programı

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	15	1
Denatürasyon	94	1	36
Bağlanma	65	1,5	
Uzama	72	1	
Son uzama	72	10	1
Bekleme	4	∞	-

2.7. PCR Ürünü İçin Agaroz Jel Hazırlanması

PCR işlemi sona erdikten sonra, polimorfizmlerin yer aldığı istenilen bölgenin çoğalıp çoğalmadığını kontrol etmek amacıyla, PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bunun için 1,2 gr. agaroz tartılarak 120 ml 1XTBE içerisinde çözölmüş ve bölüm 2.4'te anlatıldığı şekilde işleme devam edilmiştir. PCR sonucunda agaroz jelde görülmesi beklenen bant uzunluğu 618 bp'dir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. GHRL Leu72Met polimorfizmini içeren gen bölgesine ait PCR ürününün agaroz jel elektroforez görüntüsü (M: 50 bp ladder, 1-3: 618 bp’lik amplifikasyon ürünü).

2.8. PCR Ürününün *BsrI* Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi

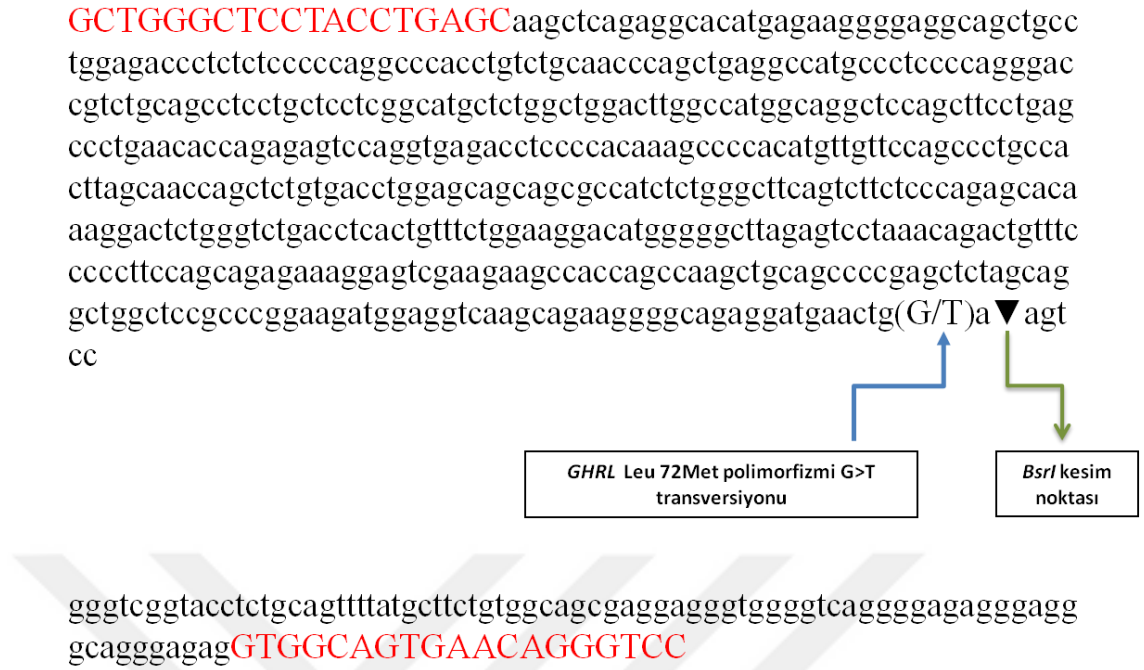
Çalışmamızda GHRL Leu72Met polimorfizmini belirlemek için, PCR sonucunda oluşan 618 bp uzunluğundaki ürün, *BsrI* restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. *BsrI* enzimi ile kesim koşulları ve kesim sonucunda oluşan DNA fragmanlarının uzunlukları Çizelge 2.4’te verilmiştir.

Çizelge 2.4. *GHRL* rs696217 gen polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan restriksiyon enzimi ve kesim ürünlerinin uzunlukları (bp).

Polimorfizm	Restriksiyon enzimi	Kesim ürünleri	Kesim Koşulları
<i>GHRL</i> rs696217	<i>BsrI</i> (65 °C, 1,5 saat inkübasyon)	GG: 517+101 GT: 618+517+101 TT: 618	5 µl PCR ürünü 1 µl buffer 0,5 µl enzim 3,5 µl su

2.8.1. *BsrI* Restriksiyon Enzimi ile Kesim İşlemi

GHRL Leu72Met polimorfizminin genotiplendirilmesi, bir önceki aşamada PCR ile çoğaltılmış olan 618 bp'lik DNA dizisinin *BsrI* restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile gerçekleştirilmiştir. *BsrI* restriksiyon enzimi, ACTGG dizisini tanıyıp bir baz sonra kesim yapmaktadır (Şekil 2.4).



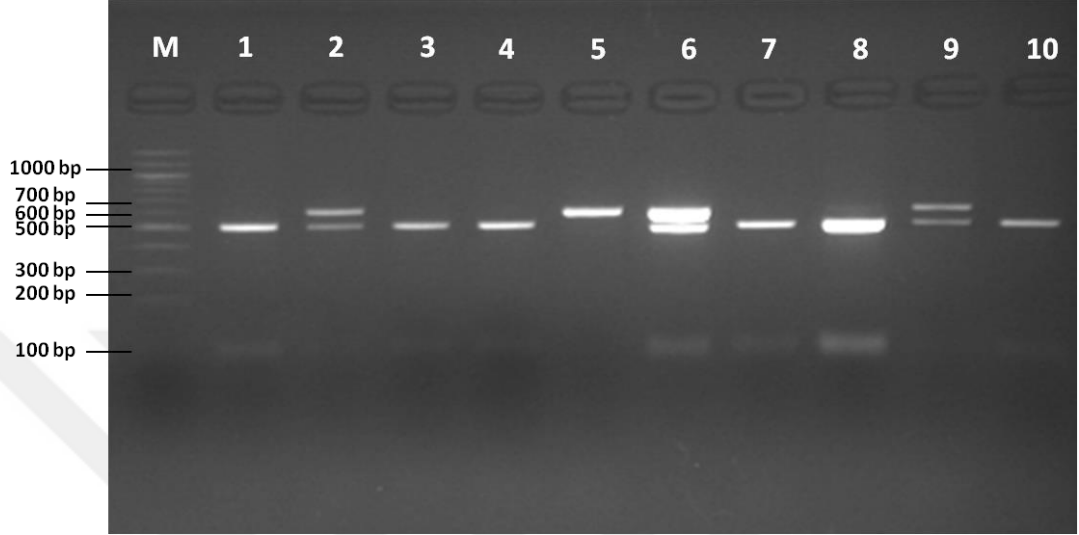
Şekil 2.4. GHRL Leu72Met polimorfizminin genotiplendirilmesi için çoğaltılan 618 baz çifti uzunluğundaki PCR ürünü, *BsrI* restriksiyon enziminin kesim noktası (yeşil ok) ve Leu72Met (G>T) tek nükleotid polimorfizmi (mavi ok) görülmektedir.

Bireyler homozigot tipik genotipli (GG) ise; *BsrI* enzimi 618 bp'lik diziyi 5' ucundan ACTGG dizisini tanıyarak keser ve PCR ürünü 517 bp ve 101 bp'lik iki oligonükleotid parçasına ayrılır ve böylece jelde iki bant görülür.

Bireyler homozigot atipik genotipli (TT) ise; *BsrI* enzimi diziyi tanıyamadığı için kesim işlemi gerçekleşmez ve jelde 618 bp'lik tek bir bant görülür.

Bireyler heterozigot genotipli (GT) ise; bireylerin bir DNA ipliğinde G olan baz diğer ipliğinde T olduğundan, *BsrI* enzimi bir ipliği tanıyarak 2 parçaya kesecek ve diğer

ipliği tanıyamadığı için kesemeyecek ve heterozigot genotipe sahip bireylerde jelde 3 bant görülecektir. Kesim ürünleri Şekil 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.5. *GHRL* Leu72Met polimorfizmi RFLP analizi agaroz jel görüntüsü M:100 bp DNA ladder; 1,3,4,7,8,10: GG (517 bp + 101 bp); 2,6,9: GT (618 bp + 517 bp + 101 bp); 5: TT (618 bp)

2.9. BsrI Kesim Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

BsrI enzimi ile kesim işlemi sona erdikten sonra, oluşan oligonükleotidlerin analizleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için 2,4 gr. agaroz tartılarak 120 ml 1XTBE içerisinde çözülmüş ve bölüm 2.4'te belirtildiği şekilde işleme devam edilmiştir. Ürünler UV ışığı altında EtBr ile görünür hale getirilmiş ve “Syngene Jel Görüntüleme Sistemi” ile analiz edilerek fotoğraflanmıştır.

