

**NPY GEN POLİMORFİZMLERİ VE ALKOL BAĞIMLILIĞI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF ASSOCIATION BETWEEN NPY GENE
POLYMORPHISMS AND ALCOHOLISM**

HAYRİYE AKEL

Prof. Dr. Erol AKSÖZ
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2014

HAYRİYE AKEL'in hazırladığı “ **NPY gen polimorfizmleri ve alkol bağımlılığı arasındaki ilişkinin araştırılması** ” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**' nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Afife İzbirak

Başkan

.....

Prof. Dr. Erol Aksöz

Danışman

.....

Prof. Dr. Sibel Sümer

Üye

.....

Prof. Dr. Hatice Mergen

Üye

.....

Prof. Dr. Özlem Yıldırım

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Biricik anneanneme...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

22/ 01/14

HAYRIYE AKEL

ÖZET

NPY GEN POLİMORFİZMLERİ VE ALKOL BAĞIMLILIĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Hayriye Akel

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erol Aksöz

Ocak 2014, 75 sayfa

Alkol bağımlılığı farklı klinik ve etiyolojik özellikler gösteren, genetik temele sahip, kronik ve yineleyici, biyokimyasal bir bozukluk olup, içme ve içmeme dönemleri ile değişik özellikler göstermektedir. Alkol bağımlısı, fiziksel ya da psikolojik sıkıntısını gidermek için alkol tüketir ve sonunda alkollü içecek tüketimi hastanın fiziksel, zihinsel, sosyal ve ekonomik hayatını engelleyecek boyutlara ulaşır.

Alkol kullanımı binlerce yıldır var olmakla birlikte ülkemizde alkole bağlı sorunlarda bir artış olduğu dikkat çekmektedir. Moleküler genetik alanında kaydedilen önemli gelişmeler sonucunda, psikiyatrik bozuklukların genetik yönlerine olan ilgi artmaktadır. Alkol, sigara ve diğer psikoaktif madde bağımlılığının genetik yönleri son yıllarda çalışılmış ve aday genlerle ilgili önemli bilgiler edinilmiştir. Kişilerin sahip oldukları bireysel bağımlılık risklerini saptamak, etkili tedavi ve önleme programları geliştirmek için alkol bağımlılığının genetik temellerini anlamak gereklidir.

Bireyi alkol kötüye kullanımı, alkolizm ve alkolle ilişkili bozukluklardan koruyan ya da yatkın hale getiren bir dizi faktör vardır. Bunlar; alkolün kolayca ulaşılabilir olması, fiyatı, bireyin sosyokültürel, psikolojik, fizyolojik ve genetik yapısıdır. Genlerin alkolizm etiyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Alkolizmde genetik faktörleri belirlemeye yönelik en sık yapılan çalışmalar aile çalışmaları, ikiz çalışmaları, evlat edinme çalışmaları ve yüksek risk gruplarını ele alan çalışmalardır.

Alkol bağımlılığı ile ilgili sorumlu aday genlerden bir tanesi de nöropeptit Y (NPY) genidir. Bu gen, merkezi sinir sisteminde yaygın olarak ifade edilen ve kortikal

heyecanlanma, stres yanıtı, gıda alımı, sirkadyan ritimleri ve kardiyovasküler fonksiyonlar dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreci etkileyen bir nöropeptidi kodlar. Alkol tüketiminin *NPY* tarafından düzenlendiği kanıtlarla desteklenmektedir. İnsanda saptanan *NPY* varyasyonları potansiyel olarak alkol tüketimi ve dolayısıyla alkol bağımlılığı riskini artırmaktadır.

Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalar, *NPY* geninde gözlenen rs16139 ve rs16147 polimorfizmlerinin alkol bağımlılığı riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. *NPY* gen polimorfizmleriyle alkol bağımlılığı arasındaki ilişki, farklı popülasyonlarda çalışılmıştır, ancak bugüne kadar ülkemizde böyle bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışma *NPY* geninde rs16139 ve rs16147 polimorfizmlerinin alkolizmle ilişkisini kendi toplumumuzda ortaya koymayı amaçlamaktadır.

Bu çalışmada, Türk popülasyonunu tanımlayan bir örnekleme, *NPY* geninin +1128 T/C pozisyonunda ve *NPY* promotor bölgesinde -485 T/C pozisyonunda yer alan polimorfizmler ile alkol bağımlılığı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada iki çalışma grubu bulunmaktadır. Bunlar, alkol bağımlıları ve kontrol grubudur. Çalışmamızda, bu gruplardaki kişilerden kan örnekleri alınmış ve bu örneklerden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu DNA örneklerinden, belirtilen gen bölgelerindeki SNP lokalizasyonlarını kapsayan ilgili bölgeler PCR ile çoğaltılmış ve çoğaltılan fragmentler, seçilen uygun restriksiyon enzimleriyle kesilerek her bireyin tek nükleotit polimorfizmleri tespit edilmiştir. *NPY* (+1128) T/C polimorfizminde; TT, TG ve GG genotipleri ve alel frekansları incelenmiş ve istatistiksel değerlendirmeler sonucu, kontrol ve alkol bağımlılığı grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p < 0,05$). Gruplar arasında C aleli taşıma oranları, kontrol için %6,8; hasta grubu için %4,23 bulunmuştur. *NPY* (-485) T/C polimorfizminde de; TT, TC ve CC genotipleri ve alel frekansları incelenmiş ve yapılan istatistiksel çalışmada, kontrol ve alkol bağımlılığı grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0,05$). C aleli taşıma oranı kontrol grubunda %49,5; alkol bağımlılığı grubunda ise %51,4 olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: alkol bağımlılığı, genetik polimorfizm, *NPY*, PCR-RFLP

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ASSOCIATION BETWEEN *NPY* GENE POLYMORPHISMS AND ALCOHOLISM

Hayriye Akel

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Erol Aksöz

January 2014, 75 Pages

Alcohol dependence is a chronic, relapsing biochemical disorder that has heterogeneous clinical and etiological features with genetic basis and have a variable course that is frequently characterized by periods of remission and relapse. Alcohol addict consumes alcohol to reduce his physical or psychological distress and finally consumption of alcohol reaches dimension that block patient's physical, mental, social, and economic life.

Although alcohol has been consumed for thousands of years, alcohol related problems have been increasing in our country recently. As a result of new findings on the area of molecular genetics, there is growing interest on the genetic aspects of psychiatric disorders. Genetic aspects of dependence of alcohol, tobacco and other psychoactive substances have recently been studied and important information about the candidate genes is obtained. Understanding the genetic basis of alcohol addiction is crucial to characterize individuals' risk and to develop efficacious prevention and treatment strategies. Recent studies have also begun to focus on the molecular mechanisms and epigenetics of alcohol addiction.

There are a series of factors which may all interact in predisposing or protecting an individual against alcohol abuse, alcoholism and alcohol-related disorders: the availability of alcohol, the price, an individual's socio-cultural, psychological, physiological, and genetic make-up. Genes have long been suspected to play a role in the aetiology of alcoholism. Among the most common strategies employed thus far

to identify hereditary factors in alcoholism are family studies, twin studies, adoption studies and high risk groups.

NPY is one of the candidate genes responsible for alcohol dependence. This gene encodes a neuropeptide that is widely expressed in the central nervous system and influences many physiological processes, including cortical excitability, stress response, food intake, circadian rhythms, and cardiovascular function.

Alcohol consumption is regulated by *NPY* and it is supported by evidence. Human *NPY* variation could potentially increase risk of alcohol dependence. Studies with different populations showed that rs16139 (1128T/C) and rs16147(-485 T/C) (*NPY* polymorphisms) are associated with alcohol dependence.

The relationship between *NPY* gene polymorphisms and alcohol dependence has been studied in different populations, but so far such a study is not available in our country. This study aims to reveal the relationship between *NPY* gene polymorphisms (rs16139, rs16147) and alcohol dependence in Turkish population.

This study included two groups: alcohol dependent people and healthy individuals. Blood samples were taken from groups and genomic DNA was isolated from these samples. Single nucleotide polymorphisms (SNP) were analyzed by PCR (Polymerase Chain Reaction) and RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) methods in DNA samples. For *NPY* +1128T/C polymorphism; TT, TC and CC genotype and allele frequencies were analyzed and the differences in genotype and allele frequencies were not found significant between the groups ($p < 0,05$). Between the groups C allele carriage rates were found 6,8% for control; 4,23% for alcoholic groups. For *NPT* -485 T/C polymorphism; TT, TC and CC genotype and allele frequencies were analyzed and the differences in genotype and allele frequencies were found meaningful between the groups ($p < 0,05$). Between the groups; C allele carriage rates were found 49,5% for control; 51,4% for alcoholic groups.

Keywords: Alcohol dependence, genetic polymorphism, *NPY*, PCR-RFLP.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana değerli bilgilerini ve yardımlarını sunan, bu dönem içerisinde karşılaştığım tüm zorluklar karşısında desteğini ve hoşgörüsünü eksik etmeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Erol Aksöz 'e,

tezimin deneysel çalışmaları aşamasında, bilimsel bilgilerini alçak gönüllülikle benimle paylaşan, bana karşı her türlü konuda sabır gösteren ve tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Arş. Gör. Dr. Çağatay Karaaslan'a,

hastaların bulunmasında emeği geçen, ayrıca kan örneklerinin temin edilmesini sağlayan Hacettepe Üniversitesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü, öğretim görevlilerinden Dr. Şeref Can Gürel'e,

Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı' ndaki tüm değerli hocalarıma ve asistanlara,

istatistiksel hesaplamaların yapılmasında yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi İstatistik Bölümü öğretim üyelerinden, Prof. Dr. Hüseyin Tatlıdil' e,

arkadaşlığı, bilgisi, tecrübesi ile her zaman yanımda olan ve tez çalışmalarımda süresince bana her türlü yardımını karşılıksız sunan çok sevgili Solmaz Mosayyebi' ye ve tez çalışmam süresince, her ihtiyacım olduğunda desteğiyle yanımda olan değerli arkadaşım Nazila Farhangzad'a,

tanıdığım ilk günden beri bana karşı güler yüzünü eksik etmeyen, maddi ve manevi her konuda her zaman yanımda olan, hem laboratuvar hem de sosyal hayatımda eşsiz yeri olan biricik dostum Arş. Gör. Tuğçe Karaduman'a,

bu güne kadar beni her konuda destekleyip, bana güvenerek her zaman yanımda olan çok değerli ve sevgili aileme en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ankara, 2014

HAYRİYE AKEL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Genel Bilgiler	3
1.1.1. Alkol Kullanım Bozuklukları ve Alkol Bağımlılığı	3
1.1.2. Alkol Bağımlılığı Alt Tipleri	4
1.1.3. Alkol Bağımlılığı Epidemiyolojisi	6
1.1.3.1. Dünya Geneline Alkol Bağımlılığı Epidemiyolojisi	6
1.1.3.2. Türkiye'deki Alkol Bağımlılığı Epidemiyolojisi	8
1.1.4. Alkol Tüketimi ve Hastalıklarla İlişkisi	10
1.1.5. Alkol Bağımlılığı Etiyolojisi	11
1.1.5.1. Psikososyal Faktörler	12
1.1.5.2. Biyolojik Faktörler	12
1.1.5.3. Genetik Faktörler	13
1.1.5.3.1 Aile Çalışmaları.....	14

1.1.5.3.2.Evlat Edinme Çalışmaları	14
1.1.5.3.3 İkiz Çalışmaları	15
1.1.6. Alkol Metabolizması Ve İlişkili Genetik Özellikler	16
1.1.6.1 Etanol Metabolizması	16
1.1.6.2. Alkol Bağımlılığı Gelişmesinde Rol Oynayan Enzim ve Nörotransmitter Sistemler ve İlişkili Genetik Özellikler	19
1.1.7.Nöropeptid Y Geni (<i>NPY</i>) ve Alkol Bağımlılığı	21
1.1.7.1. <i>NPY</i> ve ilişkili proteinler	21
1.1.7.2. <i>NPY</i> Yapısı	23
1.1.7.3. Nöropeptid Y Reseptörleri	24
1.1.7.4. Nöropeptid Y' nin Çeşitli Psikiyatrik ve Fiziksel Süreçlerle İlişkisi	25
1.1.7.4.1. Depresyon ve Anksiyete	25
1.1.7.4.2. Yeme Davranışı	26
1.1.7.4.3 Koroner Arter Hastalıkları	26
1.1.8. <i>NPY</i> ve Alkol Bağımlılığı	26
1.1.8.1. <i>NPY</i> Geni ve Alkol Bağımlılığı ile İlişkili Polimorfizmler	29
1.1.8.1.1. Prepro- <i>NPY</i> 'nin Sinyal Peptidini Etkileyen Fonksiyonel Polimorfizm: rs16139(+1128 T/C)	30
1.1.8.1.2. <i>NPY</i> Geni Promotor Bölge Fonksiyonel Polimorfizm: rs16147(-485 T/C) ..	32
2. MATERYAL VE METOT	34
2.1. Klinik Çalışmalar	34
2.1.1 Hasta ve Kontrollerin Alkol Bağımlılığı Açısından Değerlendirilmesi	34
2.1.2. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi	35
2.2. Laboratuvar Çalışmaları	35
2.2.1. Kandan Genomik DNA İzolasyonu	35
2.2.2. İzole Edilen Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Kontrol Edilmesi ..	36

2.2.3 Örneklerin Agaroz Jele Yüklenmesi ve Yürütülmesi	37
2.2.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu	38
2.2.4.1. <i>NPY</i> rs16139 (1128 T/C) (Leu7pro) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması	38
2.2.4.2. <i>NPY</i> rs16147 (-485 T/C) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması.....	40
2.2.5. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle Kontrolü	41
2.2.6. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	41
2.2.6.1. <i>NPY</i> (1128 T/C) Polimorfizminin Belirlenmesi için PCR Ürünlerinin <i>BsrI</i> Restriksiyon Enzimi ile Kesimi	43
2.2.6.2. <i>NPY</i> (-485 T/C) Polimorfizminin Belirlenmesi için PCR Ürünlerinin <i>CviK-I</i> Restriksiyon Enzimi ile Kesimi	43
2.2.7. Otomatik DNA Dizi Analizi	44
2.2.7.1. PZR Ürünlerinin Temizlenmesi	44
2.2.7.2 İşaretleme Reaksiyonu	45
2.2.8. İstatistiksel Analizler	46
3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	47
3.1.PZR Sonuçları	47
3.1.1. <i>NPY</i> rs16139 (+1128 T/C) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları	47
3.1.2. <i>NPY</i> rs16147 (-485 T/C) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları	47
3.2. RFLP Sonuçları	48
3.2.1 <i>NPY</i> rs16139 (+1128 T/C) Gen Bölgesinin <i>BsrI</i> Kesimi Sonuçları.....	48
3.2.2 <i>NPY</i> rs16147 (-485 T/C) Gen Bölgesinin <i>CviK-I</i> Kesimi Sonuçları	50
3.3.DNA Dizi Analizi Sonuçları	51
3.3.1. <i>NPY</i> rs16139 (+1128 T/C) Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi Sonuçları	51

3.3.2. <i>NPY</i> rs16147(-485 T/C) Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi Sonuçları.....	52
3.4. Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	54
3.5. Tartışma	59
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

AC	Adenilat Siklaz
ADH	Alkol Dehidrogenaz
ALDH	Aldehit Dehidrogenaz
AMATEM	Alkol ve Madde Bağımlılığı Tedavi ve Eğitim Merkezi
APA	Amerikan Psikiyatri Birliği
bç	Baz çifti
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
C	Sitozin
CIDI	Uluslararası Bileşik Tanı Görüşmesi
ddNTP	Dideoksinükleotid trifosfat
DİE	Devlet İstatistik Enstitüsü
dl	Desilitre
DRD2	Dopamin Reseptör D2
DSM-IV	Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı-4
DZ	Dizigot
ECA	Epidemiyolojik Yakalama Alanı Çalışması
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EtBr	Etidyum Bromür
F	İleri primer (forward primer)
GABRA2	<i>Gamma</i> -aminobütirik asit reseptör alfa-2
GPCR	G proteinle eşleşmiş reseptör
HPA	Hipotalamo-pitüiter-adrenal
i.c.v.	İntraserebroventriküler
i.p.	İntraperitoneal
Kb	Kilobaz
Leu	Lösin
MAO	Monoamino oksidaz
MATT	Michigan Alkol Tarama Testi
MDD	Major Depresif Bozukluk
NaCl	Sodyum klorür
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NCS	Ulusal Eşitlik Anketi