2.10. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasının istatistiksel analizleri SPSS V21 kullanılarak yapılmıştır. Genlerin genotip ve alel frekansları çıkarılmış ve Hardy-Weinberg eşitliği hesaplanmıştır ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$). Ölçümle elde edilen değişkenler bakımından bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında “Student T” testi (normal dağılım gösteriyorsa) ya da Mann-Whitney U testi (normal dağılım göstermiyorsa), nitel değişkenler arasındaki ilişkinin belirlenmesinde ise “ki-kare testi” kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak nicel değişkenlerde ise ortalama±standart sapma ya da ortanca ile minimum ve maksimum değerler verilmiştir. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Çalışmamızda, alkol kullanım bozukluğu (n=50) olan ve sağlıklı gönüllü (n=50) bireylerde, *GHRL* Leu72Met polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile genotiplendirilmiş ve *GHRL* Leu72Met polimorfizmi ile alkol kullanım bozukluğu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ayrıca, *GHRL* Leu72Met genotiplerinin çeşitli demografik bilgilere etkisi de irdelenmiştir.

3.1. Örneklerin Genel Değerlendirmesi

Çalışmamıza dahil edilen tüm bireyler erkektir. Bu 100 erkek bireye ait yaş, beden kitle indeksi (BKİ), eğitim durumu, çalışma durumu, aylık gelir, medeni durum ve sigara kullanımı ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

Çalışmamızda alkol kullanım bozukluğu (AKB) tanısı almış bireylerin yaş ortalaması ($46,46 \pm 10,28$), sağlıklı bireylerin yaş ortalamasından ($40,90 \pm 9,19$) daha yüksektir. AKB ve sağlıklı grubun yaş ortalamaları bağımsız gruplarda t testi ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($t=2,85$; $p=0,005$). AKB ve sağlıklı bireyler, BKİ ve kilo açısından da karşılaştırılmıştır. AKB grubunun BKİ ve kilo ortalaması $24,59 \pm 3,81$ ve $74,09 \pm 13,84$ iken, sağlıklı bireylerde BKİ ve kilo ortalamaları $26,74 \pm 3,34$ ve $82,22 \pm 11,56$ olarak hesaplanmıştır. Bağımsız gruplarda t testi ile yapılan analizde iki grubun BKİ ($t=-3,006$; $p=0,003$) ve kiloları ($t=-3,181$; $p=0,002$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur.

AKB ve sağlıklı bireyler eğitim durumları açısından irdelendiğinde, AKB grubu içinde lise mezunlarının en yüksek orana (%34) sahipken, yüksek lisans mezunlarının en düşük orana (%12) sahip olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı bireylerin ise % 38’inin üniversite mezunu olduğu ve sadece %16’sının da ilköğretim mezunu olduğu görülmüştür. AKB ve sağlıklı grup arasında eğitim durumları açısından

istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek için gruplar eğitim durumlarına göre ilköğretim veya lise mezunları ve üniversite veya lisansüstü mezunlar olmak üzere 2 gruba ayrılmış ve yapılan ki-kare analizi sonucunda iki grup arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($\chi^2=6,76$; $p=0,009$).

Çizelge 3.1. Çalışmaya dahil edilen alkol kullanım bozukluğu (AKB) tanısı almış bireyler ile sağlıklı gönüllü bireylere ait sosyodemografik bilgiler

Sosyademografik özellikler	AKB		Sağlıklı gönüllü	
	n=50		n=50	
Yaş (yıl)	46,46±10,28 (26-65)		40,90±9,19 (27-62)	
Kilo (kg)	74,09±13,84 (49-107)		82,22±11,56 (55-106)	
BKİ (kg/m2)	24,59±3,81 (16,37-33,77)		26,74±3,34 (19,03-35,01)	
Eğitim durumu				
İlköğretim	14	28 (%)	8	16 (%)
Lise	17	34 (%)	10	20 (%)
Lisans	13	26 (%)	19	38 (%)
Yüksek Lisans	6	12 (%)	13	26 (%)
Çalışma Durumu				
Çalışıyor	28	56 (%)	47	94 (%)
Çalışmıyor	10	20 (%)	1	2 (%)
Emekli	12	24 (%)	2	4 (%)
Aylık geliri (TL)	4070,14±4113,34		4428,00±2229,39	
Medeni durumu				
Bekar	10	20 (%)	14	28 (%)
Evli	25	50 (%)	35	70 (%)
Boşanmış/dul/ayrı yaşıyor	15	30 (%)	1	2 (%)
Sigara kullanımı				
Evet	48	96 (%)	48	96 (%)
Hayır	2	4 (%)	2	4 (%)
Sigara kullanım süresi (yıl)	25,69±10,57		16,87±10,84	
Sigara (paket/gün)	1,31±0,61		0,82±0,36	
Sigara (paket/yıl)	32,10±18,28		15,64±12,77	
Alkole başlama yaşı (yıl)	17,94±3,93		18,94±3,11	
Alkol (birim/hafta)*	3,96±0,20		0,71±0,79	

*1 birim içki: 1 adet 330 ml bira (%5 alkol)/1 kadeh (140ml) şarap (%12 alkol)/ 1 tek (40ml) vodkaviski-cin (%40 alkol)/ 1 tek (40ml) rakı (%45 alkol) olarak hesaplanmıştır.

AKB ve sağlıklı bireyler, medeni durumlarına göre de karşılaştırılmıştır. AKB grubunun %30'u, sağlıklı bireylerin ise sadece %2'si boşanmış/dul ya da ayrı yaşadığı belirlenmiştir. AKB ve sağlıklı grup arasında medeni durum açısından anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek için gruplar evli olanlar (evli) ve evli olmayanlar (bekar, dul, boşanmış, ayrı yaşıyor) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Ki-kare testi ile yapılan istatistiksel analiz sonucunda, AKB ve sağlıklı bireylerin medeni durumları açısından aralarında anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($\chi^2=4,17$; $p=0,041$).

Çalışmamıza dahil edilen AKB tanısı konmuş bireylerin, %56'sının çalıştığı, %20'sinin çalışmadığı ve %24'ünün de emekli olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı gönüllü bireylerde ise bu oranların sırasıyla %94, %2 ve %4 olduğu görülmüştür. AKB ve sağlıklı grup çalışma durumları açısından istatistiksel olarak karşılaştırmak amacıyla çalışanlar ve çalışmayanlar veya emekli olanlar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Ki-kare testi sonucunda, AKB ve sağlıklı grup arasında çalışma durumları açısından istatistiksel olarak farklılık olduğu tespit edilmiştir ($\chi^2=19,25$; $p=0,000$).

Sağlıklı bireyler çalışmaya dahil edilirken, sigara kullanımının etkisini ortadan kaldırmak amacıyla sigara kullanımı açısından AKB grubu ile eşleştirilmiştir. Her iki grupta da 48 birey (%96) sigara kullanırken, 2 birey (%96) sigara kullanmamaktadır. AKB ve sağlıklı bireyler sigara kullanım süresi (yıl) açısından bağımsız gruplarda t testi ile istatistiksel açıdan karşılaştırılmış ve iki grup arasında sigara kullanım süresi açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($t=4,099$; $p=0,000$). Günlük sigara kullanım miktarı, yıllık sigara kullanım miktarı ve alkole başlama yaşı normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. AKB ve sağlıklı grup arasında günlük sigara kullanım miktarı ($z=-4,172$; $p=0,000$) ve yıllık sigara kullanım miktarı ($z=-4,569$; $p=0,000$) açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Alkole başlama yaşı açısından AKB ve sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($z=-1,392$; $p=0,164$).

3.2. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireylerde *GHRL* Leu72Met Polimorfizm Analiz Sonuçları

GHRL Leu72Met polimorfizminin genotipleri, agaroz jelde UV ışık altında farklı uzunluklardaki 3 banda göre belirlenmiştir. Buna göre; 517 bp ve 101 bp uzunluğunda bant veren örnekler GG; 681 bp uzunluğunda bant veren örnekler TT ve 681 bp, 517 bp ve 101 bp uzunluğunda bant veren örnekler de GT olarak genotiplendirilmiştir.

Alkol kullanım bozukluğu tanılı hastalarda (n=50), *GHRL* Leu72Met polimorfizminin genotip frekansları GG, GT ve TT için sırasıyla % 74; % 24 ve % 2 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2). *GHRL* Leu72Met polimorfizmi ile oluşan alel frekansları ise (n:100); G aleli için %0,86 (n:86), T aleli içinse %0,14 (n:14) olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerde *GHRL* Leu72Met genotip frekansları

GHRL Leu72Met polimorfizmi	Genotip Frekansları	
	n	%
GG (Homozigot tipik)	37	74
GT (Heterozigot)	12	24
TT (Homozigot atipik)	1	2

Çizelge 3.3. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerde GHRL Leu72Met alel frekansları

Alel (G/A)	Alel Frekansı	
	n	%
G	86	0,86
A	14	0,14

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda alkol kullanım bozukluğu tanılı hastalarda, GHRL Leu72Met gen polimorfizminin genotip ve alel frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bulunmuştur ($p>0,05$) (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerde GHRL Leu72Met polimorfizminin beklenen ve gözlenen alel frekansları

Genotip Frekansları	GG (Homozigot tipik) (n)	GT (Heterozigot) (n)	TT (Homozigot atipik) (n)	Toplam (n)
Gözlenen	37	12	1	50
Beklenen	37	12	1	50
Serbestlik derecesi		χ^2		p= 0,98
2		0,0006		

3.3. Sağlıklı gönüllü bireylerde *GHRL* Leu72Met Polimorfizm Analiz Sonuçları

Sağlıklı gönüllü bireylerde (n=50) ise, *GHRL* Leu72Met polimorfizminin genotip frekansları GG, GT ve TT için sırasıyla % 90; % 10 ve % 0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.5). Alel frekansları ise G alleli için %0,95, T aleli için ise % 0,05'tir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.5. Sağlıklı gönüllü bireylerde *GHRL* Leu72Met polimorfizmi genotip frekansları

GHRL Leu72Met polimorfizmi	Genotip Frekansları	
	n	%
GG (Homozigot tipik)	45	90
GT (Heterozigot)	5	10
TT (Homozigot atipik)	0	0

Çizelge 3.6. Sağlıklı gönüllü bireylerde *GHRL* Leu72Met polimorfizmi alel frekansları

Alel (G/A)	Alel Frekansı	
	n	%
G	95	0,95
A	5	0,05

Sağlıklı gönüllü bireylerde genotip frekanslarının gözlenen ve beklenen değerleri Çizelge 3.7’de görüldüğü gibi olup *GHRL* Leu72Met polimorfizminin alel ve genotip frekanslarının istatistiksel olarak Hardy-Weinberg dengesine uygun olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3.7. Sağlıklı gönüllü bireylerde *GHRL* Leu72Met polimorfizminin beklenen ve gözlenen alel frekansları

Genotip Frekansları	GG (Homozigot tipik) (n)	GT (Heterozigot) (n)	TT (Homozigot atipik) (n)	Toplam (n)
Gözlenen	45	5	0	50
Beklenen	45,1	4,8	0,1	50
Serbestlik derecesi 2		χ^2 0,13		p= 0,71

3.4. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireyler ile sağlıklı gönüllülerin *GHRL* Leu72Met polimorfizmi genotipleri açısından karşılaştırılması

GHRL Leu72Met gen polimorfizmi ile alkol kullanım bozukluğu arasındaki ilişki istatistiksel olarak ki-kare testi ile analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 3.8’de verilmiştir. TT genotipi, alkol kullanım bozukluğu tanılı sadece bir bireyde tespit edilmiş ve sağlıklı hiçbir bireyde görülmemiştir. Bu nedenle, istatistiksel analizler yapılırken T aleli taşıyanlar ve taşımayanlar olacak şekilde GT ve TT genotipli bireyler birleştirilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin

%13'ü T aleli taşıırken, sağlıklı gönüllü bireylerin %5'inde T aleli saptanmıştır. Bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=4,34$; $p<0,05$).

Çizelge 3.8. Alkol kullanım bozukluğu tanılı bireyler ile sağlıklı gönüllülerin GHRL Leu72Met polimorfizmi genotip frekanslarının karşılaştırılması

GHRL Leu72Met Genotipler	AKB		Sağlıklı gönüllü		p değeri
	n	%	n	%	
GG	37	74	45	90	0,037
GT±TT	13	26	5	10	
Toplam	50	100	50	100	

3.5. Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerin genotiplerine göre karşılaştırılması

Çalışmamızda GHRL Leu72Met genotiplerinin, Çizelge 3.9'da görülen bazı parametrelere etkisi de araştırılmıştır. Genotipler arasındaki istatistiksel farklılık analizinde çizelgedeki parametrelerden BKİ ve sigara kullanım süresi normal dağılım gösterdiği için bağımsız gruplarda t testi ile karşılaştırılmıştır. Günlük ve yıllık kullanılan paket miktarı ve alkole başlama yaşı normal dağılım göstermediği için, genotipler parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Normal dağılım gösteren parametreler için ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyen parametreler için ortanca değerleri verilmiştir.

Çizelgede görüldüğü gibi, GT+TT genotipli bireylerde ($25,96\pm3,76$) BKİ değeri GG genotipli bireylere ($24,11\pm3,77$) göre daha yüksek bulunmuş ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($t=-3,006$; $p=0,003$). Benzer

şekilde, sigara kullanım süresi de GT+TT genotipli bireylerde ($27,92 \pm 9,42$) BKİ değeri GG genotipli bireylere ($24,97 \pm 10,94$) göre daha yüksek bulunmuş ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($t=4,099$; $p=0,000$). Mann-Whitney U testi ile analiz edilen parametrelerden yıllık kullanılan sigara miktarı (paket/yıl) açısından iki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($z=-2,29$; $p=0,22$). Çizelge 3.9’da da görüldüğü gibi GT+TT genotipli bireylerde (ortanca:30) yıllık kullanılan sigara paketi sayısı GG genotipli bireylere (ortanca:19,37) göre daha yüksek bulunmuştur. Günlük kullanılan sigara paket sayısı ($z=-1,832$; $p=0,067$) ve alkole başlama yaşı ($z=-1,652$; $p=0,099$) açısından GHRL Leu72Met genotipleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Çizelge 3.9. Alkol kullanım bozukluğu tanımlı bireylerde GHRL Leu72Met genotiplere göre demografik verilerinin karşılaştırılması

Demografik Bilgi	GHRL Leu72Met genotipler					
	GG (n=37)			GT±TT (n=13)		
	Min.	Maks.	Ort.±S.S./ Ortanca	Min.	Maks.	Ort.±S.S. / Ortanca
BKİ	16,37	33,77	24,11±3,77	16,41	31,26	25,96±3,76
Sigara kullanım süresi (yıl)	5	46	24,97±10,94	15	45	27,92±9,42
Sigara (paket/gün)	0,10	3,00	1,00	0,50	2,00	1,00
Sigara (paket/yıl)	0,70	76,00	19,37	12,50	60,00	30,00
Alkole başlama yaşı (yıl)	10,00	30,00	18,00	13,00	27,00	16,50

4. TARTIŞMA

Literatürde alkol bağımlılığı ve çeşitli genlerdeki varyasyonlar arasındaki ilişkinin gösterildiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Mignini ve ark., 2012; Karpyak ve ark., 2014; Jorde ve ark., 2014; Warnault ve ark., 2016; Bach ve ark., 2015; Bach ve ark., 2017; D'Addario ve ark., 2017; Klimkiewicz ve ark., 2017). Son yıllarda grelin ve alkolün beyindeki ödül sistemi üzerindeki etkilerinin benzer olması ve yapılan çalışmalarda bağımlılık davranışı ile grelin düzeyleri arasında ilişki bulunması, alkol bağımlılığında grelin düzeylerini etkileyen genlere dikkati çekmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, prorelin genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin, yeme bozuklukları ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Monteleone ve ark., 2007; Ando ve ark., 2006; Holst and Schwartz, 2006; Ando ve ark., 2007; Miyasaka ve ark., 2006; Baessler ve ark., 2005; Wang ve ark., 2004). Bu gendeki polimorfizmler ve alkol bağımlılığı arasındaki ilişkiyi araştıran az sayıda da olsa insan ve hayvan çalışmaları da bulunmaktadır (Landgren ve ark., 2008; Suchankova ve ark., 2017; Leggio ve ark., 2012). Bununla birlikte, Türk toplumunda alkol bağımlılarında alkol bağımlılığında rol oynadığı belirlenmiş *GHRL* genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin alkol bağımlılığı üzerindeki etkisi araştırılmamıştır. Türkiye’de alkol bağımlılığı ile tek nükleotid polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar irdelendiğinde; alkolü metabolize eden enzimler olan alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenaz (Vatansever ve ark., 2015; Ayhan ve ark., 2015) ile sitokrom P450 (Taşçıoğlu ve ark., 2012), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) (Kaymaz ve ark., 2013), katekol-O-metil transferaz (COMT) (Altıntoprak ve ark., 2012), nöropeptid Y (NPY) (Şengül ve ark., 2016), mü-opioid reseptörü (Gürel ve ark., 2016) ve dopamin reseptör D2 (DRD2) (Şengül ve ark., 2014) proteinlerini kodlayan genlerdeki bazı polimorfizmlerin alkol bağımlılığı ile ilişkisinin araştırıldığı görülmüştür. Dolayısıyla bu yüksek lisans tez çalışmasında, Türk erkeklerinde prorelin (*GHRL*) geni Leu72Met tek nükleotid polimorfizmi genotip farklılıklarının alkol kullanım bozukluğu üzerindeki etkisi ilk defa araştırılmıştır.