NPY	Nöropeptit Y
NMDA	N-metil-D Aspartat
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MZ	Monozigot
Pro	Prolin
R	Geri primer (revers primer)
rpm	Dakika başına devir sayısı
SDS	Sodyumdodesilsülfat
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
T	Timin
TBE	Tris-Borat-EDTA
PPY	Pankreatik Peptit Y
PP	Pankeatik Polipeptit
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
QTL	Kantitatif Özellik Lokusu
RFLP	Kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
U	Ünite
UV	Ultraviyole
V	Volt
Y	Tirozin
χ^2	Ki kare testi sonucunda elde edilen ki kare değeri
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. 15 yaş üstü yetişkinlerde kişi başına düşen alkol tüketimi	7
Şekil 1.2. Cinsiyete göre alkol kullanım bozuklukları yüzdesi, Dünya Sağlık Örgütü Bölgeleri, 2004.....	8
Şekil 1.3. Türkiye 15 yaş üstü kişi başı alkol tüketimi, 2000-2005.....	9
Şekil 1.4. Alkolden kaynaklanan hastalık ve yaralanmalar nedeniyle ölüm yüzdeleri	10
Şekil 1.5. Etanol ve asetaldehit' in hepatositlerdeki metabolizması	18
Şekil 1.6. Alkol metabolizması	20
Şekil 1.7. Alkol bağımlılığı ile ilişkilendirilmiş aday genlerin kromozom üzerindeki yerleşimleri	21
Şekil 1.8. NPY, PPY ve PP proteinlerinin amino asit dizilerinin karşılaştırılması	22
Şekil 1.9. NPY, PPY ve PP aminoasit dizisi ve insan PYY proteinin molekül modeli.....	22
Şekil 1.10. Beyin NPY yolları.....	23
Şekil 1.11 Nöropeptit Y (NPY) yapısı	24
Şekil 1.12. . NPY proteinin sentezlenmesi ve işlenmesi.....	29
Şekil 1.13. İnsan <i>NPY</i> genini şematik gösterimi ve rs16139 polimorfizmi yerleşimi	31
Şekil 1.14. Farklı popülasyonlarda <i>NPY</i> Leu7Pro polimorfizmi Pro7 alel sıklığı32	
Şekil 1.15. İnsan <i>NPY</i> genini şematik gösterimi ve rs16147 polimorfizmi yerleşimi	33
Şekil 2.1. <i>NPY</i> gen dizisi üzerinde ileri-geri primerlerin ve çoğaltılan 258 bç'lik bölgenin gösterimi	40
Şekil 2.2. <i>NPY</i> gen dizisi üzerinde ileri-geri primerlerin ve çoğaltılan 214 bç'lik bölgenin gösterimi	41

Şekil 3.1. <i>NPY</i> geninin 2. ekzonuna ait + 1288. pozisyonundaki polimorfizmi (T/C) içeren 258 bç'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jelde görüntülenmesi.....	47
Şekil 3.2. <i>NPY</i> geninin promotor bölgesine ait -485. pozisyonundaki polimorfizmi (T/C) içeren 214 bç'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jelde görüntülenmesi.....	48
Şekil 3.3. <i>NPY</i> (+1128) polimorfizmi <i>BsrI</i> kesim sonuçlarının şematik gösterimi	48
Şekil 3.4. <i>NPY</i> geninin (+1128 T/C) bölgesinin <i>BsrI</i> enzimi ile kesimi sonucu hastalardan elde edilen RFLP ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.....	49
Şekil 3.5. <i>NPY</i> geninin (+1128 T/C) bölgesinin <i>BsrI</i> enzimi ile kesimi sonucu kontrol grubundan elde edilen RFLP ürünlerinin jelde görüntülenmesi.....	49
Şekil 3.6. <i>NPY</i> (-485) polimorfizmi <i>CviK-I</i> kesim sonuçlarının şematik gösterimi	50
Şekil 3.7. <i>NPY</i> geninin (-485 T/C) bölgesinin <i>CviK-I</i> enzimi ile kesimi sonucu hastalardan (1-5) ve kontrol grubundan (6-10) elde edilen RFLP ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.....	51
Şekil 3.8. <i>NPY</i> geni 1128. Pozisyonda C aleli taşıyan hastaya ait DNA dizi analizi kromatogramı	51
Şekil 3.9. <i>NPY</i> geni 1128. Pozisyonda T aleli taşıyan kontrole ait DNA dizi analizi kromatogramı	52
Şekil 3.10. <i>NPY</i> geni 1128. Pozisyonda T/C aleli taşıyan kontrole ait DNA dizi analizi kromatogramı.....	52
Şekil 3.11. <i>NPY</i> geni -485. Pozisyonda C aleli taşıyan hastaya ait DNA dizi analizi kromatogramı	53
Şekil 3.12. <i>NPY</i> geni -485. Pozisyonda T aleli taşıyan hastaya ait DNA dizi analizi kromatogramı.....	53
Şekil 3.13. <i>NPY</i> geni -485. Pozisyonda T/C aleli taşıyan hastaya ait DNA dizi analizi kromatogram.....	53

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Alkolün organlara olan etkileri	11
Tablo 1.2. <i>NPY</i> , alkol tüketimi ve sedasyon	28
Tablo 2.1. Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler.....	36
Tablo 2.2. 10X TBE Tamponu ve DNA yükleme tamponu hazırlanması.....	37
Tablo 2.3. <i>NPY</i> geninin (1128 T/C) polimorfik bölgesinin uygun primer dizisi..	38
Tablo 2.4. Optimize Edilen PZR Reaksiyonu Bileşenleri.....	39
Tablo 2.5. Optimize edilen PZR Döngü Koşulları.....	39
Tablo 2.6. <i>NPY</i> geninin (-485 T/C) polimorfik bölgesinin uygun primer dizisi...	40
Tablo 2.7. Restriksiyon enzimleri ve özellikleri.....	42
Tablo 2.8. RFLP Reaksiyon Bileşenleri ve Miktarları	42
Tablo 3.1. <i>NPY</i> geni polimorfizmlerine ait hasta ve kontrol gruplarının genotip ve alel frekansları dağılımı.....	55
Tablo 3.2. rs16139 polimorfizmi genotip frekans değerlerinin alkole başlama yaşı ve ortalama alkol tüketimi açısından dağılımı	56
Tablo 3.3. rs16139 polimorfizmi genotip frekansına göre aile hikayesinin dağılımı	57
Tablo 3.4. rs16147 polimorfizmi genotip frekans değerlerinin alkole başlama yaşı ve ortalama alkol tüketimi açısından dağılımı	58
Tablo 3.5. rs16147 polimorfizmi genotip frekans değerlerine göre aile hikayesinin dağılımı.....	58

1.GİRİŞ

Alkol bağımlılığı, alkol içmenin alışkanlık ve sorunlu hale geldiği, kontrol edilemeyen bir şekilde aşırı alkol tüketme ile ilgili davranışsal bir bozukluktur. En güvenilir tanımlama özelliği, alkol içme durdurulduğunda ya da azaltıldığında ortaya çıkan yoksunluk belirtileridir [1]. Alkol bağımlılığının gelişmesi, tekrar eden aşırı içme, yoksunluk ve içmeyi arzulama ile dürtüsel ve kompülsif alkol alımı ile ilerler [2].

Alkolizm heterojen bir hastalıktır. Alkol sorunu olan hastalar demografik özelliklere, gelişen tıbbi sorunlara, alkol bağımlılığının şiddetine, kişilik özelliklerine, ailede alkolizm öyküsünün varlığına ve eşlik eden başlıca psikiyatrik hastalığa göre çeşitli alt gruplara ayrılmaktadır [3]. Alkoliklerin çeşitli alt gruplara ayrılması, uygun tedavi yöntemlerinin oluşturulmasını sağlayacak ve böylece hastalığın prognozunu etkileyecektir. Alkol bağımlılığının alt tiplere ayrımında, ailede alkol öyküsünün bulunup bulunmadığının önemli olduğu belirtilmiştir. Aile öyküsü bulunan hastaların alkole daha erken yaşta başladığı ve hastalığın daha kötü gidişata sahip olduğu bildirilmektedir [4].

Cloninger ve ark.'ları, alkol bağımlılığı ya da kötüye kullanımını tip I (geç başlangıçlı) ve tip II (erken başlangıçlı) olarak ikiye ayırmıştır [5]. Tip I, alkol kullanımı ile ilgili sorunların ileri yaşlarda başladığı, içmesini kontrol edemeyen, tıkanırmasına içme dönemlerinin olduğu, kendini suçlama eğilimlerinin daha çok görüldüğü, kendini yaralayıcı davranışların yanı sıra şizotipal ve borderline kişilik bozukluklarının sıklıkla birlikte görüldüğü bir klinik alt tiptir. Bu hastalarda karaciğer hasarı daha sık görülmektedir. Etiyolojisinde çevresel etmenlerin yanı sıra genetik faktörler de rol oynar. Tip II ise erken yaşta alkole başlayan, anti- sosyal davranışların yanı sıra yasal sorunların daha sık görüldüğü, başka madde bağımlılığının da birlikte olabildiği klinik alt tiptir. Erken başlangıçlı alkolizmin daha çok erkeklerde görüldüğü belirtilmektedir. Etiyolojisinde monoaminoksidaz (MAO) aktivitesinde azalma söz konusudur. Ailede alkolizm öyküsü vardır [3].

Günümüzde, alkol en fazla kullanılan psikoaktif madde olup, pek çok toplumda günlük yaşamın bir parçası haline gelmiştir. Ancak tüm dünyada son yıllarda hızla artan alkol tüketimi ve alkolizm önemli sosyal ve medikal sorunlara neden olmaktadır [6]. Alkolün kötüye kullanımı, bireysel ve sosyal gelişimi tehlikeye sokan, sakatlık, sağlık kaybı ve milyonlarca ölüme neden olan dünya genelinde bir problemdir [7,8].

Bağımlılığın gelişmesinde genetik yatkınlık, sosyal çevre, stres, ruh sağlığı, hastanın yaşı ve cinsiyeti önemli risk faktörlerindedir [8]. Özellikle, genetik risk faktörleri, alkol etiolojisinde önemli rol oynamaktadır. Kalıtım ile ilgili risk oranının, aile ve ikiz çalışmalarına göre %40 ile % 60 arasında olduğu tahmin edilmektedir [9]. Bağımlılığın nesilden nesile aktarıldığı gözlemi, bağımlılığın gelişmesinde hangi genlerin sorumlu olabileceğine dikkat çekmiştir. Belli bir fenotipin (psikiyatrik hastalığın) kalıtımını etkileyen genleri belirlemeyi ve genin neden anormal işlediğini saptamayı amaçlayan moleküler genetik çalışmalarla aday genler belirlenmeye çalışılmıştır [10]. Alkol bağımlılığı ile ilişkilendirilmiş ilk aday gen *DRD2*'dir [11]. Yapılan çalışmalar sonucu alkol bağımlılığı ile ilişkilendirilmiş birçok bölge ve *GABRA2*, *ADH*, *ALDH*, *CHRM2*, *OPRM1*, *NPY* ve *SLC10A2* gibi aday genler tanımlanmıştır [12].

Alkol bağımlılığı ile ilgili sorumlu aday genlerden bir tanesi de nöropeptit Y(*NPY*) genidir [13]. Bu gen, merkezi sinir sisteminde yaygın olarak ifade edilen ve kortikal uyarılma, stres yanıtı, gıda alımı, sirkadyan ritimleri ve kardiyovasküler fonksiyonlar dâhil olmak üzere birçok fizyolojik süreci etkileyen bir nöropeptidi kodlar. *NPY*, beyin dokusunda yoğun olarak bulunan peptid olarak ilk defa 1982 yılında domuz beyinde Tatemoto ve Mutt tarafından keşfedilmiştir [14].

Kantitatif özellik lokusları, linkaj haritalama çalışmaları, transgenik çalışmalar ve mutant farelerle yapılan çalışmalar *NPY*'nin alkol tüketimine olan etkisinin önemine dikkat çekmiştir ve bu çalışmalar sonucunda prepro-*NPY* genindeki genetik varyasyonların alkol bağımlılığı kalıtımında rol oynayabileceği düşünülmektedir [15]. Çeşitli populasyonlarda yapılan çalışmalar, *NPY* geninde gözlenen rs16139 ve rs16147 polimorfizmlerinin alkol bağımlılığı riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir [16, 17,18].

Alkol bağımlılığı büyük toplumsal etkileri olan kronik, yineleyici bir hastalıktır. Kişilerin sahip oldukları bireysel bağımlılık risklerini saptamak, etkili tedavi ve önleme programları geliştirmek için alkol bağımlılığının genetik temellerini anlamak gereklidir. *NPY* polimorfizmleri ve alkol bağımlılığı arasındaki ilişki, farklı populasyonlarda çalışılmıştır, ancak bugüne kadar ülkemize ait bir örneklem üzerinde yürütülen böyle bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışma ile *NPY* geninde rs16139 ve rs16147 polimorfizmlerinin, alkol bağımlılığı ve alt tipleri ile ilişkisi, Türkiye kökenli bir örneklemde ilk defa araştırılacaktır.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye kökenli bir örnekleme, *NPY* geninin +1128. pozisyonunda yer alan rs16139 ve promotor bölgesinde -485. pozisyonda yer alan rs16147 polimorfizmleri ile alkol bağımlılığı arasındaki ilişkiyi PZR-RFLP ve DNA dizileme tekniği kullanarak araştırmak ve bu polimorfizmlerin Türk popülasyonundaki genotip ve alel frekanslarını tanımlamaktır. Ayrıca, incelenecek tek nükleotid polimorfizmleri daha yüksek anksiyete düzeyleri görülen tip 1 ve tip 2 alkol bağımlıları ile karşılaştırılarak frekansları hesaplanacaktır.

1.1.Genel Bilgiler

1.1.1. Alkol Kullanım Bozuklukları ve Alkol Bağımlılığı

Alkol kullanım bozuklukları hem yetişkinleri hem de gençleri etkileyen, içme ve içmeme dönemleri gösteren, hastanın içme durumunun hastaya sıkıntı ve zarar vermesi halinde doktorlar tarafından teşhis edilebilen oldukça ciddi ve önemli bir sağlık sorunudur [19,20]. Alkol kullanım bozuklukları depresif dönemler, şiddetli anksiyete, uykusuzluk, intihar ve diğer ilaçların kötüye kullanımı ile de ilişkilendirilmiştir [21]. Amerikan Psikiyatri Birliği (APA), alkol ile ilişkili bozuklukları alkol kötüye kullanımı ve alkol bağımlılığı olmak üzere iki şekilde sınıflandırmaktadır.

12 aylık dönemde aşağıdakilerden bir veya daha fazlasının önemli ölçüde var olması alkol kötüye kullanımı tanısını koydurur:

- a. Alkol kullanımı nedeniyle iş, okul ve ev içindeki görevlerin aksaması,
- b. Alkol etkisi altında araba veya makine kullanma,
- c. Alkol kullanımı ile ilişkili yasal problemler yaşama,
- d. Tekrarlayan ve artan sosyal ve kişiler arası sorunlara rağmen alkol kullanmaya devam etme [19].

Alkol bağımlılığı ise ortaya çıkan olumsuz sonuçlara rağmen, bireyin alkol alımı üzerindeki kontrolünün kaybı, bu nedenle bozulan sosyal ve mesleki işlevsellik ile karakterize, kronik seyir gösteren bir bozukluktur [22].

12 aylık dönemde aşağıdaki belirtilerden 3 veya daha fazlasının var olması bu tanıyı koydurur:

- a. İçilen alkol miktarının öncesine göre belirgin ölçüde artış göstermesi veya içilen miktarla istenilen ölçüde etki sağlayamama: Bu durum alkol toleransının artması anlamına gelmektedir.
- b. Alkol alınmadığı ilk zamanlarda yoksunluk belirtileri yaşama: Genellikle alkol alınmayan ilk günlerde; terleme, titreme, sıkıntı, bulantı, uykusuzluk, çarpıntı, tansiyon yükselmesi gibi bazı fiziksel belirtiler yaşanır. Bu belirtiler ilk zamanlarda 2-3 gün içinde ortadan kaybolur veya azalarak 1-2 hafta devam edebilir. Zaman ilerledikçe, yani bağımlılık şiddeti arttıkça bu belirtiler yaşamı tehdit eden, ölüme giden hastalıklarla sonuçlanabilir.
- c. Alkolün niyetlenildiğinden fazla miktar ve sürelerde kullanılması.
- d. Alkol içmeyi kontrol etme veya kesmede başarısızlık.
- e. Alkol elde etmek için aşırı zaman harcama.
- f. Alkol kullanımı nedeniyle sosyal ilişkilerde, iş yaşantısında, üretici faaliyetlerde azalma veya bu alanlardan tamamen kopma.
- g. Alkol kullanımı nedeniyle artan veya tekrarlayan fiziksel ve psikolojik sorunların varlığının bilinmesine karşın alkol kullanmaya devam etme [19].

1.1.2. Alkol Bağımlılığı Alt Tipleri

Cloninger ve arkadaşları, İsveç'te yürütülen evlat edinme çalışmaları üzerinde yaptıkları analizler sonucunda, alkol bağımlısı bireylerin kişilik özelliklerine dayanan bağımlılığı tip I ve tip II olarak iki grupta sınıflandıran bir teori öne sürmüşlerdir [5]. İlk grup olan tip 1 alkoliklerin, alkol kötüye kullanımı hafif veya şiddetli olabilir. Bu gruptaki hastaların biyolojik ebeveynleri alkol yüzünden önemli bir sorun yaşamamışlardır. Bu kişilerin evlatlık verildikleri ailedeki sosyoekonomik düzeyin, söz konusu bireylerdeki alkol kullanımının şiddetini etkilediği gösterilmiştir. İkinci grup olan tip 2 alkolikler ise, daha yoğun alkol kullanıcılarıdır. Biyolojik babalarında çoğunlukla alkol kullanım sorunları bulunmaktadır ve babalarının şiddet içeren olaylara daha çok katıldıkları gösterilmiştir. Bu hastalarda evlatlık alınan ortam, alkolizm şiddetini etkilemekte, ancak alkolizm görülme sıklığını etkilememektedir. Ailesel öykünün alkolizm gelişimine yatkınlığı artırdığı ve tip 2 alkolizmin erkeklere

özgü olduğu, tip 1 alkolizmin ise hem erkekler hem de kadınlarda görülebileceği ileri sürülmüştür [23].