GHRL geni, 3. kromozomda (3p25-26) bulunmaktadır ve 4 ekzon ile 3 intron içermektedir. Dört ekzon, 117 amino asitten oluşan preprogrelin proteinini, 1. ve 2. ekzon ise 28 amino asitlik olgun grelini kodlamaktadır. Şimdiye kadar araştırılmış *GHRL* polimorfizmlerinin birçoğu, genin promoter ve kodlanan bölgesine yerleşmiş olanlardır ve bunlardan bazıları gen aktivitesinde etkilidir. *GHRL* Leu72Met (+408C>A) tek nükleotid polimorfizminde, ikinci ekzondaki sitozin (C) bazı, adenin (A) bazı ile değiştirmektedir. Bu baz değişimi, 72. pozisyonda lösin (Leu) amino asidi yerine metiyonin (Met) amino asidinin kodlanmasına neden olmaktadır (Li ve ark., 2019).

GHRL Leu72Met polimorfizmi, olgun grelin ürününün kodlandığı bölgenin dışında olup, proteinin sekansını değiştirmemektedir. Fonksiyonel önemi tam olarak bilinmemekle birlikte, mRNA kararlılığının ya da protein sentezindeki değişikliğin, grelin salgılanması veya aktivitesini değiştirebileceği ileri sürülmektedir (Li ve ark., 2019; Huang ve ark., 2018). *GHRL* Leu72Met polimorfizminin etkisi, özellikle tip II diyabet, obezite gibi metabolik hastalıklarda araştırılmıştır. Bu çalışmalardan birinde, Leu/Met ve Met/Met taşıyan bireylerde, Leu/Leu taşıyan bireylere göre açlık insülin düzeyi, trigliserid, HOMA-IR indeksinde anlamlı bir azalma ve grelin düzeyinde de artış gözlenmiştir. Zavarella ve ark. (2008) tarafından yapılan bu çalışmada, Met72 varyantının, insülin direncinin düzenlenmesinde koruyucu alel olabileceği ileri sürülmüştür. Berthold ve ark. (2009), tip II diyabet hastalarında Leu72Leu genotipli bireylere kıyasla Met72+ taşıyanlarda grelin düzeyinde artış eğilimi olduğu bildirilmiştir. Tip II diyabet ile grelin konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon olduğu için, beyaz ırkta Tip II diyabette de Met72 varyantının koruyucu role sahip olabileceği rapor edilmiştir (Huang ve ark., 2018). Zhuang ve ark. (2014), diyabetli hastalarda *GHRL* Leu72Met polimorfizminin nefropati gelişme riskine etkisini araştırmışlar ve Çinlilerde Met alelinin diyabetik nefropati için koruyucu olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Diğer taraftan, Tip II diyabet ve insülin direnci ile *GHRL* Leu72Met polimorfizmi arasında ilişki olmadığını bildiren çalışmalarda bulunmaktadır (Joatar ve ark., 2017; Garcia ve ark., 2009). Bu çalışmalardaki farklı sonuçların nedeni, araştırılan popülasyonların farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

GHRL Leu72Met polimorfizminin alkol kullanım bozukluğundaki etkisi ise çok az sayıdaki çalışmada araştırılmıştır (Suchankova ve ark., 2017; Landgren ve ark., 2010; Leggio ve ark., 2012). Suchankova ve ark. (2017), *GHRL* Leu72Met polimorfizmi ile alkol kullanım bozukluğu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ve 72Met alelinin koruyucu alel olduğunu bildirmişlerdir. Toplam 1127 kişiden oluşan bu vaka (n=816)-kontrol (n=311) çalışmasına hem beyaz ırk (n=474) hem de Afrikan-Amerikalılar (n=342) dahil edilmiştir. Bu çalışma ile benzer şekilde bizim de tez çalışmamızda alkol kullanım bozukluğu ile *GHRL* Leu72Met polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda 72Met alelinin frekansı, alkol kullanım bozukluğu tanılı bireylerde (%0,14) sağlıklı gruba (%0,05) göre daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, bizim çalışmamızda 72Met aleli, alkol kullanım bozukluğu için koruyucu değil riskli alel olarak belirlenmiştir.

GHRL Leu72Met polimorfizmi ile alkol kullanım bozukluğu arasındaki ilişkiyi araştıran diğer çalışma Landgren ve ark. (2010) tarafından İsveçli kadın alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde araştırılmıştır. Alkol kullanım bozukluğu olan kadın bireyler (n=113), sağlıklı soysal içici kadınlarla (n=212) farklı *GHRL* (rs696217, rs3491141, rs4684677, rs35680, rs42451 ve rs26802) ve *GHSR* (rs495225, rs2232165, rs572169 ve rs2948694) polimorfizimleri açısından karşılaştırılmıştır. Kadın alkol bağımlıları için, grelin sinyal sistemini kodlayan genlerin başlıca duyarlılık genleri olmadığı ve fakat babadan kalıtlanma ile ilgili olduğu ve sigara tüketimi ile BKİ gibi ödül ve enerji ile ilgili faktörleri etkileyebileceği sonucuna gidilmiştir. Landgren ve çalışma grubunun çalışmasında, kadın alkol bağımlıları (n=113) arasında sadece bir kişi Met/Met olarak genotiplendirilmiştir. Bizim çalışmamızda da erkek alkol bağımlıları arasında sadece 1 kişi Met/Met olarak genotiplendirilmiştir. Bu yönüyle iki çalışma benzerlik göstermektedir. İsveçliler ve Türkler, beyaz ırka (Caucasian) dahil edildikleri için bu benzerlik şaşırtıcı değildir.

Leggio ve ark. (2012), 70 akol bağımlısı ile 68 sağlıklı bireyi dahil ettikleri çalışmalarında bizim bulgularımıza benzer şekilde, alkol kullanım bozukluğu tanımlı bireylerde Met alel frekansını (%21,4), sağlıklı bireylere (%14,7) kıyasla daha fazla bulmuşlardır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak, Met alel frekansındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Dolayısıyla, hem Leggio ve çalışma grubunun çalışmasında hem de bizim yüksek lisans çalışmamızda 72Met aleli alkol kullanım bozukluğu için riskli alel olarak belirlenmiştir. GHRL 72Met alelinin alkol kullanım bozukluğundaki rolü için farklı popülasyonlarda daha çok bireyin dahil edildiğı çalışmalara gerek vardır.

Çalışmamızda alkol kullanım bozukluğu tanımlı bireyler (n=50), GHRL Leu72Met genotiplerine göre de karşılaştırılmıştır. GT+TT genotipli bireylerde (25,96±3,76) BKİ değeri GG genotipli bireylere (24,11±3,77) göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur (t=-3,006; p=0,003). Bizim bulgumuzdan farklı olarak, Ukkola ve ark. (2002) Met72Met genotipli bireylerde BKİ'nin Leu72Leu genotipli bireylere göre daha düşük olduğunu bildirmiştir.

GHRL Leu72Met genotiplerine göre AKB grubundaki bireyler karşılaştırıldığında, sigara kullanım süresi ve yıllık kullanılan sigara paketi sayısı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır.