Takip eden çalışmalarda alt tipler arasında özellikle alkole başlama yaşı, alkol alma biçimi ve alkol alımının neden olduğu sonuçlar açısından farklılık olduğu gösterilmiştir. Tip 1 alkol bağımlıları alkole daha geç başlamakta, alkolden daha uzun süre uzak kalabilmekte, ancak hızlı bir biçimde alkol alım miktarını artırılabilmektedirler. Tip 2 alkol bağımlıları ise ergenlik veya erken erişkinlikte alkole başlamaktadırlar. Bu grup alkol alımıyla şiddet içeren olaylar içinde yer alabilmekte, sosyal ya da hukuki sorunları daha çok yaşamaktadırlar. Ayrıca tip 2 alkol bağımlılarının alkol alım örüntülerinde zamanla belirgin bir değişme görülmemektedir [24].

Alkol bağımlılığı araştırmalarında kullanılan bir diğer sınıflandırma, Cloninger'in sınıflandırması gibi çoklu değişkenlere dayanan Babor'un A ve B tipi alkol bağımlılığı sınıflandırmasıdır [25]. Bu sınıflandırmada risk faktörleri seyir, sonlanım, madde kullanımı ile ilişkili değişkenler araştırılmıştır. Aile öyküsünün varlığı, daha erken yaşta sorunlu kullanımın başlaması, erken dönemde davranış bozukluğu gibi risk faktörlerinin bir grupta toplandığı saptanmıştır (B tipi). Diğer grupta ise A tipi alkol kullanıcılarının alkolü bir kendini tedavi biçimi şeklinde, sakinleştirici olarak kullandıkları görülmüştür. A tipi alkol bağımlılarında alkol kullanımına bağlı tıbbi ve sosyal yan etkiler daha şiddetli düzeylerde ortaya çıkmaktadır. A tipi alkol bağımlılığı erkek ve kadınlarda benzer oranlarda görülürken, B tipi alkol bağımlılığı daha çok erkeklerde görülmektedir [26].

Tip 1-2 ve A-B tipi sınıflandırmaları farklı yöntemlerle yapılmış olsalar da benzer özellikler taşımakta ve karşılaştırıldıkları örneklerde örtüşme görülmektedir [27]. Sınıflandırma sistemleri arasındaki örtüşmeleri inceleyen çalışmalarda hasta gruplarını en iyi ayıran özelliklerin antisosyal kişilik bozukluğu ek tanısı, farklı madde kullanımı ve alkole başlama yaşı olduğu görülmüştür. Bu bulguları destekler biçimde Von Knorring ve arkadaşları yalnız sorunlu alkol kullanımının başlangıç yaşını esas alarak hastaları sınıflandırdıklarında, 25 yaşından önce sorunlu alkol kullanımı başlayan grupta "saldırganlık" kişilik özelliğinin ve şiddet içeren davranışların daha sık görüldüğünü saptamışlardır [28]. Erken başlangıçlı gruptaki bireyler, geç başlangıçlı gruptaki bireylere göre daha dışa-dönük olup, bu bireylerin dürtüsellik ve

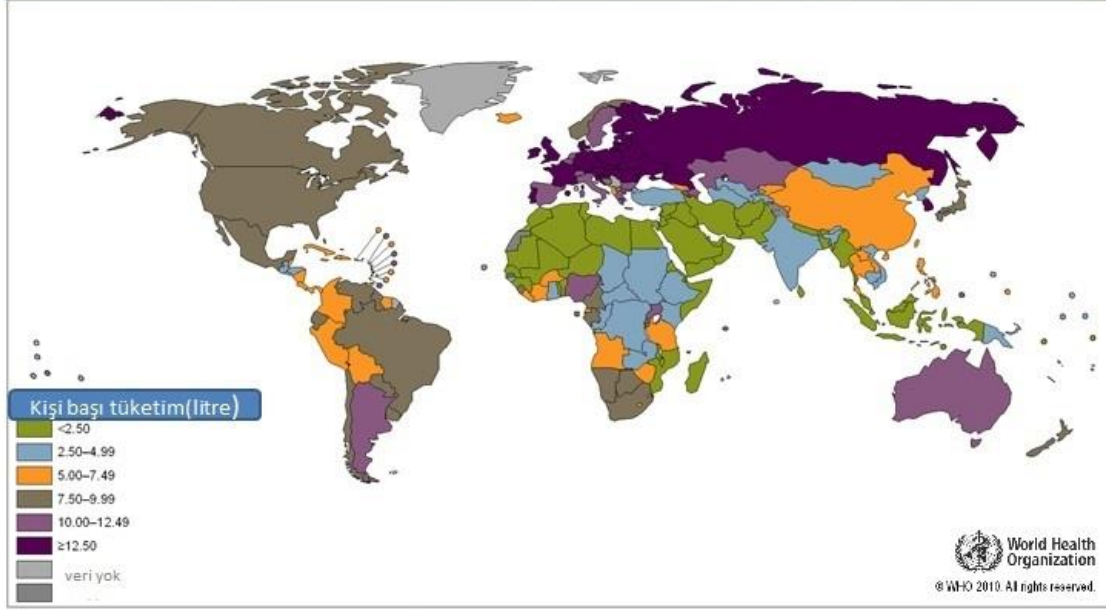
heyecan arama davranışı puanları daha yüksektir. Ağır alkol alımının esas alındığı bir diğer çalışmada, tip 1-2 ve tip A-B sınıflandırmalarında da önerildiği gibi, erken başlangıçlı grupta geç başlangıçlı gruba göre aile hikâyesinin daha sık ve antisosyal özelliklerin daha fazla olduğu görülmüştür [29]. Bu grupta depresyon ve intihar girişimlerinin oranı da daha yüksek bulunmuştur. Erken-geç başlangıç ayırımı için kullanılan yaş sınırı değişkenlik göstermekle beraber erken başlangıç için 20'den 30 yaşına kadar değişik kesme noktalarını sınır kabul eden çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin erken başlangıç için 25 yaşından önce alkolle ilgili sorunlar yaşamayı ölçüt kabul eden bir çalışmada alkolden arınma için başvuran 196 erkek, 72 kadın incelenmiştir. Geç başlangıç grubundaki bireylerde genetik öykünün, ortalama alkol alımı üzerine etkisinin daha az olduğu belirlenmiştir. Erken başlangıçlı grupta ise, psikiyatrik ek tanı görülme oranı daha yüksektir ve alkolle ilişkili fiziksel ve psikososyal yan etkiler daha çok gelişmiştir. Geç başlangıç grubundaki bireylerin prognozunun daha iyi olduğu görülmüştür [30].

1.1.3. Alkol Bağımlılığı Epidemiyolojisi

1.1.3.1. Dünya Genelinde Alkol Bağımlılığı Epidemiyolojisi

Alkol kullanımı ve buna bağlı sorunlar son yıllarda önemli artış göstermiştir. Dünya genelinde alkollü içkilerin üretiminde büyük artış olmuştur. Bu artış özellikle gelişmekte olan ülkelerde belirgindir [31]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 35 Avrupa Ülkesindeki Alkol ve Sağlık Durumu Raporu (2013)' na göre, Avrupa birliği ülkelerinde (Hırvatistan da dâhil) 15 yaş üstü yetişkinlerde yıllık alkol tüketimi 10.2 litredir. Norveç, İsviçre ve aday ülkeler dâhil edildiğinde, bu rakam kişi başına 9.4 litre olmaktadır [32]. Dünya Sağlık Örgütü' nün Avrupa Bölge Ofisi, Avrupa ülkelerinin en yoğun alkol kullanım ortalamalarına sahip olduğunu ve Avrupa ortalamasının dünya ortalamasının yaklaşık olarak iki katı olduğunu bildirmektedir [33]. [Şekil1.1]

15 Yaş üstü yetişkinlerde kişi başına düşen alkol tüketimi(litre),2005

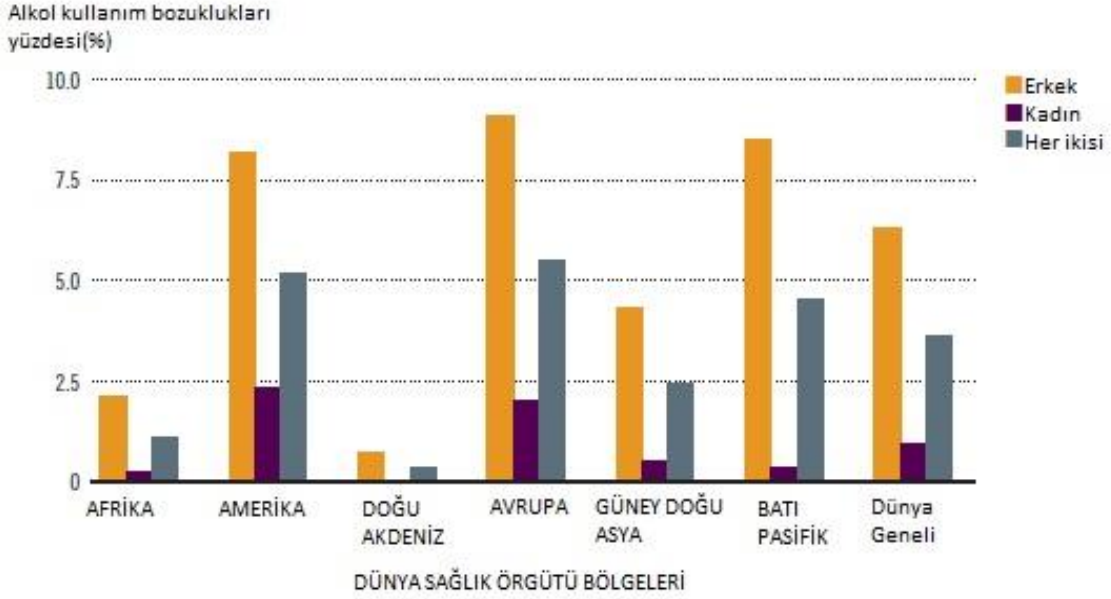


Şekil 1.1. 15 yaş üstü yetişkinlerde kişi başına düşen alkol tüketimi [34]

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1980-1984 yılları arasında yürütülen *Epidemiologic Catchment Area (ECA)* çalışmasında alkol kullanımı ile ilişkili bozuklukların yaşam boyu yaygınlığının, erkekler için % 23.8, kadınlar için % 4.7 olduğu bildirilmiş, bir yıllık yaygınlık ise erkekler için % 11.9, kadınlar için %2,2 olarak saptanmıştır [35]. Yine ABD'de yürütülen *National Comorbidity Survey (NCS)* çalışmasında alkol kullanımı ile ilişkili bozuklukların yaşam boyu yaygınlığı erkeklerde % 20.1, kadınlarda % 8.7 bulunmuştur [36]. 1991-1992 yılları arasında, alkol kötüye kullanımı ve bağımlılığının, DSM-IV kriterleri kullanılarak araştırıldığı 42,862 kişilik örnekleme sahip olan *National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey* çalışmasında yaşam boyu alkol bağımlılığı yaygınlığı erkeklerde % 18.55, kadınlarda % 8.43 olarak saptanmıştır [37]. NLAES'in verileri ile karşılaştırıldığında, 2001-2002 yılları arasında yürütülen *National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions* araştırmasında alkol kötüye kullanımının insidansının % 3.03'ten % 4.65'e yükseldiği, bağımlılığın ise % 4.38'den % 3.81'e gerilediği görülmüştür [38].

Diğer batı ülkelerinde erişkinlerde yapılan çalışmalara göre alkol bağımlılığı yaygınlığı İngiltere'de % 3, İskoçya'da % 15, Fransa'da % 4 düzeyinde saptanmıştır. İrlandalılar arasında hiç alkol kullanmayanların oranı yüksek iken, alkol ile ilişkili sorunları en sık

yaşayan toplumlardan biri olarak İrlanda'lılar ön plana çıkmaktadır. Amerikan yerlileri ve Eskimolarda da alkol ile bağlantılı sorunlar yaygındır. Müslüman, Yahudi, muhafazakâr Protestanlar, Hindu ve Baptist'lerde tüketim daha azken, genel olarak kentlerde kırsal kesimlere göre alkol tüketim miktarı ve ilişkili sorunlar daha fazladır [19, 39][Şekil1.2.]

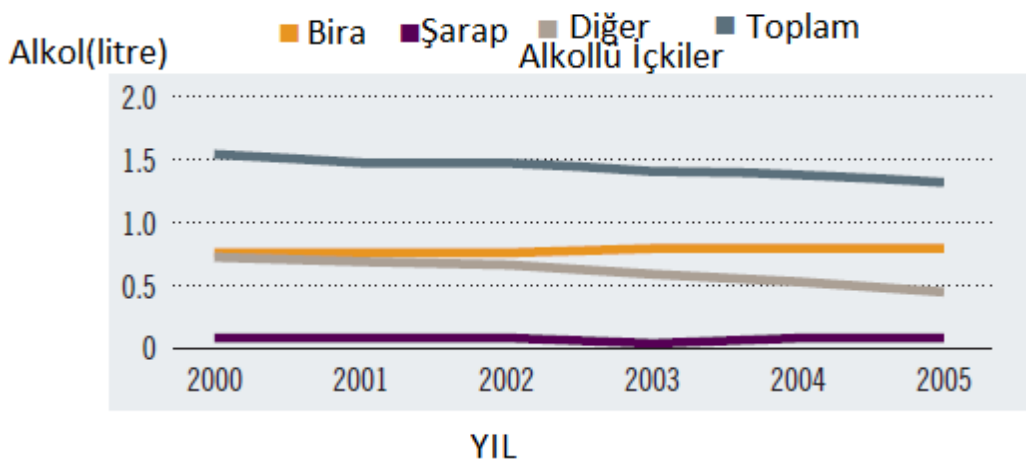


Şekil 1.2. Cinsiyete göre alkol kullanım bozuklukları yüzdesi, Dünya Sağlık Örgütü Bölgeleri, 2004 [34]

1.1.3.2. Türkiye'deki Alkol Bağımlılığı Epidemiyolojisi

Türkiye'de alkol kullanımı ve ilişkili ruhsal bozukluklarla ilgili epidemiyolojik veriler sınırlıdır. Türkiye'de alkol bağımlılığının yaygınlığına ilişkin, ergen ve erişkinlere yönelik ve psikiyatrik tanı kriterleri veya ölçeklerinin kullanıldığı yeterli sayıda çalışma olduğu söylenememekle birlikte, son yıllarda sürekli artan alkol tüketimi ve ortaya çıkan alkolle ilişkili sorunlar nedeniyle alkol kullanımı, Türkiye için de önemli bir problem teşkil eder hale gelmektedir. Ülkemizde alkol bağımlılığının sıklığının diğer birçok ülkeden daha düşük olduğu tahmin edilmekle birlikte, kişi başına alkol kullanımı oranı 1960'lı yıllardan itibaren giderek artış göstermektedir [31].

Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) verilerine göre 1982 yılında yıllık 400 milyon litre olan tüketim 1992 yılında 600 milyon litreye ulaşmış, 2008 yılında Türkiye genelinde erkeklerin % 18.8' inin ve kadınların % 3.4' ünün alkollü içecek tükettiği saptanmıştır [40]. Alkol kullanım yaygınlığı öğretmenlerde % 12, psikiyatri ve pediatri dışı servislerde yatan hasta grubunda % 16.7 [41], esnaflar arasında % 61.6 [42], işçiler arasında ise % 16 [43] olarak bildirilmiştir. Türkcan ve arkadaşları İstanbul'un genelini temsil eden bir örnekleme % 25.6 oranında alkol kullanımını olduğunu saptamışlardır [44]. Örneğin Alkol ve Madde Bağımlılığı Tedavi ve Eğitim Merkezleri'ne (AMATEM) başvurular 1991-1995 yılları arasında 3455'ten 4653'e yükselmiştir [45]. Toplum bazlı çalışmalara örnek olarak Ankara'da bir sağlık merkezi sahasında 2238 kişi ile görüşülmüş; alkol kullanımı ve olası alkol bağımlılığı prevalansları sırasıyla % 14.1 ve % 1 olarak saptanmıştır [46]. Türkiye Ruh Sağlığı Profili adlı projede Türkiye'nin beş farklı bölgesinden, 18-65 yaşları arasında ve % 45.1' i erkek, % 54.9'u kadın olan 7479 kişi değerlendirilmiş, alkol bağımlılığı prevalansı % 0.8 olarak saptanmıştır [47]. 1997 yılında Erzurum'da Atatürk Üniversitesi'ne bağlı tüm fakültelerde öğrenim görmekte olan öğrencileri temsil eden ve 350 üniversite öğrencisinden oluşan örnekleme CIDI (Uluslararası Bileşik Tanı Görüşmesi) kullanılarak yapılan bir araştırmada, alkol kötüye kullanım ve bağımlılığının yaşam boyu görülme oranı % 3.1 ve son 12 ay için oranı ise % 0.9 bulunmuştur [48] [Şekil1.3].

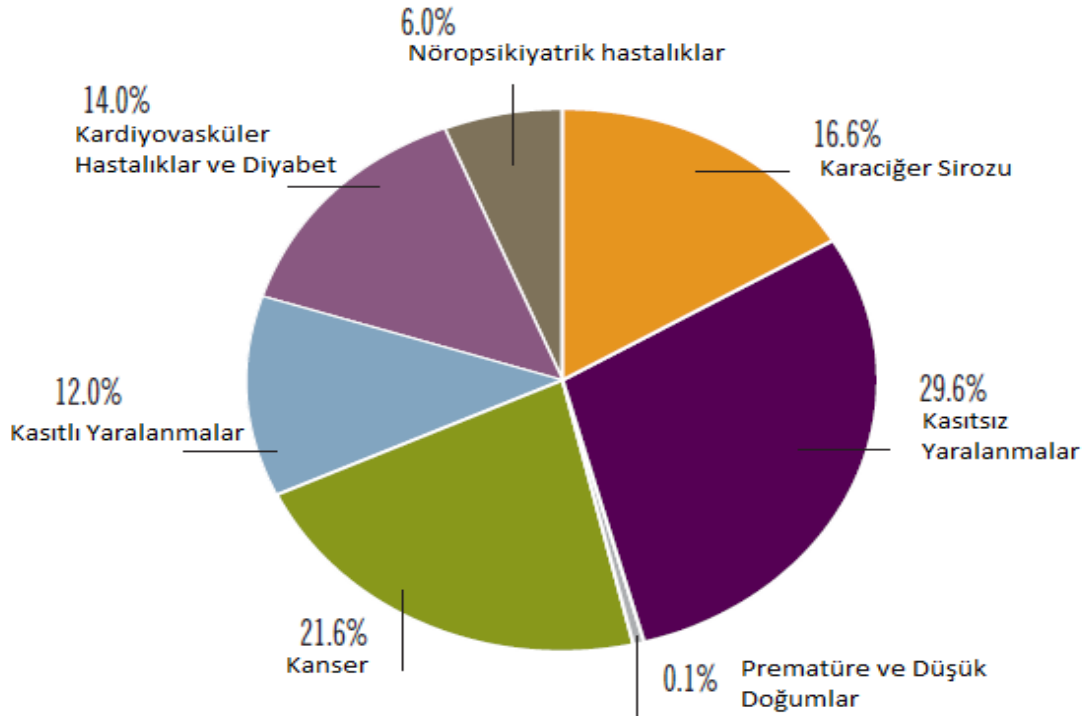


Şekil1.3. Türkiye 15 yaş üstü kişi başı alkol tüketimi, 2000-2005 [49]

1.1.4. Alkol Tüketimi ve Hastalıklarla İlişkisi

Alkol kullanımındaki sorunlar, çağımızın en önemli sorunları arasındadır. Alkolizm sağlık sorunları, trafik kazaları, intihar, suça yönelme, aile parçalanması, ekonomik sorunlar, iş yaşamının bozulması gibi pek çok boyutu olan önemli bir sorundur [50].

Bir bütün olarak Avrupa için alkole bağlı problemlerin sağlam tahminleri olmamasına rağmen, bireysel üye devletlerden gelen veriler, alkolün kaybolan verimlilik sebebiyle önemli masrafların ve sağlık, sosyal refah, ulaşım ve ceza yargılama sistemleri maliyetlerinin sebebi olduğunu, ayrıca önemli sayıda hastalıklara sebep olduğunu, ölüm oranını arttırdığını (özellikle de prematüre ölümler) ve sağlık hizmetleri sistemlerine ağır bir yük yüklediğini göstermektedir. 16-74 yaş aralığındaki kişilerin ölümlerinin % 8-10'u ve hastaneye akut yatışların tamamının % 6-20'si alkole bağlı olabilmektedir. Alkol nedenli ölümlerin yüzdesi Şekil 1.4.'te gösterilmiştir. Önemli sağlık problemleri arasında artan kan basıncı ve serebrovasküler hastalıklar, kanser (kadın göğüs kanseri ve üst solunum yolları ve sindirim sistemi hastalıkları dâhil), karaciğer sirozu, psikolojik zarar ve bağımlılık yer almaktadır [51] [Tablo1.1]



Şekil 1.4. Alkolden kaynaklanan hastalık ve yaralanmalar nedeniyle ölüm yüzdeleri [34]

Tablo 1.1. Alkolün organlara olan etkileri [52]

Santral ve Periferik Sınır Sistemi:	Deri:	Endokrin ve Metabolik Sistem	Kan:
Alkol entoksikasyonu	Akne	Hipoglisemi	Anemi
Alkol yoksunluğu (Nöbetler, delirium)	Ekimoz	Hiperlisemi	Trombositopeni
Wernicke-Korsakoff sendromu	Egzema	Hipokalsemi	
Hepatik ansefalopati	Yüzde eritem, kızamık	Hipomagnezemi	Besin eksikliği:
Pankreatik ansefalopati	Folikülit	Hipofosfatem	Folik asit eksikliği
Meningit (Pnömonok, meningokok)	Seboreik dermatit		Tiamin eksikliği
Pellegra	Tinea pedis	Sindirim sistemi:	Riboflavin eksikliği
Amblyopi		Karaciğer yağlanması	Nikotinamid eksikliği
Serebellar dejenerasyon	Kemik:	Alkolik hepatit	Pantotenik asit eksikliği
Periferik ve otonomik nöropati	Osteoporoz	Alkolik karaciğer sirozu	B12 eksikliği
Serebrovasküler olay (Hemoraj)	Osteopeni	Hepatosellüler kanser	A vitamini eksikliği
Santral pontin mielinosis	Kırıklar (Travma sonrası)	Orofarinks ve larinks kanseri	
Marchiafava-Bignami bozukluğu		Özofagus kanseri	Enfeksiyonlara eğilim
Alkol bağı demans	Kas:	Kronik gastrit	Pnömoni
Travmayla ilişkili nörolojik bozukluklar (Epidural, subdural, intraserebral hematom)	Myopati	Kolorektal kanser	Tüberküloz
Spinal kord zedelenmesi	Kardiyovasküler sistem:	Akut-kronik pankreatit	HIV
Brakial pleksus zedelenmeleri	Kardiyomyopati		Viral hepatit
	Hipertansiyon		Diğer (Üriner, bilier sistem, peritonit)
	Kalp ritim bozuklukları		İmmun sistem etkinliğinde azalma
	Koroner arter hastalıkları		

1.1.5. Alkol Bağımlılığı Etiyolojisi

Alkol bağımlılığı, gelişiminde birçok faktörün rol oynadığı kompleks bir hastalıktır. Alkol bağımlılığı gelişmesinde bilişsel, davranışsal, mizaç, psikolojik ve sosyokültürel faktörlerle birlikte genetik ve diğer biyolojik faktörler de rol oynamaktadır. Alkol kötüye kullanımı ve alkol bağımlılığı da dâhil olmak üzere alkol kullanma alışkanlıklarının ailesel olduğu kabul edilmektedir [53, 54, 55]. Alkol bağımlılığı geliştirmeye yatkın olan risk altındaki bireylerin önceden belirlenmesi bu bireylerin alkolden korunmaları ve erken önlemlerin alınmasını sağlayabilir. Alkol bağımlılığının risk etkenlerinin bulunmasının, alkolizm etiyojisinin aydınlatılmasında, hastalığın alt gruplarının ve bu alt gruplardaki biyolojik geçerlilik göstergelerinin belirlenmesinde ve belki de yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasında yararları olabilecektir. Bu yüzden özellikle son

yirmi yılda alkol bağımlılığına biyolojik yatkınlık belirleyicilerinin saptanması için çok sayıda araştırma yapılmıştır [56].

1.1.5.1. Psikososyal Faktörler

Özellikle yaşadığımız yüzyılda alkol tüketimini artırmak için türlü yayın araçlarıyla yapılan reklamlar, alkollü içeceklere insan yaşamında önemli bir yer kazandırmıştır. Alkoliklerin hastalık öncesi kişilik yapısı üzerinde birçok araştırma yapılmıştır, ancak özgül bir kişilik yapısı varlığı gösterilememiştir. Alkoliklerin alkole başlamadan önce ve çocuklarında hiperaktif-tutarsız, amaç ve değerlere fazla duyarlı olmayan, sosyopatiye eğilimli olduklarına dair bulgular ağır basmaktadır. Yine kişiliği oluşturan, içgüdü ve dürtü katmanından başlayarak yukarıya doğru bütün katmanlardaki takıntı saplantı ya da bozukluklar alkolizmin ortaya çıkmasını kolaylaştıran birer etken olarak kabul edilir [57]. Burada alkolün anksiyete (sıkıntı) gibi hoş olmayan duyguları ortadan kaldırma etkisinden faydalanılmakta, sosyal etkileşim artırılarak daha aktif bir konum elde edilmekte, diğer yandan da kişiyi rahatsız edici anılar ortadan kalkmaktadır. Bu durumlar kişinin daha fazla ve sık alkol içme davranışını pekiştirmektedir [19].

Alkolün kolay elde edilebilir ve ucuz olması alkol tüketimini arttıran bir özelliktir. İnanç ve töreler ile alkol kullanımının hoş görülmediği toplumlarda alkol kullanım oranı daha düşüktür, ancak sıfır değildir [50]. Ayrıca, kentleşme, sanayileşme, toplumsal çalkantıların yanı sıra göçler, alkol tüketimini ve alkolizmi artıran toplumsal nedenlerin başında yer alır. Batı ülkelerinde yapılan araştırmalara göre büyük kentlerde yaşayan bireylerin %70-80'inin alkol kullanmasına karşılık, bu oran küçük kasaba ve köylerde %20-30 dolaylarındadır [57].

1.1.5.2. Biyolojik Faktörler

Bu faktörler alkolün bireyler arasında farklı biyolojik etkiler oluşturma temeline dayanmaktadır. Son yıllarda dopamin, serotonin, noradrenalin ve diğer birçok nörotransmitter ile ilgili çalışmalar, konuya açıklık getirmeye çalışmaktadır. Biyolojik değişiklikler ile alkol bağımlılığı arasında bir ilişki olduğu görüşleri yeni kanıtlar getirmesine rağmen "genel geçer bir sav" henüz kabullenilmiş değildir [19]. Araştırmaların sonuçları bazı özelliklerin alkolizmde veya alkol bağımlısı olan

hastaların bazı alt gruplarında yatkınlık belirleyicisi oldukları yönünde umut vericidir: anormal adenilat siklaz (AC) aktivitesi, azalmış monoamin oksidaz düzeyleri, hipotalamo-pitüiter-adrenal (HPA) eksen bozuklukları, β -endorfin anormallikleri, düşük P300 uyarılmış potansiyel amplitüdü, D2 dopamin reseptör duyarlılığının azlığı ve alkole düşük duyarlılık gösterme risk etkenleri olarak; anormal aldehit dehidrogenaz izoenzim örüntüsü ise koruyucu etken olarak çalışmalara konu edilmiştir. Sonuç olarak, henüz alkolizmin kesin bir yatkınlık belirleyicisi saptanabilmiş olmasa da, ilerde en azından bazı alkol bağımlılığı alt grupları için duyarlı biyolojik yatkınlık belirleyicilerinin bulunması mümkün olabilir [56].

1.1.5.3. Genetik Faktörler

Alkol bağımlılığında kalıtsal etkenlerin rolünün olduğu artık neredeyse tartışılmaz biçimde kabul edilmektedir. Birçok aile, ikiz ve evlat edinme çalışması alkolizmin kalıtsal geçişinin olduğuna işaret etmektedir [58]. Alkol bağımlılarının birinci dereceden akrabalarında alkol bağımlılığı gelişme riski normal toplumun 3-4 katıdır. Kalıtsal etkenlerin etanolün emilme hızını, metabolize olma hızını veya santral sinir sisteminin (MSS) alkole duyarlılığını etkileyebileceği ve tüm bunların da bağımlılık gelişmesini etkiliyor olabileceği ileri sürülmektedir. Alkol bağımlılığının gelişmesinde kalıtsal bileşenlerin önemi ortada olmasına rağmen, tek bir biyolojik veya genetik nedenin hastalık patogeneze yol açması mümkün görünmemektedir. Daha çok, birden fazla genetik ve biyolojik etkenin çevreyle etkileşimi sonucunda kazanılmış son risk düzeyi belirleniyor olabilir. Alkolizme yatkınlık oluşturan belirleyiciler, hastalığa neden olan genlerin yakınında aynı kromozom üzerinde yer alan başka genlerin ürünü olup, hastalığa yatkınlıkla ilişkileri tamamen rastlantısal olabilir; ya da bu belirleyiciler alkolizm riskini artıran etiyolojik düzeneklerin içinde doğrudan yer alıyor olabilirler [59].

Genlerin çok uzun süreden beri alkolizm etiyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir [60]. Alkol bağımlılığının ailesel özellik gösterebileceği görüşü ilk olarak eski yunan okullarında yapılan gözlemlere dayanmaktadır. Bugünkü görüş ise alkolizmin genetik açıdan etkilenen kompleks, çok faktörlü bir bozukluk olduğudur [61]. Alkolizmin gelişmesinde altta yatan genetik faktörleri ayırt edebilmek için birçok soruya yanıt verilmesi gereklidir. Alkol bağımlılığı kalıtsal bir hastalık mıdır? Veya farklı kalıtsal alkol bağımlılığı biçimleri var mıdır? Alkol bağımlılığı monogenik veya

poligenik etiyolojisi olan çok faktörlü bir bozukluk mudur? Yatkınlık oluşturan faktörler nelerdir? Genetik yatkınlık çevresel etkilerden ayırt edilebilir mi? Biyolojik risk faktörlerinin genetik geçiş biçimi nasıldır? Genetik etkileri koruyucu yöntemlerle önlemek mümkün müdür? (örneğin; eğitim, alkolün elde edilmesini güçleştirme, alkol üretim politikaları geliştirme gibi). Bu zamana kadar alkol bağımlılığında kalıtsal faktörleri belirlemeye yönelik çalışmalar daha sıklıkla aşağıdaki alanlarda yapılmıştır: Aile çalışmaları (Aile sistem değişkenleri, içme davranışı ve içme öyküsü), İkiz çalışmaları (Alkol metabolizması, alkolü kullanma ve kötüye kullanma biçimi), Evlat edinme çalışmaları (Biyolojik ebeveynlere karşı evlat edinen ebeveynler) [60].

1.1.5.3.1 Aile Çalışmaları

Aile çalışmaları hastalığın ailesel ya da genetik ilişkisini tanımlamaktadır. Aile çalışmaları probandların seçilmesiyle başlar ve bu çalışmalarda genellikle birden fazla nesil örneklem olarak kullanılır. Bir proband, alkolizm gibi bir bozukluk için tıbbi yardıma ihtiyaç duyan, ailede ilk etkilenmiş kişidir [62].

Alkol bağımlısı ebeveynlerin çocuklarının alkol bağımlılığı geliştirme açısından artmış risk düzeyine sahip olduğu gözlemine dayanarak alkol bağımlılığının kalıtıldığı öne sürülmüştür [10]. Walters (2002), 1951 ile 1999 yılları arasında yayınlanan, alkol bağımlılığı ile ilgili aile çalışmalarının meta-analizini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmaların 21 tanesinde, ailesinde alkol bağımlılığı hikâyesi olan probandlarla alkol bağımlılığı gelişmesi açısından bir ilişki olduğu bildirilmiştir [63,64].

Alkolik probandların aile incelemelerinde örneklemin alındığı ülkenin etkili olmadığı ve genel popülasyona göre daha yüksek oranlarda alkolizm görüldüğü belirlenmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar birinci derece akrabalarında alkol bağımlısı birey bulunanların kontrol grubuna göre daha yüksek oranda alkol bağımlılığı gelişme riskiyle karşı karşıya olduğunu göstermektedir [65,66].

Genel popülasyonla karşılaştırıldığında alkol bağımlısı bireylerin birinci dereceden akrabalarında alkol bağımlılığı geliştirme riski 4-7 kat daha fazladır [67].

Aile çalışmaları, alkol bağımlılığının ailesel doğasını anlamak için güçlü araçlardır, fakat bu çalışmalar alkol bağımlılığına yatkınlığın anlaşılmasında genetik etkiyi çevresel etkilerden ayırmada yeterli değildir. Araştırmacılar, alkol bağımlılığı çalışmalarında çevresel etkileri ortadan kaldırmak için evlat edinme çalışmalarına yönelmişlerdir [63].

1.1.5.3.2. Evlat Edinme Çalışmaları

Evlat edinme çalışmaları, alkol bağımlılığı etiolojisinde genetik faktörleri çevresel faktörlerden ayırt etmek için kullanılmıştır [10]. Evlat edinme çalışmaları, evlat davranışları (örneğin; alkol bağımlılığı) ile biyolojik ve evlat edinen bireylerin özellikleri arasındaki karşılaştırmalı uyum ya da ilişkiye dayalıdır. Evlat ve biyolojik ebeveynler arasındaki benzerlik, davranış üstünde genetik etkiler olduğunu gösterirken, evlat ve evlat edinen ebeveynler arasındaki benzerlik ise çevresel etkenlerin olduğunu düşündürür [68]. Evlatlık çocuklar ve onları evlat edinen ebeveynler aynı genleri değil aynı ortamı paylaşırken, evlatlık çocuklar ve onların biyolojik ebeveynleri aynı çevreyi değil aynı genetik faktörleri paylaşmaktadır. Bu durum da çevresel faktör ne olursa olsun, genetik temel özelliklerin evlatlarda ifade edilmesi gerektiğini varsaymaktadır [63]. Evlat edinme çalışmaları, evlatlıklarda alkol bağımlılığı gelişmesinde onları evlat edinen ebeveynlere göre biyolojik ebeveynleri ile daha güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir [69]. Danimarka'da yapılan çalışmada 6 haftalıkken evlatlık verilen 133 erkeğin, biyolojik ebeveyni alkol bağımlısı olanların % 18'inin, olmayanların %5 'inin alkol bağımlılığı geliştirdiği saptanmıştır. Bu çalışmada alkol bağımlısı ebeveynlerin evlatlık verilen oğullarının, evlatlık verilmeyen oğulları ile aynı oranda artmış alkol bağımlılığı geliştirme riskine (kontrollerin 3-4 katı) sahip olduklarını ortaya koymuştur. Sadece kadınlarda değerlendirilen bir evlat edinme çalışmasında, ailesinde alkol bağımlısı bulunan evlatlıklarda alkol bağımlılığı geliştirme riskinin, bulunmayanlara göre 3 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir [70].