Çalışmamızda, sağlıklı bireyler ve alkol kullanım bozukluğu tanımlı bireyler sosyodemografik özellikler açısından da karşılaştırılmıştır. Alkol kullanım bozukluğu tanımlı bireylerin %31'i ve sağlıklı bireylerin %18'i en fazla lise mezunu iken, alkol kullanım bozukluğu tanımlı bireylerin %19'unun ve sağlıklı bireylerin de %33'ünün lisans ve lisansüstü eğitim düzeyine sahip olduğu görülmüştür. Alkol kullanım bozukluğu ile eğitim seviyesi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki belirlenmiştir. Bulgumuz literatür çalışmaları ile uyumluluk göstermektedir. Genel

olarak bakıldığında literatür çalışmalarında eğitim seviyesinin yükselmesiyle alkol ve madde kullanım bozukluğu arasında negatif yönde bir ilişkinin olduğu görülmektedir. Alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş 100 hasta ile yapılan bir çalışmada hastaların %74,4'ünde eğitim düzeyinin on yıldan az olduğu, %70,9'unun ise okulu terk ettiği saptanmıştır (Nebioğlu ve ark., 2013). İlk defa polikliniğine başvuran alkol kullanım bozukluğu tanılı 200 hastanın kayıtlarının incelenmesi ile yapılan başka bir çalışmada hastaların %1,9'unun okuma-yazma bilmediği, %6,3'ünün okuma ve yazma bildiği, %66,2'sinin ilkokul mezunu olduğu, %23,5'inin lise mezunu olduğu ve %1,1'inin üniversite bitirdiği tespit edilmiştir (Zorlu ve ark., 2011). Ergenlik çağındaki alkol kullanımı ile okuldaki başarısızlık ya da eğitim düzeyindeki azalma arasında iyi bilinen bir ilişki olmasına rağmen, bu ilişkinin nedensel mi yoksa aldatıcı mı olduğu tam olarak aydınlatılamamıştır. Ergenlik dönemindeki alkol kullanımının eğitimsel kazanımlar üzerindeki olumsuz etkisi beklenen bir durumdur. Özellikle de yoğun alkol alımı öğrencilerin ders çalışmak ya da ödevlerini tamamlamak gibi aktivitelerini gerçekleştirmek için harcadıkları zamanı sınırlandırmaktadır. Diğer taraftan ağır alkol kullanımı, ergenlerin beyin yapısı ve fonksiyonu ile nöropsikolojik performansı da azaltmaktadır (Staff ve ark., 2008).

Çalışmamızda, AKB grubunun %30'u, sağlıklı bireylerin ise sadece %2'sinin boşanmış/dul ya da ayrı yaşadığı belirlenmiştir. Evli bireylerin oranı AKB grubunda %50 iken, sağlıklı grupta %70; bekar bireylerin oranı ise AKB grubunda %20 ve sağlıklı bireylerde %28 olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda da, AKB ve sağlıklı bireylerin medeni durumları açısından aralarında anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($\chi^2=4,17$; $p=0,041$). Denetimli serbestlik polikliniğine başvuran 200 alkol bağımlısı hastayla yapılmış olan çalışmada %35,5'inin evli bireyler, %55'inin bekar bireyler ve %9,5'inin ayrılmış bireyler olduğu görülmüştür (Zorlu ve ark., 2011). Diğer taraftan 100 alkol bağımlısı hastayla yapılmış başka bir çalışmada madde kullanan bireylerin %84,4'ünün bekâr bireyler, %32,5'inin ise ayrılmış bireyler olduğu belirlenmiştir (Nebioğlu ve ark., 2013). Akdeniz Üniversitesi Psikiyatri Anabilim Dalı Bağımlılık Tedavi Birimi'ne 6 ay boyunca gönderilen olgulara ait dosyaların irdelenmesi ile gerçekleştirilen bir çalışmada ise katılımcı

bireylerin %48,4'ünün bekar bireyler olduğu saptanmıştır (Altıntoprak ve ark., 2014). Evren ve Ögel (2003)'in yapmış oldukları çalışmada da alkol bağımlılığı teşhisi konan hasta bireylerde evlilik yüzdesinin %75,6 olduğu, bu oranın madde bağımlılığı teşhisi konan bireylerde ise %24 olduğu saptanmıştır (Marshal, 2009).

AKB ve sağlıklı grup çalışma durumları açısından da istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve AKB ile sağlıklı grup arasında çalışma durumları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($\chi^2=19,25$; $p=0,000$). Çalışmamıza dahil edilen AKB tanısı konmuş bireylerin, %56'sının çalıştığı, %20'sinin çalışmadığı ve %24'ünün de emekli olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı gönüllü bireylerde ise bu oranların sırasıyla %94, %2 ve %4 olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda AKB ($24,59 \pm 3,81$) ve sağlıklı ($26,74 \pm 3,34$) grubun ortalama BKİ değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Benzer şekilde, iki grubun ortalama kiloları arasındaki farklılık da istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 3.1).

Sağlıklı gönüllü bireyler çalışmaya dahil edilirken, sigara kullanımı açısından AKB grubu ile eşleştirilerek seçilmiştir. AKB grubunda 48 birey sigara kullanırken, 2 birey sigara kullanmıyordu. AKB grubu ile uyumlu olması açısından sağlıklı gönüllülerden de 48 birey sigara içenlerden ve 2 birey de sigara kullanmayanlardan seçilmiştir. AKB ve sağlıklı grup sigara kullanım süresi (yıl), günlük sigara kullanım miktarı ve yılda kullanılan paket miktarları açısından karşılaştırılmış ve iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda, grelin ve alkolün beyindeki ödül sistemi üzerindeki etkilerinin benzer olması ve yapılan çalışmalarda bağımlılık davranışı ile grelin düzeyleri arasında ilişki bulunması, alkol kullanım bozukluğunda grelin düzeylerini etkileyen genlere dikkati çekmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, progrelın (*GHRL*) genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin, yeme bozuklukları ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Monteleone ve ark., 2007; Ando ve ark., 2006). Bu gendeki polimorfizmler ve alkol kullanım bozukluğu arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda insan ve hayvan çalışmaları da bulunmaktadır (Suchankova ve ark., 2017). Bununla birlikte, Türk toplumunda alkol bağımlılarında *GHRL* genindeki SNP'lerin alkol kullanım bozukluğu üzerindeki etkisi araştırılmamıştır. Dolayısıyla bu yüksek lisans tez çalışmasında, Türk erkeklerinde *GHRL* genindeki genotip farklılıklarının alkol kullanım bozukluğu üzerindeki etkisi ilk defa araştırılmıştır.

Alkol kullanım bozukluğu tanısı almış (n=50) bireylerin %74'ünün GG genotipine sahipken, %26'sının GT+TT genotipe sahip olduğu görülmüştür. Sağlıklı bireylerde bu genotip frekansları sırasıyla %90 ve %10 olarak hesaplanmıştır. İki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak analiz edildiğinde, bu farklılığın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Alkol kullanım bozukluğu olan bireyler, *GHRL* Leu72Met genotiplerine göre karşılaştırıldığında ise, GG ve GT+TT genotipli bireyler arasında BKİ, sigara kullanım süresi ve yıllık kullanılan sigara paketi sayısı açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş bireyler, sağlıklı gönüllü bireylerle çeşitli sosyodemografik parametreler açısından da istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. İki grup arasında BKİ ve kilo Çalışmamızın sonuçları, alkol kullanım bozukluğu ve *GHRL* Leu72Met polimorfizmi arasında ilişki tespit eden az sayıdaki çalışmayı desteklemektedir. İlk defa Türk erkeklerinde çalışılmış olması literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır. Az sayıda birey ile çalışılmış olmasına

rağmen bulgular dikkat çekicidir. Kadın alkol bağımlılarının da dahil edileceği ileri çalışmalarda, bu polimorfizmin plazma total ve açilli grelin düzeylerine etkisinin araştırılması polimorfizmin biyolojik etki mekanizması ile ilgili ayrıca, çalışmamızın madde kullanım bozukluğu ile grelin hormonu arasındaki ilişkinin araştırılacağı ileri çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.



ÖZET

Türkiye’de Alkol Kullanım Bozukluğu ve GHRL Leu72Met gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması

Alkol Kullanım Bozukluğu, alkol bulmak için istek duyma, alkol tüketiminde kontrolü kaybetme ve yoksunluk döneminde negatif duygusal durum ile karakterize kronik ve tekrarlayan bir sorundur. Dünya Sağlık Örgütü’nün verilerine göre dünyada yaklaşık iki milyar insan alkollü içecek tüketmekte ve yaklaşık 77 milyon insanda alkol kullanım bozukluğu bulunmaktadır. Alkol kullanım bozukluğuna bağlı olarak, kişinin karar verme yeteneği bozulduğu ve saldırgan davranış riski arttığı için, hırsızlık, tecavüz ve cinayet gibi alkole bağlı suçların görülme oranı da artabilmektedir.