1.1.5.3.3 İkiz Çalışmaları

İkizlerde alkol kullanma davranışı, alkol metabolizması ve alkolle ilişkili bilişsel bozuklukların, genetik ve çevresel etkilerle ilişkisini araştırmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır [60].

Bağımlılığın kalıtımı, aile ve evlat edinme çalışmaları da dâhil olmak üzere birçok yönden değerlendirilmiştir, fakat elde edilen bilgilerin temeli tek yumurta ikizleri ve çift yumurta ikizleri arasındaki konkordans (eş hastalanma) oranlarının karşılaştırılmasıyla elde edilmiştir [70,71]. Çift yumurta ikizlerinin genetik benzerlikleri %50 iken, tek yumurta ikizlerinde bu oran %100'dür. İkizler aynı çevrede yetiştirildiğinde, alkol bağımlılığı konkordans oranlarının karşılaştırılması, genetik etkinin tahmin edilmesini sağlar. Eğer tek yumurta ikizleri ile çift yumurta

ikizleri arasındaki alkol bağımlılığı konkordansı aynı ise, genetik etkinin olduğu kabul edilmez. Eğer tek yumurta ikizleri, çift yumurta ikizlerine göre daha fazla konkordans düzeyine sahiplerse, fenotipik varyansın önemli bir kısmının genetik olarak etkilendiği düşünülür [63].

İkiz çalışmaları alkol tüketiminin genetik etki altında olduğu göstermiştir ve alkol bağımlılığının gelişmesinde %50-60 oranında kalıtsallığın etkisi olduğu tahmin edilmektedir [72,73].

Kendler ve ark. kadın-kadın ikizlerle yaptıkları geniş çaplı bir araştırmada, tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine göre anlamlı derecede yüksek konkordans olduğunu saptamışlardır [74]. Avustralya'da yapılan ikiz çalışmalarında, ikizlerin ergenlik çağında içki kullanma ve erken yaşta sorunlu içiciliğin ortaya çıkması açısından yüksek oranda konkordant oldukları saptanmıştır [10,75].

Bazı çalışmalarda alkol kullanma davranışında genetik etkilerin kadınlarda daha belirgin olduğu gösterilirken [54,76] bazı çalışmalarda genetik etkilerin her iki cins açısından da önemli olduğu belirtilmiştir [77]. Kendler (1992), kız tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine (% 26.2 vs % 11.9) göre belirgin olarak yüksek alkolizm konkordans oranı saptamıştır. Bu çalışma kadınlarda alkolizm etiyolojisinde genetik faktörlerin önemli rol oynadığı hipotezini desteklemektedir [54,60].

Sonuç olarak, aile çalışmaları, evlat edinme çalışmaları ve ikiz çalışmaları alkol bağımlılığı geliştirme riski üzerine genetik etkilerin anlaşılması açısından önemli bilgiler sağlar [63].

1.1.6. Alkol Metabolizması Ve İlişkili Genetik Özellikler

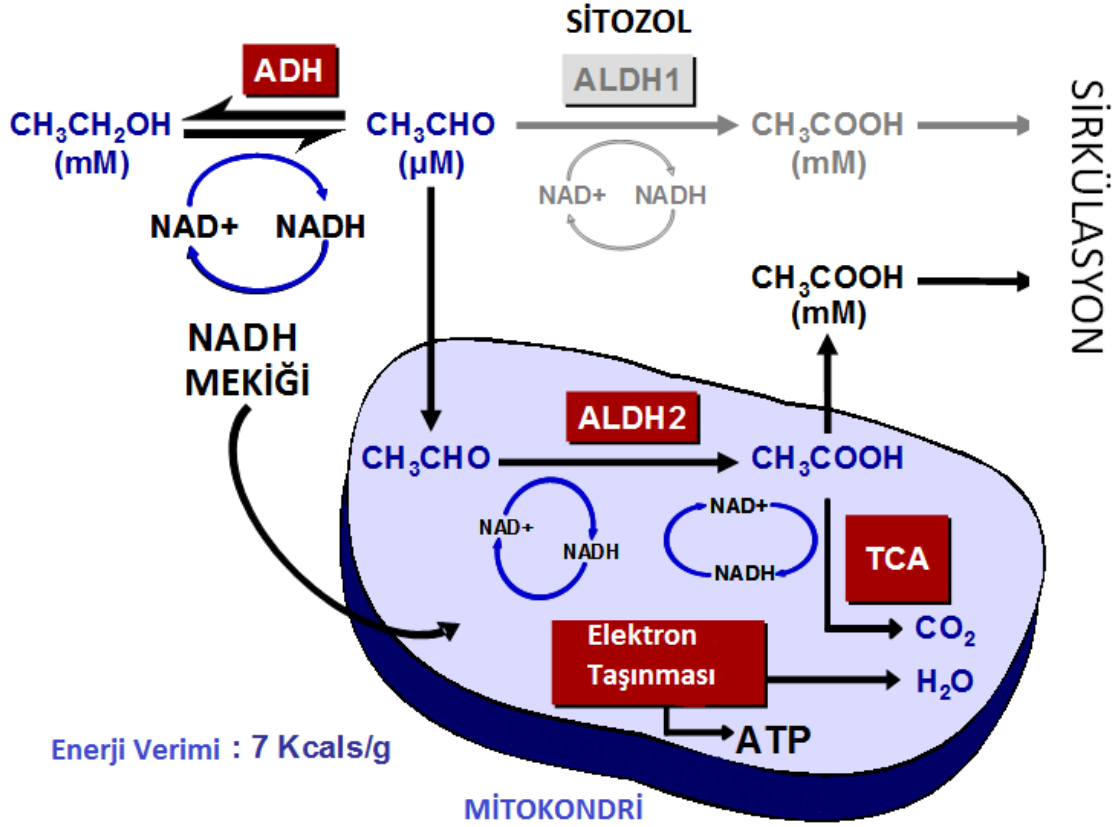
1.1.6.1. Etanol Metabolizması

Alkol (etanol) dünya genelinde birçok insan tarafından tüketilmektedir [69]. Alkol tüketimi Neolitik döneme kadar dayanmaktadır [78]. Onbin yıl önce tahıldan bira üretildiği bilinirken, sekiz bin yıl önce, şarap tüketildiği kayıtlara geçmiştir. 5 bin yıl önce şarap üretmek için üzüm bağları yetiştirilmiş. Milattan önce 2000'de Babil Kralı Hammurabi, şarap alım-satımı için kanunlar düzenlemiştir. Eski Yunan kültüründe, Dionysus/ Bacchus şarap tanrıları olarak atfedilmiştir [79]. Ortaçağda simyacılar onu hayat iksiri olarak düşünmüşler ve hastalıklara çare olarak kullanmışlar, hatta Hipokrat korku ve uykusuzluğun tedavisinde yarım bardak şarap yarım bardak su karışımını tedavi edici olarak hastalarına önermiştir. Günümüzde terapötik değeri

kalmadığı gibi aşırı miktarda ve kronik kullanımı ve buna bağlı ortaya çıkan sorunlar nedeni ile önemli bir sosyal ve sağlık problemi haline gelmiştir [50].

Alkollü içeceklerde bulunan alkol etil alkoldür (etanol) ve kimyasal yapısı CH_3-CH_2-OH olarak gösterilir [57]. Etil alkol 0.789 g/ mL yoğunluğunda, 78.4 °C'de kaynayan, suda tamamen çözünebilen, yanıcı ve renksiz bir alkoldür [49]. Etanolün kalori değeri yüksektir (yaklaşık 7kcal/g; Karbonhidrat ve protein:4kcal/g, yağ:9 kcal/g). Karbonhidrat ve yağlar vücutta depolanıp ihtiyaç halinde kullanılırken, karbonhidrat ve yağların aksine, alkol depolanamaz ve vücuttan uzaklaştırılır [80].

Karaciğer alkolün metabolik yıkımından sorumlu temel organdır ve toplam eliminasyonun %75'inden sorumludur. Böbrek, mide, ince barsak, akciğer, kalp, beyin, kan hücreleri ve iskelet kası da az miktarda fakat belirgin alkol oksidasyon kapasitesine sahiptirler. Etanol karaciğerde alkol dehidrogenaz (ADH) tarafından hidrojen ve asetaldehide okside olur. Asetaldehit ise daha sonra aldehit dehidrogenaz (ALDH) ile asetata okside olur. Bu da sitrik asit siklusuyla karbondioksite dönüştürülür [Şekil 1.5.]. ADH enzimleri farklı moleküler biçimleri, alt ünite ve izoenzim yapılarına göre 4 temel sınıfa bölünmüşlerdir. Alel polimorfizmi nedeniyle insan karaciğer ve midesindeki birinci sınıf izoenzimi farklı etnik gruplarda değişkenlik gösterir. ADH alellerinin dağılımı beyaz ırkta, Japonlarda, Çinlilerde, Amerikan yerlilerinde, Siyah Amerikalılarda ve Brezilyalılarda belirgin farklılık gösterir. İngilizlerin % 5-10'unda, Almanların % 9-14'ünde, İsviçrelilerin % 20'sinde ADH'nin atipik fenotipi bulunurken bu oran Japon, Çin ve Uzakdoğu ırklarında % 85'e yükselmektedir. ADH3'ün varyant biçimlerinin sıklıkları da beyaz ırkta, Uzakdoğu ve Afrika örneklemelerine göre daha yüksektir [60].



Şekil 1.5. Etanol ve asetaldehit'in hepatositlerdeki metabolizması [81]

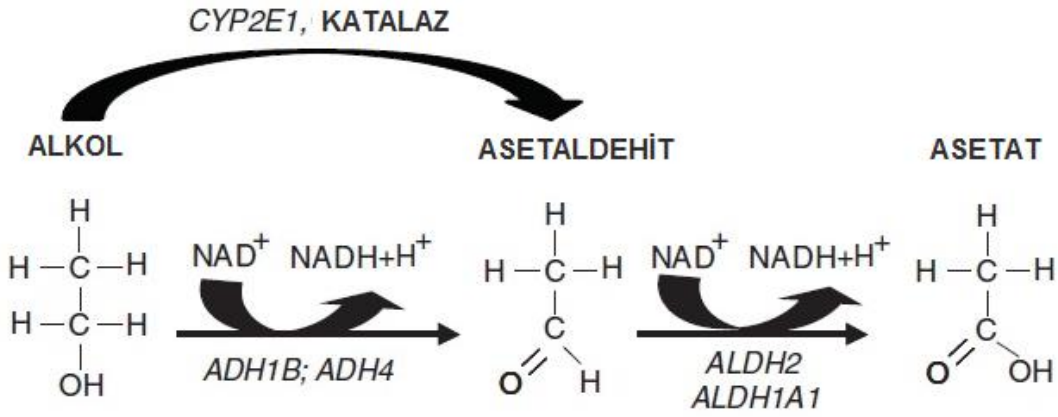
Alkol farmakolojik etkilerini merkezi sinir sisteminde (MSS) membran lipidleri, NMDA (N-metil-D Aspartat) reseptörleri, GABA-A (Gamaaminobutirikasit) reseptörleri, G proteinleri ve diğer membran yapıları üzerinden göstermektedir. Bağımlılık sürecinde GABA-A ve NMDA reseptörlerinin rolü olabilir. Alkolün oluşturduğu etkilerden pratik öneme sahip olanı davranışsal etkilerdir. Az miktarlarda alkol alımı (kan alkol düzeyi 50 mg/100 ml) sıklıganlık, endişe, sorumluluk duygularını azaltır, çoşku oluşturabilir. Miktar arttıkça taşkınlık ve giderek baskılayıcı etkileri belirginleşir. Kan alkol düzeyi 500 mg/100 ml olduğunda koma oluşabilir. Bu fizyolojik etkiler bağımlılık sürecinde çok değişik özellikler gösterebilir. Bu nedenle bu bilgiler de pratikte çok önemli değildir. Deneyimli kişilerin yorumlarını gerektirebilir. Örneğin ilk kez alkol alan bir kişi kan alkol düzeyi çok düşük olsa bile davranışsal olarak "toksik" bir tablo gösterirken, bağımlılık sürecinin bir aşamasındaki kişi aynı kan düzeyinde "yoksunluk belirtileri" (terleme, titreme, sıkıntı vs), bir diğer bağımlı ise "çoşku" hali gösterebilir [19]. Etanol aşırı miktarda akut olarak alındığında alkol zehirlenmesiyle sonuçlanan, merkezi sinir sistemi baskılayıcı etkiye sahiptir. Alkol zehirlenmesi için kandaki alkol seviyesi

bireyden bireye değişiklik göstermekle birlikte kandaki alkol seviyesi 100mg/dl'den fazla olduğunda alkol zehirlenmesi belirtileri ortaya çıkar [82].

Asetaldehit insan karaciğerinde enzimatik etanol oksidasyonunun ilk metabolik ürünüdür ve etanolden çok daha toksiktir. Bu nedenle alkol ve alkol kullanımıyla ilişkili fiziksel değişikliklerin büyük bir çoğunluğu etanolden çok asetaldehitte bağlantılıdır. Alkol vazodilatatör olarak bilinir ve bu özelliği direkt olarak damar yapısı üzerindeki etkisine bağlı olmayıp merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileriyle ilişkilidir. Etanolün etkileri sempatomimetik aktivitesi ve aynı zamanda asetaldehit ve asetat gibi metabolitler ile ilişkilidir. Asetaldehit alkolden daha güçlü sempatomimetik etkilidir ve adrenal medulladaki kromofin hücrelerinden ve sempatik sinir ularından katekolamin salınımını arttırır. Plazma katekolamininin artması kalp atım hızının artmasına, periferik damarların genişlemesine, karotise kan akımının hızlanmasına sebep olur [60].

1.1.6.2. Alkol Bağımlılığı Gelişmesinde Rol Oynayan Enzim Ve Nörotransmitter Sistemler Ve İlişkili Genetik zellikler

Alkol (etanol) ve asetaldehit metabolizmasındaki ana enzimler alkol dehidrogenaz (ADH) ve aldehit dehidrogenazdır (ALDH). Alkol dehidrogenaz alkolü asetaldehide dönüştürür. CYP2E1 ve katalaz da alkolü asetaldehide yıkar. Asetaldehit sonra asetik asite dönüşür sonra da karbondioksit, su ve yağ asitlerine metabolize olur [şekil1.6]. Pek çok değişken alkolün emilim ve metabolizmasını etkileyebilir. Alkolün metabolik etkilerinden bir kısmı, doğrudan aşır NADH ve asetaldehit üretimine bağlıdır. Alkolün yıkımından sorumlu ana organ olan karaciğer alkol metabolizmasının etkilerine özellikle duyarlıdır. Genellikle kabul edilen alkolün özgül olmayan farmakolojik bir ajan olduğu görüşüne rağmen, yakın zamandaki moleküler farmakoloji çalışmaları alkolün sadece bazı bilinen hedefleri olduğunu göstermiştir. Bunlar, NMDA, GABA A, glisin, serotonin, nikotink ACh reseptörleri ve L-tipi kalsiyum kanallarıdır [52].