Son yıllarda yeme ve bağımlılık davranışlarının nörobiyolojilerinin benzer özelliklere sahip olduğunun keşfedilmesi araştırmacıları, bağımlılık ve grelin gibi besin alımında önemli olan hormonlar arasındaki ilişkiyi araştırmaya sevk etmiştir. Yapılan prelinik ve klinik çalışmalar da alkol kullanım bozukluğunda grelin sisteminin rolünü ve önemini göstermiştir. Bununla birlikte, bu ilişkinin biyolojik mekanizmasının aydınlatılması için daha çok genetik çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu nedenle, çalışmamızda, Türkiye’de alkol kullanım bozukluğu ile *GHRL* Leu72Met gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin ilk defa araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş 50 erkek birey ile alkol ve/veya herhangi bir madde kullanım bozukluğu olmayan sağlıklı 50 erkek bireyden toplanan venöz kan örnekleri Polimeraz zincir reaksiyonu- Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile analiz edilmiştir. Alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin %13’ü GT+TT genotipine sahipken, sağlıklı gönüllü bireylerin %5’inde GT+TT genotipi saptanmıştır. Bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=4,34$; $p<0,05$). Alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş bireyler *GHRL* Leu72Met genotiplerine göre de karşılaştırılmış ve GT+TT genotipli bireylerde BKİ ve sigara kullanım süresi GG genotipli bireylere göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Alkol kullanım bozukluğu tanısı konmuş bireyler sağlıklı bireylerle çeşitli sosyodemografik bilgiler açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında BKİ, medeni durum, çalışma ve eğitim durumları açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$).

Sonuç olarak, çalışmamızda ilk defa Türk erkeklerinde alkol kullanım bozukluğu ile *GHRL* Leu72Met polimorfizmi arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Alkol kullanım bozukluğu, grelin, gen polimorfizmi

SUMMARY

Investigation of association between alcohol use disorder and *GHRL* Leu72Met gene polymorphism in Turkey

Alcohol Use Disorder is a chronic and recurrent problem characterized by a desire to find alcohol, losing control of alcohol consumption, and a negative emotional state during withdrawal. According to data from the World Health Organization, around two billion people consume alcoholic beverages in the world and about 77 million people have alcohol use disorder. The incidence of alcohol-related crimes, such as theft, rape and murder, may also increase, as the decision-making ability of the person is impaired and the risk of aggressive behavior increases due to alcohol use disorder.

The discovery that neurobiology of eating and addictive behaviors have similar characteristics in recent years has led researchers to investigate the relationship between addiction and hormones such as ghrelin. Preclinical and clinical studies have shown the role and importance of ghrelin system in alcohol use disorder. However, more genetic studies are needed to elucidate the biological mechanism of this relationship. Therefore, the aim of the proposed master thesis is to compare individuals with a diagnosis of alcohol use disorders and healthy control group without a diagnosis of alcohol and/or any substance use disorders in view of *GHRL* Leu72Met gene polymorphism for the first time in Turkey. For this purpose, venous blood samples collected from both groups will be analyzed by Polymerase chain reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) method and compared statistically.

Key words: Alcohol use disorder; ghrelin; gene polymorphism

KAYNAKLAR

- ADLER RA (1992). Clinically important effects of alcohol on endocrine function. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*, ss. 957 – 960.
- AGARWAL DP, GEODDE, HW (1990). Alcohol metabolism, alcohol intolerance and alcoholism. *Biochemical and Pharmacogenetic Approaches*. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, p.184.
- AMMON E, SCHAFER C, HOFFMAN U (1996). Disposition and first-pass metabolism of ethanol in humans: is it gastric or gender? *Clinical Pharmacology and Therapy*, 59, ss. 503-513.
- ANDERSON LS (2006). *Dealing with Angry Child*, USA: Government Printing Office.
- ARFSTEN DP, SILBERGELD EK, LOFFREDO CA (2004). Fetal ADH2*3, maternal alcohol consumption, and fetal growth. *International Journal of Toxicology*, 23, ss. 47–54.
- ARIYOSHİ T, TAKABATAKE E, REMMER H (1970). Drug metabolism in ethanol-induced fatty liver. *Life Sciences*, 9, ss. 361-369.
- ASKAGE T, YOKOYAMA, A. HANEDA, T. YAMAZAKİ, A. MUTO, M. YOKOYAMA, T. KATO, H. IGAKİ, H. TSUJİNAKA, T. KUMAGAI, Y. YOKOYAMA, M. OMORI, T. WATANABE H (2007). Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases, and drinking, smoking and diet in Japanese men with oral and pharyngeal squamous cell carcinoma. *Journal of Carcinogenesis*, 28, ss. 865–874.
- BADAOUİ, A., DE SAEGER, C., DUCHEMIN, J., GİHOUSSE, D., DE TİMARY, P. STÄRKEL, P. (2008). Alcohol dependence is associated with reduced plasma and fundic ghrelin levels. *Eur J Clin Invest*. 38(6):397-403.
- BERG, J. M. TYMOCZKO, J. L. STRYER, L (2002). Ethanol alters energy metabolism in the liver, in *Biochemistry*, New York, DC: W. H. Freeman and Company.
- CHEN, C. C. LU, R.B. CHEN, Y.C. WANG, M. F., CHANG, Y. C. Lİ, T. K (1999). Interaction between the functional polymorphisms of the alcohol-metabolism genes in protection against alcoholism. *American Journal of Human Genetics*. 65, ss. 795-807.
- CİCHOZ-LACH, H. PARTYCKA, J. NESİNA, I. CELİNSKİ, K. SŁOMKA, M. WOJCİEROWSKİS, J (2007). Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphism in alcohol liver cirrhosis and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 42, ss. 493- 498.
- COŞKUNOL, H (1997). *Alkol Bağımlılığı Tanı ve Tedavisi*, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

COSKUNOL, H. ALTINTOPRAK, E (1999). Alkol kullanımının genetik yönleri. Klinik Psikiyatri, 2, ss. 222-229.

CRABB, D. W. EDENBERG, H. J. BOSRON, W. F. Lİ, T. K (1989). Genotypes for Aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity the inactive ALDH2*2 allele is dominant. The Journal of. Clinical Investigation, 83, ss. 314-316.

DAS, U. G. CRONK, C. E. MARTIER, S. S. SIMPSON, P. M. MCCARVER, D. G (2004). Alcohol dehydrogenase 2*3 affects alterations in offspring facial morphology associated with maternal ethanol intake in pregnancy. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 28, ss. 1598-1606.

DAYİ, A. (2013). Eskişehir Osmangazi Üniversitesi öğrencilerinde sigara, alkol ve madde kullanım yaygınlığı.

DRUESNE-PECCOLLO, N. TEHARD, B. MALLET, Y. GERBER, M. NORAT, T. HERCBERG, S. LATİNO-MARTEL, P (2009). Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. The Lancet Oncology, 10, ss. 173–180.

DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ (2004). Alkol için küresel statü raporu. Cenevre

DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ (2011). Alkol ve sağlık için küresel statü raporu. Cenevre.

EHLERS, C. L. GİLDER, D. A. HARRİS, L (2001). Association of the ADH2*3 allele with a negative family history of alcoholism in African American young adults. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 25, ss. 1773-1777.

FREZZA, M. Dİ PADOVA, C. POZZATO, G. TERPİN, M, BARRONA, E. LİEBER, C. S (1990). High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. New England Journal of Medicine, 322, ss. 95-99.

GAO, C. M. TAKEZAKİ, T. WU, J. Z. ZHANG, X. M. CAO, H. X. DİNG, J. H. Lİ, S. P. CAO, J. MATSUO, K. HAMAJİMA, N. TAJİMA, K (2008). Polymorphisms of alcohol dehydrogenase 2 and aldehyde dehydrogenase 2 and colorectal cancer risk in Chinese males. World Journal of Gastroenterology, 14, ss. 5078-5083.

GEMMA, S., VİCHİ, S. TESTAİ, E (2006). Individual susceptibility and alcohol effects: Biochemical and genetic aspects. Annali dell'Isitutot Superiore di Sanita, 42, ss. 8-16.

GOEDDE, H. W. AGARWAL, D. P. FRITZE, G. MEIER-TACKMANN, D. SİNGH, S. BECKMANN, G (1992). Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations. Human Genetics, 88, ss. 344-346.

Güleç, G. (2015). Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir.

HANDLER, J. A. BRADFORD, B. U. GLASMAN, E. LADİNE, J. K. VE THURMAN, R.G (1999). Catalase-dependent ethanol metabolism in vivo in deermice lacking alcohol dehydrogenase. *Biochemical Pharmacology*, 35, ss. 4487-4492.