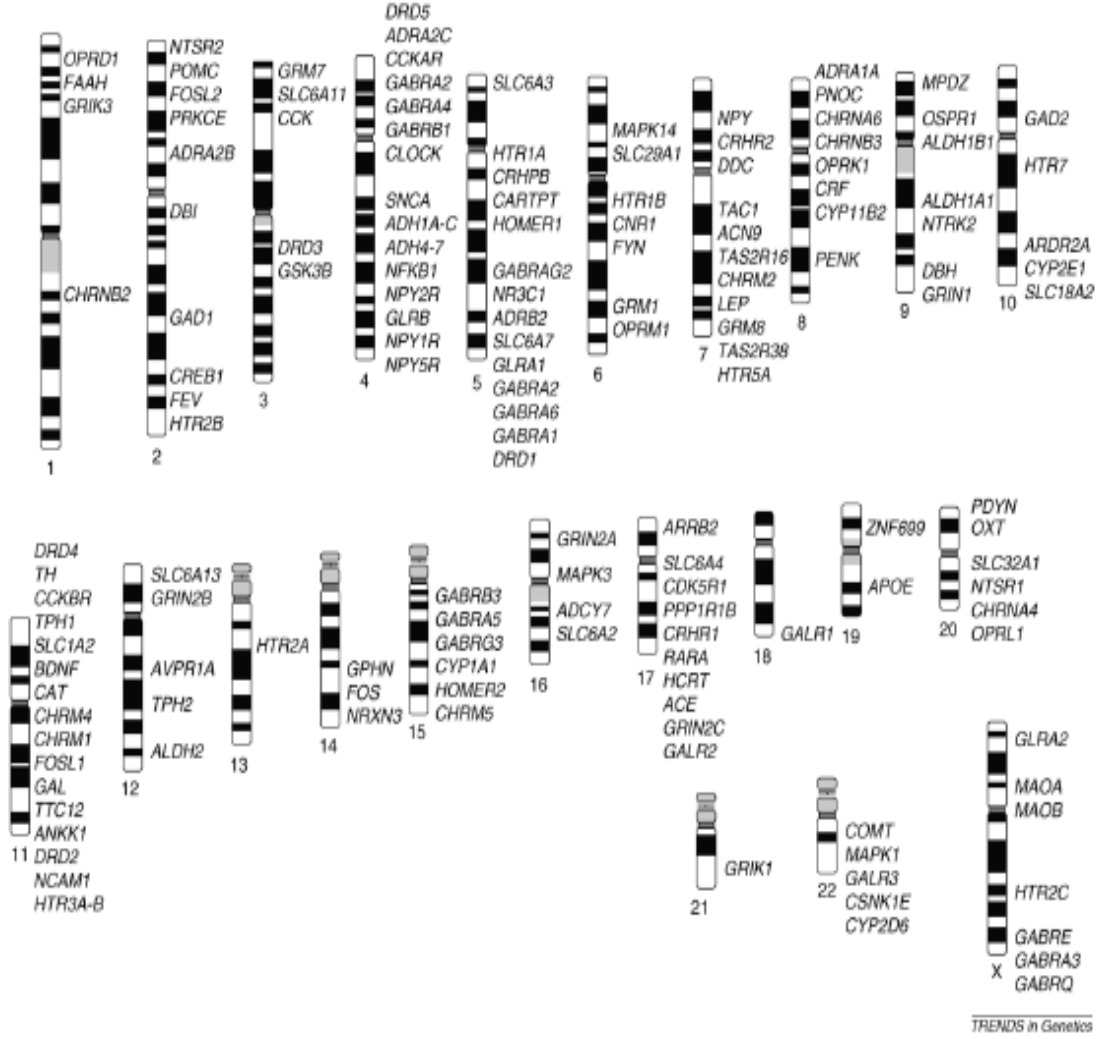


Şekil 1.6. Alkol metabolizması [72]

Alkol bağımlılığı konusundaki genetik çalışmalarda en sık olarak bağımlılık gelişmesinde farklı genetik varyantların ne kadar etkili olduğu üzerinde durulmaktadır. Çalışmalarda alkolü metabolize eden enzimler, dopaminerjik, GABAerjik, glutamaterjik, opioid, kolinerjik, serotonerjik ve diğer yollardaki reseptörler ve taşıyıcılarda saptanan genetik farklılıkların etkileri araştırılmıştır [83].

Saptanan hedef genin polimorfizmleri açısından alkol bağımlılarında ve onlarla yaş, cinsiyet gibi parametrelerle eşleştirilmiş sağlıklı bireyler arasında bir fark olup olmadığı araştırılmış ve iki grup arasında bir fark bulunursa, o genin alkol bağımlılığı patogeneğinde rol oynayabileceği üzerinde durulmuştur [84]. İlk çalışmalar alkol bağımlılığı gelişmesinde rol oynadığı konusunda üzerinde yeterince kanıt olan enzim ve nörotransmitterle yapılmış, daha sonraları daha az sorumlu tutulan yapılarıdaki polimorfik farklılıkların olası etkileri incelenmiştir [60,85].

Alkol bağımlılığı çalışmalarında ilişkilendirme, linkaj analizi ve genom boyu ilişkilendirme analizi kullanılmaktadır. Linkaj analizleri sonucu kromozom 1, 2 ve 7, alkol bağımlılığı ile ilişkili bulunmuştur. Yapılan bir diğer çalışmada *GABRA4*, *GABRB1*, *GABRAG1* genleri alkolizmle ilişkilendirilmiş ve *GAD1*, *SLC1A3* ve *CDH12* genleri bağımlılık oluşumu için aday gen olarak belirlenmiştir [Şekil1.7.]. Bir genom boyu ilişkilendirme çalışmasında *CDH13* ve *ADHC* genlerinde taranan dokuz adet, tek nükleotit polimorfizmi alkolizm ile ilişkili bulunmuştur [86, 87,88].



Şekil1.7.Alkol bağımlılığı ile ilişkilendirilmiş aday genlerin kromozomlar üzerindeki yerleşimleri [89]

1.1.7. Nöropeptit Y Geni (*NPY*) ve Alkol Bağımlılığı

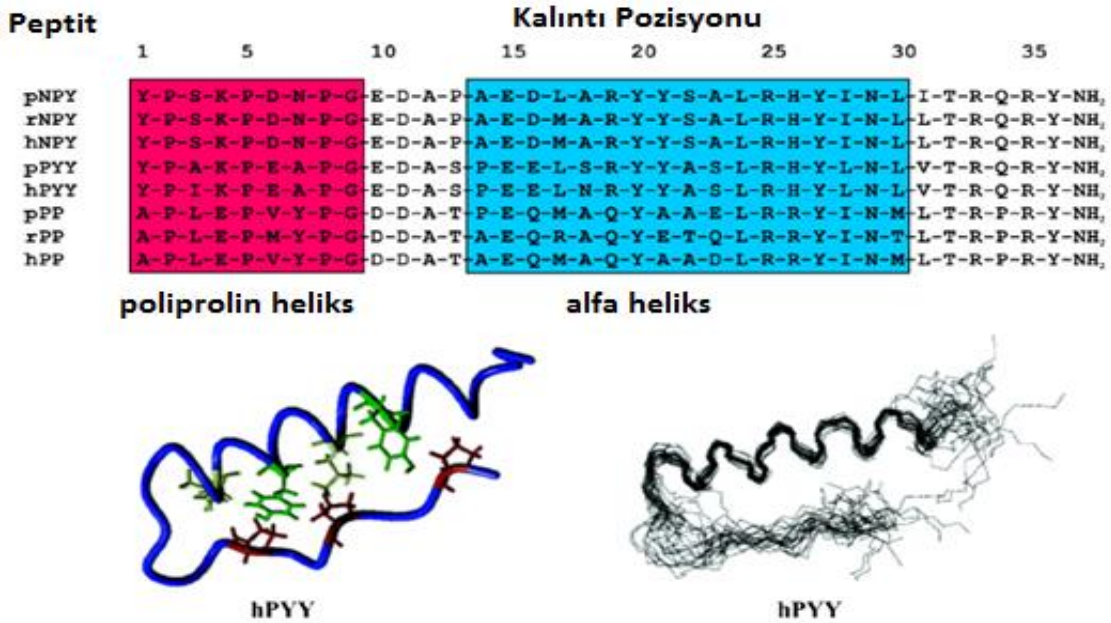
1.1.7.1. *NPY* ve ilişkili proteinler

Alkol bağımlılığı ile ilgili sorumlu aday genlerden bir tanesi de nöropeptit Y (*NPY*) genidir [13]. İnsanda *NPY* geni 7.kromozomun 7p15.1. lokusunda bulunur. Merkezi sinir sisteminde *NPY*'nin en çok kodlandığı bölge hipotalamusun 3. ventriküle komşu bölgesinde yer alan arkuat nükleustur. Kısmi olarak ise paraventriküler nükleus, suprakiazmatik nükleus, median eminens ve dorsomedial nükleusta bulunur. Periferde ise sempatik sinir sisteminde yoğun olarak bulunur, Norepinefrin (NE) ile birlikte depo edilir ve salınır [88].

NPY, beyin dokusunda yoğun olarak bulunan peptid olarak ilk defa 1982 yılında domuz beyinde Tatemoto ve Mutt tarafından keşfedilmiştir [86,14]. Nöropeptit Y (NPY), pankreatik peptit Y (PPY) ve pankreatik polipeptit (PP) ile birlikte “pankreatik polipeptit ailesi” nde yer alan bir proteindir. NPY, PPY ve PP birincil yapıları karşılaştırıldığında NPY ve PPY arasında daha fazla homoloji benzerliği gözükmemektedir [90] [Şekil1.8.] [Şekil 1.9.].

		Benzerlik
NPY	<u>Y</u> <u>P</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>D</u> <u>N</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>Y</u> <u>S</u> <u>A</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>H</u> <u>Y</u> <u>I</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>I</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>*</u>	100%
PPY	<u>Y</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>H</u> <u>Y</u> <u>L</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>*</u>	69%
PP	<u>A</u> <u>P</u> <u>L</u> <u>E</u> <u>P</u> <u>V</u> <u>Y</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>D</u> <u>D</u> <u>A</u> <u>T</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>Q</u> <u>M</u> <u>A</u> <u>Q</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>I</u> <u>N</u> <u>M</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>*</u>	50%

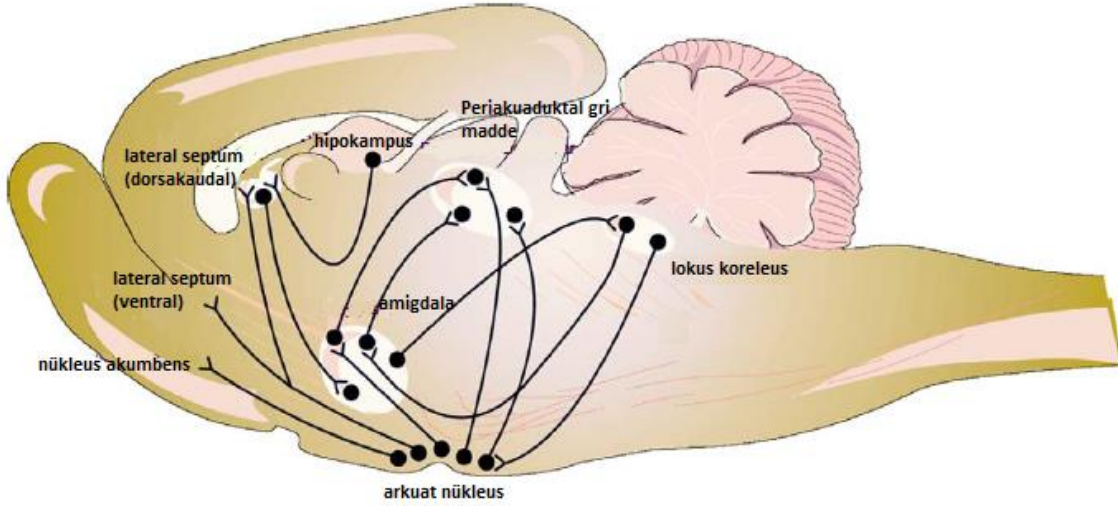
Şekil 1.8. NPY, PPY ve PP proteinlerinin amino asit dizilerinin karşılaştırılması [90]



Şekil 1.9. NPY, PPY ve PP aminoasit dizisi ve insan PYY proteinin molekül modeli [91]

NPY’ nin beslenme, merkezi otonom işlevler, öğrenme, stres yanıtları, cinsel ve motor davranışlar da dâhil olmak üzere birçok nöroendokrin işlevin düzenlenmesinde

görev aldığı gösterilmiştir [92]. NPY özellikle motivasyon ve duygusallık ile ilgili kortikal ve limbik bölgelerde yüksek oranlarda bulunur. Periferik sinir sisteminde ise perivasküler, sinir pleksuslarında, adrenal medullada, adrenerjik sinir uçlarında nöradrenalinle birlikte işlev görür [93,94]. NPY çoğunlukla sempatik sinirlerde bulunur, seyrek olarak parasempatik sinirlerde saptanabilir [94,95]. Merkezi sinir sisteminde özellikle serebral korteks, hipokampus, talamus, hipotalamus ve beyin sapında yer alır [94]. NPY içeren sinir hücrelerinin gövdeleri arkuat nükleus, lokus sereleus, traktus solitariusta yoğun olarak saptanır. Bu sinirlerin terminal bölgeleri ise hipotalamus, beyin sapı ve diğer limbik alanlara uzanmaktadır. NPY 'nin merkezi sinir sisteminde yaygın dağılım göstermesi nörobilişsel, affektif ve somatosensorial alanlarda işlev gösterdiğini düşündürmektedir [95] [Şekil.1.10].



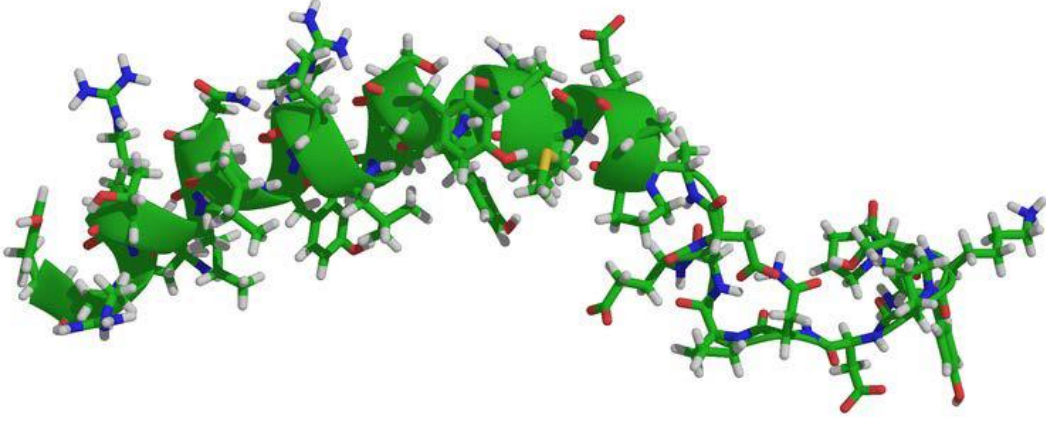
Şekil1.10. Beyin NPY yolları [96]

1.1.7.2. NPY Yapısı

NPY, karboksi terminalinde bir tirozin rezidusu ve prolin sarmal altında katlanmış bir alfa sarmaldan oluşan 36 amino asitli doğrusal polipeptiddir [97]. NPY birçok tirozin (Y) rezidusu içerdiği için ve kendisine çok benzer yapıya sahip olan PYY' den ayırmak için nöropeptit Y olarak adlandırılmıştır [90].

NPY yapısında, N-terminal poliprolin sarmalı (1-8 reziduları) ve amfipatik alfa sarmal (15-30 reziduları) bir beta dönüş ile birbirine bağlanarak saç tokası görünümü oluştururken, karakteristik bir tersiyer yapı gözlenir [Şekil 1.11]. Bu yapı kuş

pankreatik proteinin kristal yapısından tanımlanmıştır ve nükleer manyetik rezonans çalışmaları bu üç boyutlu konformasyonu doğrulamaktadır. Yapıdaki bu kıvrımlar hidrofobik etkileşimler ile bir arada tutulmaktadır. Amitlenmiş C-terminal ucu (30-36 rezidular) saç tokası döngüsünden çıkıntı yapmaktadır [97,98,99].



Şekil 1.11. Nöropeptit Y (NPY) yapısı [99]

1.1.7.3. Nöropeptid Y Reseptörleri

NPY reseptörleri klasik G proteinle eşleşmiş reseptör (G protein coupled receptor - GPCR) ailesinin üyesidir. Bu reseptörler doğrudan iyon kanallarını açmak yerine hedef hücrede metabolik değişikliklere neden olan metabotropik reseptörlerdir [100]. NPY ve NPY reseptörleri, amigdala, hipokampus, neokorteks, septum, kaudat putamen, hipotalamus ve locus seruleus gibi psikopatolojiden sorumlu bölgelerde yoğunur [101].

İnsanda 5 NPY reseptör alt tipi tanımlanmıştır (Y1, Y2, Y4, Y5, Y6) ve en az bir tane daha reseptörün (Y3) varlığı farmakolojik olarak desteklenmektedir. Dördü insanlarda işlevseldir. NPY2R ve NPY4R' ün iştahın baskılanmasında, Y1 ve NPY5R alt tiplerinin beslenme uyarılmasında rol aldıkları bilinmektedir. NPY1R, NPY2R ve NPY5R alt tipleri, merkezi sinir sisteminde baskındır. NPY4R periferik sinir sistemi dokularında bulunurken NPY6R'ün işlevi anlaşılamamıştır. NPY ve NPY reseptörleri gıda alımının düzenlenmesi, cinsel davranış, bilgi işleme, biliş, öğrenme ve bellek, kan basıncı kontrolü, sempatik aktivite, stres ve anksiyete düzenlenmesinde önemli

rol oynamaktadır. Bu şekilde, NPY psikopatoloji ile ilgili fizyolojik süreçler ve davranışları düzenler [100, 102,103].

1.1.7.4. Nöropeptid Y' nin Çeşitli Psikiyatrik ve Fiziksel Süreçlerle İlişkisi

NPY, damar büzülmesi, burun tıkanıklığı, kan basıncı, barsak hareketliliği, aksiyete, depresyon, ağrı, beslenme, üreme hormonları, nöronal uyarılabilirlik [104] ve enerji metabolizması, insülin salınımı, beyaz yağ dokuda lipoprotein lipaz aktivitesinin uyarılması, nörepinefrin salınımının inhibe edilmesi, insan beyaz kas hücrelerinin proliferasyonunun uyarılması, damar gelişiminin uyarılması gibi işlevlerde rol alır [105].

NPY ve ekspresyonu, nöronal fonksiyonda nörotransmitter ve/veya düzenleyici olarak görev aldığı merkezi sinir sisteminde geniş olarak çalışılmıştır [99].

1.1.7.4.1. Depresyon ve Anksiyete

NPY' nin insanlarda anksiyolitik etkisini araştıran çalışmalarda, depresyon hastalarında anksiyete ile beyin omurilik sıvısı (BOS) NPY düzeyleri arasında güçlü bir negatif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Stresli yaşam olayları ve kronik stres insanda depresif bozukluğun gelişiminde etkilidir. NPY ve galaninin stres yanıtını düzenlediği ve antidepresan benzeri etki gösterdiği kemirgenlerde gösterilmiştir [106]. *NPY*-transgenik model, dorsal hipokampusun NPY'nin anksiyolitik etkisinden sorumlu olabileceğini göstermiştir. Duygudurum ve anksiyete bozuklukları strese karşı uyumsuz olmayan yanıtla ilişkilendirilmektedir. Bu bağlamda, merkezi NPY iletiminin anormal işlevselliği bu grup bozuklukların patofizyolojisinden de sorumlu tutulmaya adaydır. Bu durumda antidepresan tedavinin deneysel modeli merkezi NPY sentezinin upregülasyonunu gösterirken, depresyon hayvan modelinde baskılanmış merkezi NPY düzeyi görüldüğü ortak görüş olarak bildirilmiştir [107,103].

NPY 'nin fonksiyonel genetik varyasyonları duygu durumunda bireysel farklılıkların kaynağı olarak belirlenmiştir. Düşük NPY seviyeleri majör depresif bozuklukla ilişkilendirilmiştir (MDD) [108].

1.1.7.4.2. Yeme Davranışı

NPY, yeme davranışında önemli rol oynar. Yeme davranışları temel olarak hayvanlarda çalışılmıştır [91]. Örneğin sıçanların hipotalamusuna enjekte edilen NPY'nin besin alımını arttırırken, enerji tüketimini azalttığı gözlenmiştir [109]. Fare ve maymun çalışmaları; tekrarlayan stres, yüksek yağ, yüksek şekerli diyetin, NPY salgılamasını uyararak karın bölgesinde yağ birikmesine neden olduğunu göstermiştir [110].

NPY1R ve NPY5R iştah uyarımı ile sıkı ilişkilidir. Oysa NPY2R ve NPY4R iştahın baskılanmasına yol açar [111]. Kemirgen modelleri ile yapılan çalışmalar özellikle peptidin periferik eylemleri üzerinde yoğunlaşırken, son zamanlarda araştırmacılar laboratuvar koşullarında strese bağlı artan merkezi NPY düzeyinin özellikle yüksek yağ, yüksek glukoz düzeyleri ile birlikte ateroskleroz, obezite ve metabolik sendrom benzeri durumların oluşumuna aracılık ettiğini göstermişlerdir [112,103].

1.1.7.4.3. Koroner Arter Hastalıkları

İnsanlarda erken dönem koroner arter hastalıkları ile *NPY*gen mutasyonları arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Farelerde NPY1R antagonistleri ateroskerozu önlemektedir. Plateletler ve merkezi sinir sisteminin sempatik sistem hücreleri tarafından salınan NPY ve arter içinde işlev gören ve lokal inflamasyon ve plak birikmesine neden olan NPY1 reseptörlerinin bilinmeyen bir hücre tipi tarafından aktive edilebileceği öne sürülmektedir [113]. Sonuç olarak, NPY'nin, stres ve aşırı beslenme, kronik vasküler ve metabolik maladaptasyonda bir rol oynadığı görülmektedir [103].

1.1.8. NPY ve Alkol Bağımlılığı

NPY'nin alkol tüketimi üzerine olan etkileri daha çok hayvan çalışmalarında incelenmiştir [99]. Alkol tüketimi aşırı NPY ekspresyonu olan farelerde düşmekte iken NPY eksikliği olan farelerde alkol tüketimi artmıştır [114]. İndiana alkol tercih etmeyen sıçanlarla karşılaştırıldığında, İndiana alkol tercih eden sıçanlarda amigdala, frontal korteks ve hipokampusta NPY seviyeleri daha düşük bulunmuştur [115]. Ayrıca, alkol tercih eden sıçanlara, NPY enjekte edildiğinde etanol tüketiminde düşme gözlenmiştir [116]. Diğer bir çalışmada, alkol tercih eden sıçanlarda nükleus akumbens, frontal

korteks, amigdala, hipokampus, kaudat putamen ve hipotalamusta NPY mRNA düzeyi düşük bulunmuştur [117]. Tüm bu çalışmalar alkol bağımlılığı ve beyin NPY düzeyi arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir [90].

NPY reseptörleri ve alkol tüketimi ile ilgili yapılan bir çalışmada, Y1 reseptörü açısından nakavt farelerde yüksek alkol tüketimi gözlenmiştir. Sonuç olarak, Y1 reseptörünün gönüllü alkol tüketimini ve etanolün sarhoş edici etkisini düzenlediği önerilmiştir [118]. Merkezi Y2 reseptörünün antagonisti olan BIIIE0246 tarafından baskılanmasıyla sıçanlarda etanol tüketiminin düştüğü gözlenmiştir [119]. Bu nedenle Y2 reseptörü alkol bağımlılığı farmakolojik tedavi geliştirmek için aday hedeflerden birisi olabileceği önerilmiştir [90] [Tablo1.2.].

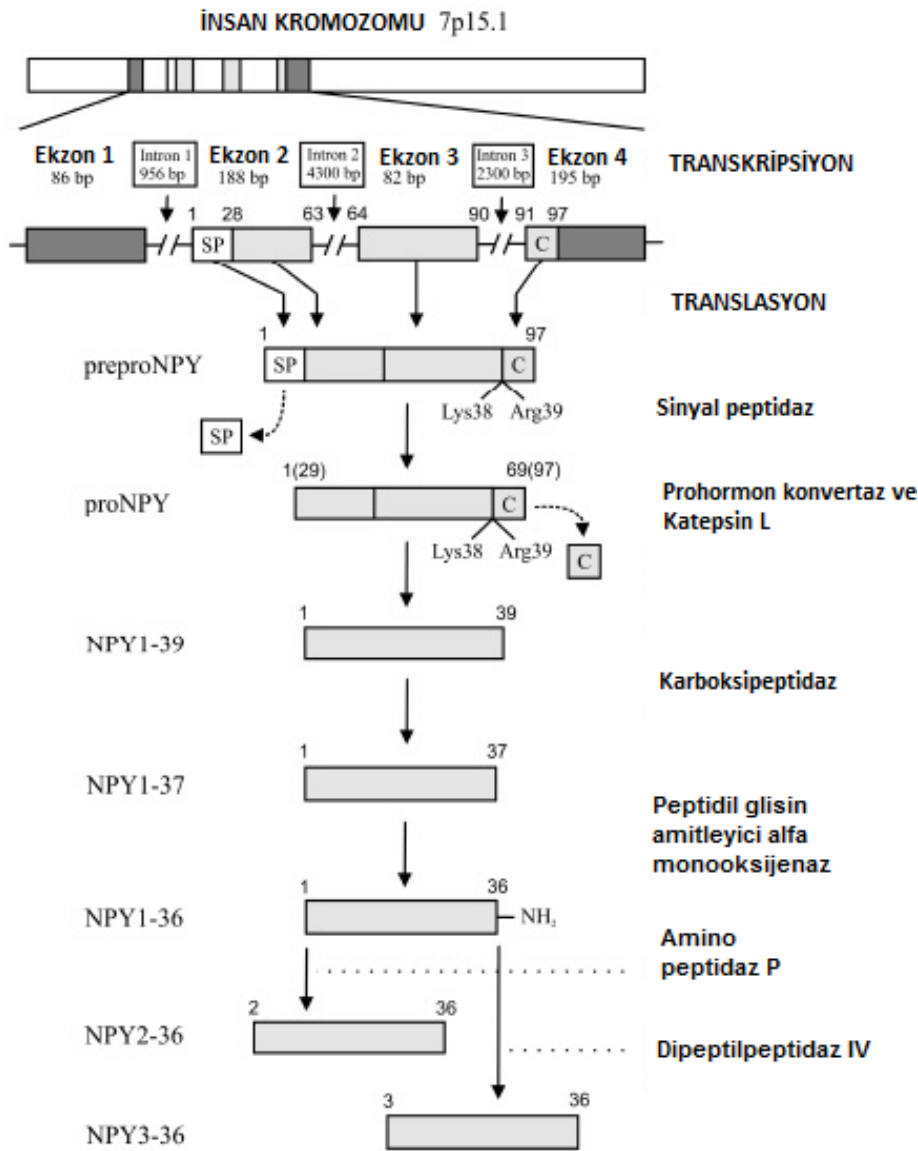
Düşük NPY plazma düzeyi veya düşük NPY ifadesi olan bireylerde stres yanıtının değiştiği, stresle ilişkili bozukluklara yatkınlığın arttığı bulunmuştur [13]. Travmatik yaşantıları olan, stres düzeylerinin arttığı bireylerde potansiyel olarak alkol bağımlılığı riski artmıştır. NPY varyasyonları ile alkol bağımlılığı arasındaki ilişki uzun süreli alkol kullananlarda ve gazilerde geniş bir örnekleme gösterilmiştir [14, 17]. Alkol tüketiminin NPY tarafından düzenlendiği kanıtlarla desteklenmektedir. Alkol tüketimi, aşırı ölçüde NPY ifade eden farelerde düşmekte iken NPY eksikliği olan farelerde alkol tüketimi artmıştır. İnsanda saptanan NPY varyasyonları potansiyel olarak alkol tüketimi ve dolayısıyla alkol bağımlılığı riskini artırmaktadır. Lindell ve arkadaşları, düşük NPY ekspresyonu veya NPY sisteminin yetersiz işlevselliğinin bireylerde stres direncini azalttığını ve daha fazla alkol alımına ve sonuçta bağımlılığa yol açtığını öne sürmüşlerdir [28]. Bütün bu çalışmalara rağmen, düşük NPY seviyelerinin alkol bağımlılığı ortaya çıkmadan önce mi var olduğu yoksa alkol bağımlılığının bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı henüz kesin değildir [120].

Tablo 1.2. NPY, alkol tüketimi ve sedasyon [122]

Sistem	Yapılan deney	Etanol tüketimine etkisi	Etanol nedenli uyku süresi
NPY	• NPY' nin i.c.v.'ye aşılması	Azalma/Etkisiz	Artma
	• NPY'nin amigdala aşılması	Azalma/Etkisiz	Veri Yok
	• NPY'nin hipotalamik aşılması	Artma	Veri Yok
	• <i>NPY</i> transgenik fare	Azalma	Artma
	• <i>NPY</i> knockout fare	Artma	Azalma
Y1 Reseptörü	• Y1 reseptör antagonistinin amigdalar aşılması	Azalma	Veri yok
	• NPY+Y1 reseptör antagonistinin hipotalamik aşılması	Azalma	Veri yok
	• Y1 reseptörü knock out fare	Artma	Azalma
Y2 reseptörü	• Y2 reseptör antagosti i.c.v. aşılması	Azalma	Veri yok
	• Y2 reseptörü knockout fare	Azalma	Etkisiz
Y5 reseptörü	• Y5 reseptör antagonisti intraperitoneal (i.p.)aşılması	Etkisiz	Etkisiz
	• Y5 reseptör knock out fare	Etkisiz	Artma

1.1.8.1. NPY Geni ve Alkol Bağımlılığı ile İlişkili Polimorfizmler

NPY geni, 965,4300 ve 2300 bç uzunluğunda 3 intron ve 4 ekzona sahip 8 kb uzunluğunda olup 7.kromozomun 7p15.1 lokusunda yer alır [121]. NPY geni sinyal peptit, olgun NPY ve karboksi terminal uca sahip bir peptit içeren öncül bir protein üretir [122] [Şekil1.12.]. NPY reseptörleri üzerinden etki göstererek depresyon, alkol bağımlılığı ve beslenme düzenlenmesinde önemli rol oynar [123].



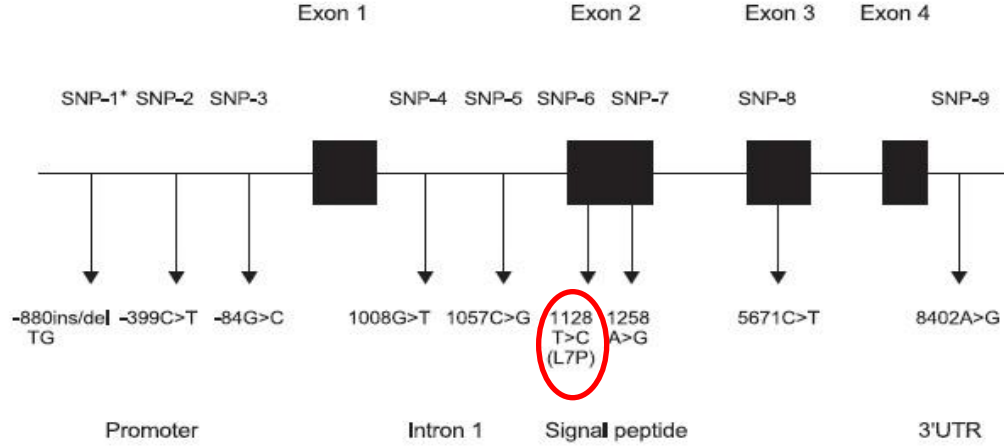
Şekil1.12. NPY proteinin sentezlenmesi ve işlenmesi [99]

İnsan genomu milyonlarca tek nükleotit polimorfizmi (SNP) içermektedir. Tek nükleotit polimorfizmlerinin çoğu kodlanan bölgeler dışında olsa bile, bireyler arasındaki genetik çeşitliliğin hastalık oluşumunda etkili olduğu düşünüldüğünden dolayı önemlidir [124].

Nöropeptit Y anksiyete ilişkili davranışlar ve duygu durumunu düzenlemede önemli bir regülatördür. Transgenik çalışmalar ve mutant farelerle yapılan çalışmalar NPY'nin alkol tüketiminde önemine dikkat çekmiştir ve bu çalışmalar sonucunda prepro-*NPY* genindeki genetik varyasyonların alkol bağımlılığı kalıtımında rol oynayabileceği düşünülmektedir [13]. İnsan *NPY* genindeki düşük NPY seviyeleriyle ilişkili olan tek nükleotit polimorfizmleri depresyon ve alkol bağımlılığı ile ilişkili bulunmuştur [125]. Ayrıca, NPY Y2 ve Y5 reseptörlerindeki tek nükleotit polimorfizmleri alkol bağımlılığı, alkol bırakma ve özellikle alkol nöbetleriyle ilişkilendirilmiştir [126,127].

1.1.8.1.1. Prepro-*NPY* 'nin Sinyal Peptidini Etkileyen Fonksiyonel Polimorfizm: rs16139 (+1128 T/C)

NPY genetik varyasyonlarının alkol tüketimi üzerine yapılan insan çalışmalarında başlıca rs16139 polimorfizmine odaklanılmıştır. Bu polimorfizm 1998 yılında Fin ve Alman populasyonları ile yapılan çalışmalar sonucu keşfedilmiştir [91,99]. 1998 yılında Karvonen ve arkadaşları tarafından bulunan, *NPY* geninin + 1128. pozisyonunda timin-sitozin değişikliği, *NPY*' nin sinyal peptidinin 7.pozisyonunda (Leu7Pro) lösin-prolin aminoasiti değişikliğine neden olur [120] [Şekil 1.13.]. *NPY*' nin sinyal dizisindeki bu değişim, reseptörüne bağlanmayı etkilemeden [128] endokrin hücre granüllerinde hormon paketlenmesinde değişime neden olarak peptit salgılanmasının yüksek seviyede artmasıyla sonuçlanır [124].