HARADA, S. AGARWAL, D. P. GOEDD, H. W (1982). Human liver alcohol dehydrogenase isoenzyme variations: Improved separation methods using prolonged high voltage starch gel electrophoresis and isoelectric focusing. *Human Genetics*, 40: ss. 215-220.

HELLGREN, M. STÖMBERG, P. GALLEGRO, O. MARTRAS, S. FARRES, J. PERSSON, B. PARES, X. HÖÖG, J. O (2007). Alcohol dehydrogenase 2 is a major hepatic enzyme for human retinol metabolism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64, ss. 498-505.

HELMUT, K. STICKEL, S. STICKEL, F (2007). Molecular mechanisms of alcoholmediated carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 7, ss. 599-612.

HIGUCHI, S (1994). Polymorphisms of ethanol metabolizing enzyme genes and alcoholism. *Alcohol and Alcoholism Supplement*, 2, ss. 29-34, 1994.

HİNES, L. M. STAMPFER, M. J. MA, J. GAZİANO, J. M. RIDKER, P. M. HANKINSON, S. E. SACKS, F. RİMM, E. B. HUNTER, D. J (2001). Genetic variation in alcohol dehydrogenase and the beneficial effect of moderate alcohol consumption on myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, 344, ss. 549-555.

HOLFORD, N. H. G (1987). Clinical pharmacokinetics of ethanol. *Clinical Pharmacokinetic*, 13, ss. 273-292.

HÖÖG, J. O. BRANDT, M. HEDBERG, J. J. STROMBERG, P (2001). Mammalian alcohol dehydrogenase of higher classes: analyses of human ADH5 and rat ADH6. *Chemico-Biological Interactions*, 130, ss. 395-405.

ILTER, T. TEKİN, F (2005). Alkol metabolizması. *Güncel Gastroenteroloji*, 9, ss. 58-62.

IWAHASHİ, K. SUWAKİ, H (1998). Ethanol metabolism, toxicity and genetic polymorphism. *Biology of ADD*, 3, ss. 249-259.

JELSKI, W. SZMITKOWSKI, M (2008). Alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) in the cancer diseases. *Clinica Chimica Acta*, 395, ss. 1-5.

KAIYA, H. KOJİMA, M. HOSODA, H. K. YAMAMOTO, K. KİTAJİMA, Y. (2001). Bullfrog Ghrelin is Modified by N-Octanoic Acid at its Third Threonine Residue. *Journal of Biological Chemistry*, 276(44): 40441-40448.

KANDA, J. MATSUO, K. SUZUKI, T. KAWASE, T. HIRAKI, A. WATANBE, M. MIZUNO, N. SAWAKI, A. YAMAO, K. TAJIMA, K. VE TANAKA, H (2008). Impact of alcohol consumption with polymorphisms in alcohol-metabolizing enzymes on pancreatic cancer risk in Japanese. *Cancer Science*, 100, ss. 296-302, 2008.

KASSAM, J. P. TANG, B. K. KADAR, D. KALOW, W (1989). In vitro studies of human liver alcohol dehydrogenase variants using a variety of substrates. *Drug Metabolism and Disposition*, 17, ss. 567-572.

KAYAALTI, Z SOYLEMEZOGLU, T (2010). Distribution of ADH1B, ALDH2i CYP2E1*6 and CYP2E1*7B genotypes in Turkish population. *Alcohol*, Baskıda.

KESSLER, R. C., ZHAO, S., BLAZER, D. G. SWARTZ, M. (1997). Prevalence, correlates, and course of minor depression and major depression in the National Comorbidity Survey. *Journal of affective disorders*, 45(1- 2), 19-30

KILIÇ, C. (1998). Türkiye ruh sağlığı profili. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı.

KİM, D. J. YOON, S. J. CHOI, B. KİM, T. S. WOO, Y. S. KİM, W. (2005). Increased fasting plasma ghrelin levels during alcohol abstinence. *Alcohol Alcohol*, 40(1): 76-9.

KİMURA, S. OKABAYASHI, Y. INUSHIMA, K. KOCHI, T. YUTSUDO, Y. VE KASIGA, M (2000). Alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms in Japanese patients with alcohol-induced chronic pancreatitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 45, ss. 2013–2017.

KLEINSCHMIDT, K. C. DELANEY, K. A (1998). Ethanol. İçinde L. M. Haddad, M. W. Shannon ve J. F. Winchester (Ed.), *Clinical Management of Poisoning and Drug overdose*. ABD; ss. 475-489.

KOJIMA, M., HOSODA, H., DATE, Y., NAKAZATO, M., MATSUO, H., KANGAWA, K (1999). Ghrelin is a Growth-Hormone-Releasing Acylated Peptide from Stomach. *Nature*, 402(6762), 656-660.

KRAUS, T., SCHANZE, A., GROSCHL, M., BAYERLEIN, K., HILEMLER, T. REULBACH, U., (2007). Ghrelin levels are increased in alcoholism. *Alcohol Clin ExpRes*, 29(12): 2154-2157.

KUO, P. H. KALSI, G. PRESCOTT, C. HODGKINSON, C. A. GOLDMAN, D. OORD, E. J. ALEXANDER, J. JIANG, C. SULLIVAN, P. F. PATTERSON, D. G. WALSH, D. KENDLER, K. S. RILEY, B (2008). Association of ADH and ALDH genes with alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of Alcohol Dependence (IASPSAD) sample. *Alcoholism: Clinical and Experimental Reserach*, 32, ss. 785-795.

LABARTHE, A., FÌQUET, O., HASSOUNA, R., ZÌZZARÌ, P., LANFUMEY, L., RAMOZ, N. TOLLE, V (2014). Ghrelin-Derived Peptides: A Link Between Appetite/Reward, GH Axis, and Psychiatric Disorders?. *Fronteries In Endocrinology*, 5: 1-19.

LEE, H. C. LEE, H. S. JUNG, S. H. YÌ, S. Y. JUNG, H. K. YOON, J. H. KÌM, C. Y (2004). Association between polymorphisms of ethanol-metabolizing enzymes and susceptibility to alcoholic cirrhosis in Korean male population. *Journal of Korean Medical Science*, 16, ss. 745-750.

LEE, H. C. LEE, H. S. JUNG, S. H. YÌ, S. Y. JUNG, H. K. YOON, J. H. KÌM, C. Y (2008). Association between polymorphisms of ethanol-metabolizing enzymes and susceptibility to alcoholic cirrhosis in Korean male population. *Journal of Korean Medical Science*, 16, ss. 745-750.

LEGGÌO, L., ZYWÌAK, W. H., FRÌCCHÌONE, S. R., EDWARDS, S. M., DE LA MONTE, S. M., SWÌFT, R. M. KENNA, G. A., (2014). Intravenous ghrelin administration increases alcohol craving in alcohol-dependent heavy drinkers: a preliminary investigation. *Biol Psychiatry*. 76(9):734-41.

LÌ, J. J., INOUÉ, H., FIEHN, W., SALASPURO, M. SEITZ, H. K., (2001) Volunteers homozygous for the alcohol dehydrogenase 3*1 allele have increased acetaldehyde concentrations in their saliva following alcohol ingestion (abstract). *Alcohol Alcohol*. 36:462.

LÌEBER, C. S (2000). Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments. *Journal of Hepatology*, 32, ss. 113-128.

MATSUO, K., WAKAI, K., HIROSE, K., ITO, H., SAITO, T., SUZUKI, T., KATO, T., HIRAI, T., KANEMITSU, Y., HAMAJIMA, H. TAJIMA, K. (2005). A gene-gene interaction between ALDH2 Glu487Lys and ADH2 His47Arg polymorphisms regarding the risk of colorectal cancer in Japan. *Carcinogenesis*. 27 (5): 1018-1023.

MCCARVER, D. G (2001). ADH2 and CYP2E1 genetic polymorphisms: risk factors for alcohol-related birth defects. *Drug Metabolism and Disposition*, 29, ss. 562-565, 2001.

MÜLLER, T. D. (2015). Ghrelin. *Molecular Metabolism*. 4: 437-460.

NAGAYA, N., UEMATSU, M., KOJÌMA, M., DATE, Y. NAKAZATO, M. (2001). et al. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 2001; 104: 2034-2038.

NAPOLÌ, J. L (1999). Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism. *Biochimica Biophysica Acta*, 1440, ss. 139-162.

OSIER, M. V. PAKSTIS, A. J. GOLDMAN, D. EDENBERG, H. J. KIDD, J. R. VE KIDD, K. K (2002). A proline-threonine substitution in codon 351 of ADH1C is common in native Americans. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 26, ss. 1759-1763.

ÖKSÜZ E, MALHAN S. (2005). Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinde Kodlama ve Sınıflandırma. *Başkent Üniversitesi* 1: 9-10, 24, 35, 40-55.

ÖGEL, K., ERMAĞAN, E., EKE, C. Y. TANER, S. (1997). Madde Deneyen ve Denemeyen Ergenlerde Sosyal Aktivitelere Katılım: İstanbul Örnekleme. 90, 18–23.

ÖGEL, K. (2017). Bağımlı aileleri için rehber kitap. Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları

ÖGEL, K. (2018). Bağımlılık ve tedavisi temel kitabı. IQ Kültür Sanat Yayıncılık

ÖZTÜRK, O. ULUŞAHİN, A. (2016). Ruh sağlığı ve bozuklukları. Nobel Tıp Yayınevleri. Quertemont, E., Genetic polymorphism in ethanol metabolism: acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Molecular Psychiatry*, 9: ss. 570 – 581.

RAO, V. R. BHASKAR, L. V. K. S. ANNAPURNA, C. REDDY, A. PAPARAO, A. VE SINGH, L (2007). Single nucleotide polymorphisms in alcohol dehydrogenase genes among some Indian populations. *The American Journal of Human Biology*, 19, ss. 338-344.

ROBERTS-THOMSON, I. C. BUTLER, W. J (2004). Polymorphism and addiction to alcohol. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19, ss. 1322-1323, 2004.

SALMAN, E (2007). Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphism in Turkish alcoholic people and control group. İzmir Yüksek Teknolojisi Enstitüsü, Biomühendislik ve Bioteknoloji, Yüksek lisans tezi. İzmir.

SAYIN, H. VURAL, N (2000). Karaciğere alkol dehidrogenaz aktivitesini etkileyen bazı faktörlerin araştırılması. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 29, ss. 19-32.

SHER, L., OQUENDO, M. A., LÍ, S., HUANG, Y., GRUNEBAUM, M. F., BURKE, A. K. MANN, J. J. (2003). Lower CSF homovanillic acid levels in depressed patients with a history of alcoholism. *Neuropsychopharmacology*, 28(9), 1712-1719. doi:10.1038/sj.npp.1300231.

TAMAKOSHİ, A. HAMAJİMA, N. KAWASE, H. WAKAI, K. KATSUDA, N. SAİTO T, ITO, H. HİROSE, K. TAKEZA, T. TAJİMA K (2003). Duplex polymerase chain reaction with confronting two-pair primers (PCR-CTPP) for genotyping alcohol dehydrogenase subnit (ADH2) and Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2). *Alcohol & Alcoholism*, 38, ss. 407–410.

TANAKA, F. SHIRATORI, Y. YOKOSUKA, O. IMAZEKI, F. TSUKADA, Y. VE OMATA, M (1997). Polymorphism of alcohol-metabolizing genes affects drinking behavior and alcoholic liver disease in Japanese men. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21, ss. 596-601.

ULUĞ B (2007). Alkol kullanımı ile ilişkili bozukluklar. In *Psikiyatri Temel Kitabı* (Eds C Güleç, E Köroğlu): 161-172. Ankara, HYB Basım Yayın.

UZBAY, T., ALKOL. İÇİNDE O. KAYAALP (E.d.), (2005). Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Haccettepe-Taş; ss. 739-750.

UZBAY, T. (2011). Madde Bağımlılığının tarihçesi, tanımı, genel bilgiler ve bağımlılık yapan maddeler. *Meslek İçi Eğitim Dergisi*, (21) 5-15.

VILJOEN, D. L. CARR, L. G. FOROUD, T. M. BROOKE, L. RAMSAY, M. LI, T. K (2001). Alcohol dehydrogenase-2*2 allele is associated with decreased prevalence of fetal alcohol syndrome in the mixed-ancestry population of the Western Cape Province, South Africa. *Alcoholism: Clinical And Experimental Research*, 25, ss. 1719-1722.

WHO, (2005). Alcohol and Substance Abuse. Intervention in Vulnerable Population Affected By Disaster, Training Manual. India.

WURST, F. M. RASMUSSEN, D. D. HILLEMACHER, T. KRAUS, T. RAMSKOGLER, K. LESCH, O. (2007). Alcoholism, craving, and hormones: The role of leptin, ghrelin, prolactin and pro-opiomelanocortin system in modulating ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res*, 31(12): 1963-67.

YARGIÇ, İ. (2007) Madde Kullanımının Tarihsel Seyri ve Bağımlılık Konusunda Risk Faktörleri. *Popüler Psikiyatri Dergisi*; 40: 14-17

YOKOYAMA, A., MURAMATSU, T., OHMORI, T., HIGUCHI, S., HAYASHIDA, M. ISHII, H. (2003). Esophageal cancer and aldehyde dehydrogenase-2 genotypes in Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5:99-102.

YOKOYAMA, A. OMORI T (2003). Genetic Polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases and risk for esophageal and Head and Neck Cancers. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 33, ss. 111-121.

ZALLAR, L. J., FAROKHNIA, M., TUNSTALL, B. J., VENDRUSCOLO, L. F. LEGGIO, L. (2017). The Role of the Ghrelin System in Drug Addiction. *Int Rev Neurobiol*. 136:89-119.

ZERNIG, G. VE BATTISTA, H. J., İÇİNDE G. ZERNIG, A. SARI, M. KURZ S.S. O'MALLEY (EDS.), (2000). *Handbook of Alcoholism*. Boca Raton: CRC Press Inc., ss. 421-423.

EKLER

Ek.1

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Alkol bağımlılarında kan grelin düzeylerine GHRL ve GHSR gen polimorfizmlerinin ve DNA metilasyon kalıplarının etkisinin araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	ILAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:19-1300-18	Tarih:26 Kasım 2018		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuruya dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanmaya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkisi	Katılım *	İmza
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	M. Melli
Prof.Dr. İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof.Dr. Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof.Dr. Levent YAZICIOĞLU	Kalp ve Damar Cerrahisi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. İnci İLHAN	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☒ H ☐	E ☐ H ☒	Yardımcı Araştırmacı olarak katılmadı
Prof.Dr. Serap SIVRI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Zariye ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü. Hukuk Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof.Dr. Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Doç.Dr. Derya GÖRMEN	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	DS
Doç.Dr. Selami Koçak TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr. Pınar HURİ	Biyomedikal Mühendisliği	A.Ü. Mühendislik Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Önder İLGİLİ	Tıp Tarihi ve Etik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
İlhan BERKTAŞ	Matematik Mühendisliği	Türkiye Kömür İşletmeleri Genel Müdürlüğü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmamalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Alkol bağımlılarında kan grelin düzeylerine GHRL ve GHSR gen polimorfizmlerinin ve DNA metilasyon kalıplarının etkisinin araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Dilek AKYÜZLÜ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Adli Biyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü, Adli Biyoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
		Diğer ise belirtiniz: Vaka-Kontrol araştırması			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

M. Melli

BernazLIK
A.Ü.T.F. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Aşlı Gıbidir

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı: Berfin

Soyadı: KILIMAN

Doğum yeri ve tarihi: Elazığ

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: krdlnbrfn@hotmail.com / 05375721371

Eğitimi

Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Adli Biyoloji Tezsiz Yüksek Lisans

Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Tezsiz Yüksek Lisans

Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.

Fırat Üniversitesi Biyoloji (Elazığ)

Elazığ Lisesi

Yabancı dili: İngilizce

Ulusal Konferans ve Sempozyumlar

- a) 1. Ulusal Adli Bilimler Sempozyumu (Ankara)
- b) 1. Uluslararası Biyoloji Kongresi (Ankara)
- c) 11. Uluslararası Anadolu Adli Bilimler Kongresi (Bayburt)
- d) 2. Ulusal Sağlık Hukuku Kongresi (Gaziantep)
- e) 2. Adli Psikoloji Sempozyumu (Aydın)
- f) 1. Uluslararası Adli Biyoloji ve Genetik Kongresi (Ankara)

İş Deneyimleri

2006-2011 : Özel Elazığ Hayat Hastanesi / Biyolog

2011-2012 : Erimli Güvenevler Ortaöğretim Okulu / Ücretli Öğretmen

2012-2013 : Gazi Kamil Ayhan Ortaöğretim Okulu / Ücretli Öğretmen

2017-2018 : Ücretli Öğretmenlik