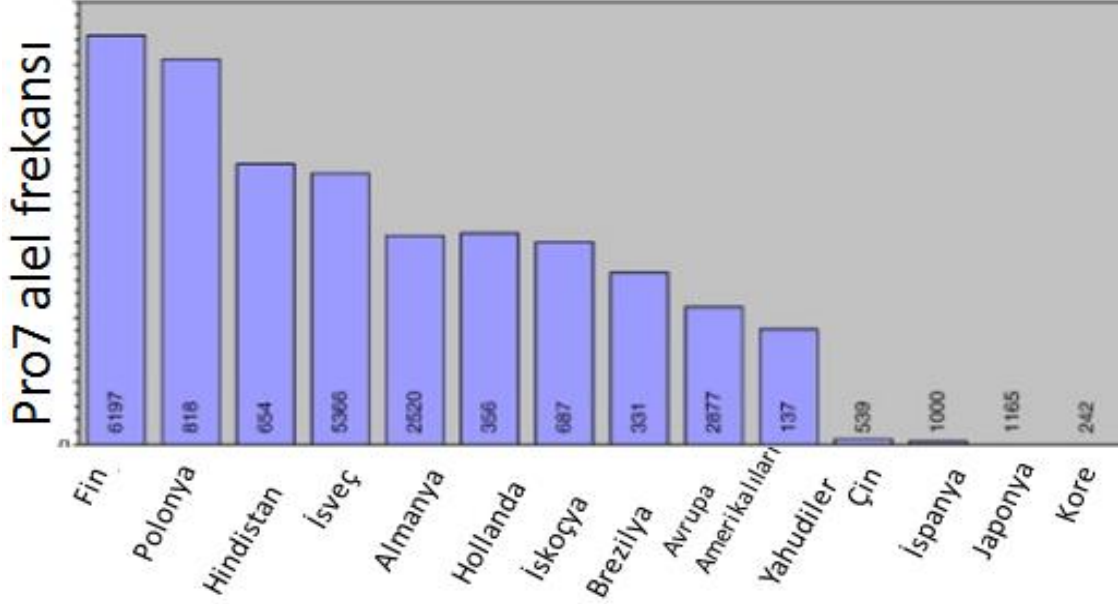


Şekil1.13. İnsan *NPY* genini şematik gösterimi ve rs16139 yerleşimi [128]

Farklı populasyonlar arasındaki *NPY* sinyal dizisi 7Pro alel frekansı çok değişiktir. Kafkas populasyonunda Leu7Pro polimorfizminin sıklığı % 6' dan % 15'e kadar değişmekteyken [129], Asya populasyonunda bu polimorfizm son derece nadir gözükmemektedir [105]. PreproNPY Leu7Pro polimorfizmi ile ilgili en çok çalışılan populasyon *NPY* 7Pro alel varyantı sıklığı yaklaşık % 12 olan Fin populasyonudur [91]. rs16139 polimorfizminin plazma *NPY* seviyesine etkisi üzerine olan bilgiler çok azdır ve elde edilen bulgular çelişkilidir [120]. Kallio ve arkadaşları, Leu7/Leu7 genotipine sahip bireylerle Leu7/Pro7 genotipine sahip bireylerin, fizyolojik strese yanıt olarak salgılanan plazma *NPY* oranlarını karşılaştırdığında, Leu/Pro7 genotipine sahip bireylerde ortalama % 42 oranında bir artış olduğunu bulmuştur [130]. Kallio ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada ise 7Pro alelini taşıyanlarda daha düşük plazma *NPY* seviyeleri olduğu gözlenmiştir [131]. Fakat Jaakkola ve arkadaşları, bu polimorfizmin plazma *NPY* seviyesini etkilemediğini önermiştir [132].

Bu polimorfizmin alkol bağımlılığı geliştirme riskine olan etkisini araştırmak için yapılan ilişkilendirme çalışmaları da tartışmalıdır [120]. Bazı çalışmalar 7Pro varyantının varlığını alkol bağımlılığı riskini [16, 17,13] ve etanol tüketimini arttırdığını gösterirken [119], bazıları ise alkol bağımlılarında 7Pro alelinin frekansını düşük bulmuştur [88]. Ayrıca Zhu ve arkadaşları, Fin ve İsveç populasyonu ile [133], Zill ve arkadaşları da Alman populasyonu ile yaptıkları çalışmada alkol bağımlıları ve kontrol gruplarını karşılaştırdıklarında bu polimorfizm açısından genotip frekanslarında bir farklılık bulamamışlardır [134].

Ding farklı toplumlarda *NPY* rs16139 polimorfizmi C alel frekans dağılımını araştırmış ve bu alelin coğrafik olarak kuzeyden güneye azalan bir frekansa sahip olduğunu bulmuş ve böyle bir dağılım paterninin coğrafik olarak çeşitlilik gösterdiğini önermiştir [135] [Şekil 1.14].



Şekil1.14. Farklı populasyonlarda *NPY* Leu7Pro polimorfizmi Pro7 alel sıklığı [129]

1.1.8.1.2. *NPY* Geni Promotor Bölge Fonksiyonel Polimorfizmi: rs16147

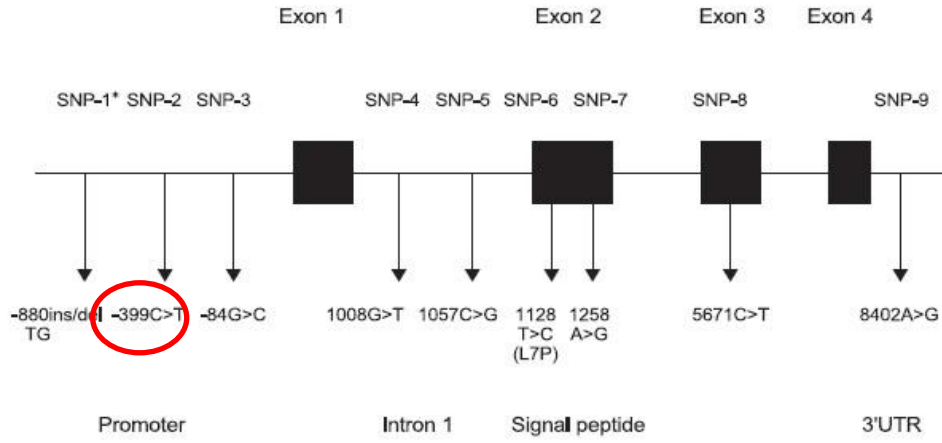
NPY geninin promotor bölgesinde -485. pozisyonunda timin-sitozin, aynı şekilde -399. pozisyonunda sitozin-timin değişikliğine neden olan rs16147'nin *NPY* geninin transkripsiyonel aktivitesini önemli ölçüde kısıtladığı gösterilmiştir [136] [Şekil 1.15].

Bu polimorfizm ölüm sonrası beyin ve lenfoblastlarda *NPY* mRNA ve plazma *NPY* seviyelerini tahmin etmek için gösterilmiştir. Bu çalışmada ölüm sonrası beyin ve lenfoblastlarda C aleli, düşük *NPY* mRNA ifadesiyle ilişkilendirilmiştir [137]. Nöronal ve nöronal kaynaklı olmayan hücreler ile yapılan doku kültürü deneylerinde C aleli taşıyan promotor kontrolünde olan raportör genlerin ifadesinde artış bulunmuştur [136,138]. Ayrıca C aleli, etkili işlem için kritik bir öneme sahip beyin bölgesi olan singulat kortekste yüksek *NPY* ifade seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur [139].

rs16147 tarafından etkilenen plazma *NPY* seviyelerinin, örneklerin alındığı çevresel koşulların etkisi altında olduğu gözükmemektedir [140]. Kan örnekleri dinlenme şartları altında elde edildiğinde rs16147 C aleli taşıyıcılarında azalmış *NPY* plazma seviyeleri bulunurken [137], oldukça stresli, preoperatif koşullar altında elde edilen büyük kan

örnekleminde artmış NPY plazma seviyesi bulunmuştur [113]. Bazı çalışmalarda rs16147 T aleli şizofreni [136] ile C aleli ise depresif hastalıklarla ilişkili bulunurken, bazı çalışmalarda ilişki bulunamamıştır [107, 140,141]. Örneğin Danimarka popülasyonu ile yapılan bir çalışmada rs16147 ile şizofreni, depresyon ya da panik bozukluklar arasında bir ilişki bulunmamıştır [142]. Domschke ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada da rs16147 ile panik bozukluk arasında bir ilişki bulunamamıştır [143].

Vergne ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada çift T aleli taşıyan alkol bağımlılarında günlük daha az ağır içicilik saptanmıştır [18]. İlişkinin yüksek olduğu C/C ve C/T genotipi ile karşılaştırıldığında T/T genotipi daha düşük alkol bağımlılığı şiddeti ve düşük anksiyete belirtileri ile ilişkilendirilmiştir [99].



Şekil 1.15. İnsan *NPY* genini şematik gösterimi ve rs16147 yerleşimi [128]

Alkol bağımlılığı ile ilişkilendirilmiş *NPY* gen polimorfizmlerinin, farklı popülasyon gruplarında oldukça farklı frekans gösterdikleri bilinmektedir. Bu da, farklı popülasyonlarda *NPY* gen polimorfizmlerini tanımlamanın neden önemli hale geldiğini açıklamaktadır.

Bu çalışmada alkol bağımlılığı ile ilgili literatürde en sık çalışılan iki *NPY* gen polimorfizmi olan rs16139 ve rs16147, ilk olarak Türkiye popülasyonunu tanımlayan bir örnekleme çalışılmış ve bu polimorfizmlerin genotip dağılımları ve alel frekanslarını tanımlanmıştır.

2.MATERYAL VE METOT

2.1. Klinik Çalışmalar

2.1.1 Hasta ve Kontrollerin Alkol Bağımlılığı Açısından Değerlendirilmesi

Bu araştırma, alkol bağımlılığı tanısı olan ve alkol bağımlılığı tanısı olmayan sağlıklı kontrol bireyleri üzerinden yürütülmüştür. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı' na gelen ve çalışmaya katılmayı gönüllü olarak kabul eden 142 alkol bağımlılığı tanısı olan ve 102 sağlıklı birey etik kurallar çerçevesinde çalışmaya dâhil edilmiştir. Tüm deneklerden bilgilendirilmiş onamı alınmıştır.

Çalışmaya katılmayı kabul eden deneklerin DSM-IV'e göre tanıları değerlendirilmiş ve tüm deneklerin alkol kullanım özelliklerini saptamak amacıyla envanterler uygulanmış, klinik görüşme yapılmıştır.

Denekler ile yapılan görüşmeler:

- SCID-I (Structured Clinical Interview of Diagnosis-I) : DSM IV'e göre birinci ekseninde yer alan psikiyatrik bozuklukların tanısını belirlemek geliştirilmiş, yapılandırılmış görüşmedir. Alkol bağımlılığı ve eşlik eden birinci eksen psikiyatrik bozukluk tanılarının konması amacıyla uygulanmıştır.
- SCID-II (Structured Clinical Interview of Diagnosis-II) : DSM IV'e göre birinci ekseninde yer alan tanıların belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş, yapılandırılmış görüşmedir. İkinci eksen tanıların belirlenmesi amacıyla uygulanmıştır.
- Sosyodemografik bilgi ve Alkol kullanım özellikleri formu ve
- MATT (Michigan Alkolizm Tarama Testi) : Alkolizm belirtilerinin şiddetinin saptanması amacıyla geliştirilmiş bir testtir. (Kontrol grubuna ve alkol bağımlılığı grubuna şiddetin belirlenmesi amacıyla) uygulanmıştır.

Hasta grubu ile detoksifikasyon dönemi sonrasında, kesilme belirtileri olmadan görüşme yapılmış ve kontrol grubu, herhangi bir psikiyatrik tedavi görmemiş bireylerden oluşturulmuştur. Araştırmaya katılan her bireyde sosyodemografik özelliklerin ve alkol bağımlılığı grubunda da erken/geç başlangıç özellikleri saptanmış ve ayrıca alkol ile ilişkili aile öyküsü de taranmıştır.

2.1.2. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

Deneklerden 5 ml periferik venöz kan alınarak, DNA izolasyonu gerçekleştirilmek üzere etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüplerde +4 °C saklanmıştır.

2.2. Laboratuvar Çalışmaları

2.2.1. Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Fenol-Kloroform Ekstraksiyonu

1. 500 µl 'lik kan örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplere konulur.
2. Üzerlerine 750 µl Tris-EDTA solüsyonu eklenerek çok iyi karışması sağlanır. 2.000 rpm'de 3 dk santrifüjlenir.
3. Üst faz atıldıktan sonra 2. tur yıkama tamponu ile bir kez daha aynı yukarıda bahsedilen işlem tekrarlanır.
4. 3. ve 4. turlar için ise 500 µl Tris-EDTA solüsyonu eklenir ve 12.000 rpm'de 2 dk santrifüjlenir.
5. 4. tur sonunda üst faz atılır ve her bir tüpe;
 - 300 µl Tris-EDTA,
 - 150 µl 1M NaCl
 - 150 µl %10'luk SDS,
 - 100 µl Proteinaz K eklenir.
6. 37°C'de 1 gece bekletilir.
7. Her bir tüpe 450 µl Fenol-Kloroform-İzoamilalkol eklenir ve vorteks yapılır.
8. 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj sonrasında üst faz yeni tüplere aktarılır.
9. 800 µl %100'lik Etil-Alkol eklenir.
10. 2-3 saat -20°C'de bekletildikten sonra 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir ve alkol fazı dökülür.
11. Alkolü tamamen uçurmak için tüpler kapakları açık bırakılarak 37°C'lik kuru blokta bekletilir.
12. DNA'lar 150 µl distile suda çözülerek kullanılacakları güne kadar -20°C'de bekletilir.

Tablo 2.1. Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler

Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler	
10mM Tris-1mM EDTA çözeltisi:	
Tris 25 ml 0,2 M Tris (242g Trizma Baz + 1L distile su; pH:8.0) EDTA 1 ml 0,5 M EDTA (163,6g EDTA + 1L distile su; pH:8.0) Distile su 474 ml	
1M NaCl	%10 SDS
NaCl 1,45 g Distile su 25 ml	SDS 2,5 g Distile su 25 ml
Fenol-Kloroform-İzoamilalkol (25:24:1)	
Fenol 100 ml Kloroform 96 ml İzoamilalkol 4 ml	
%100 Etil Alkol	Proteinaz K (10mg/ml)

2.2.2. İzole Edilen Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektrofrezisi ile Kontrol Edilmesi

İzolasyon sonrasında elde edilen ürünlerin varlığını kontrol etmek için kolay ve hızlı hazırlanması sebebi ile agaroz jellerden yararlanıldı. Genellikle %1 oranında agaroz jel hazırlandı.

1. Çalışmaya başlamadan önce jel kabı iyice temizlenip kurutulup jel dökme kalıbına yerleştirildi. Bu kalıp, düzgün bir yüzeye kondu. Kuyucuk oluşturmak için kullanılan taraklar düzgünce yerlerine yerleştirildi.
2. Jel dökme kabının boyutları ile jelin kalınlığı dikkate alınarak hesaplama yapıldı. 50ml hacmindeki jel kabına % 1 konsantrasyonunda jel dökmek için 0,5 g agaroz tartılıp, erlenmayer içindeki 50 ml elektrofrez tamponuna (1 X TBE) eklendi. Mikrodalga fırında agaroz iyice eriyene kadar ısıtıldı.
3. Jelin içine 10 µl stok EtBr (Etidiyum bromür) solüsyonundan ilave edildi. Etidiyum bromür kuvvetli mutajen ve toksik olduğundan bu boyayı içeren çözeltilerle çalışırken her zaman eldiven kullanıldı.

4. Agaroz çözeltisinin sıcaklığı 45-50 °C'ye (el yakmayacak sıcaklığa) gelinceye kadar soğutuldu.
5. Ilık agaroz çözeltisi hava kabarcığı oluşturulmadan dikkatlice jel dökme kabına döküldü.
6. Jel, oda sıcaklığında yaklaşık 30-45 dakikada polimerize oldu.
7. Jel elektroforez tankına alındı, üzerini örtecek kadar 1 X TBE tamponu ilave edildi. Taraklar dikkatlice çekilerek yükleme yapmak için kuyucuklar oluşturuldu.

2.2.3 Örneklerin Agaroz Jele Yüklmesi ve Yürütülmesi

Kontrol edilmek istenen DNA örnekleri jel yükleme tamponu (Loading dye) ile birlikte yükledi.

Jel yükleme (veya DNA yükleme) tamponu;

Örneğin yoğunluğunu arttırarak DNA'nın kuyucuğa düzgün olarak damlamasını sağlar. Örneği renklendirerek kuyulara yüklenme işlemini basitleştirir. Elektriksel alanda göç hareketinin takip edilmesini kolaylaştırır.

Mikropipet ile 2 µl DNA örneği ile 2 µl yükleme tamponu karıştırılıp toplam 4µl kuyucuklara yüklendi. 100 voltta 20 dakika elektrik akımına maruz bırakılarak yürütüldü.

Jel Syngene Gene Genius Bio Imaging cihazında ultraviyole ışık altında görüntülendi ve jel görüntüleri diskete kaydedildi.

Tablo 2.2. 10X TBE Tamponu ve DNA yükleme tamponu hazırlanması

10 X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) Stok solüsyonu	DNA Yükleme Tamponu (Loading dye) (6X)
108 gr Tris baz (M _a : 121,14, Sigma®) 55 gr borik asit (M _a : 61.83, Sigma®) 40 ml 0,5 M EDTA, pH 8.0(M _a : 372,24,Sigma®) Bir miktar distile su içinde çözüldükten sonra pH 8.0 olarak ayarlanıp solüsyon 1 litreye tamamlandı.	40 gr süzkroz 0,25 gr bromfenol mavisi 100 ml olacak şekilde distile su içinde çözüldü. Ependorf tüplerine paylaştırılarak buzdolabında muhafaza edildi.
1 X TBE (1 litre için)	
100 ml 10 X TBE stok solüsyonu 900 ml distile su	

2.2.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PZR, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'daki dizisi bilinen herhangi bir bölgenin çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan basit ama çok başarılı *in vitro* DNA sentez yöntemidir.

PZR tekniği üç temel basamaktan oluşmaktadır. Bunlar:

1. Denatürasyon: Bu basamakta çoğaltılacak DNA tek zincirli hale getirilene kadar belirli bir süre 90°-95°C'de ısıtılır.
2. Bağlanma (Annealing): İkinci basamakta, sıcaklık derecesi kullanılan primerlere özgül olmak koşuluyla 50°-70°C'lere düşürülür ve primerlerin kalıp DNA'da komplementer dizilere hidrojen bağları ile bağlanması sağlanır.
3. Uzama (Extension): Uzamanın gerçekleştirildiği bu basamakta, ısıya dayanıklı *Taq polimeraz* enzimi ile yaklaşık 72°C sıcaklıkta dNTP'lerin DNA'ya 5' → 3' yönünde bağlanması ve çift zincirli DNA ürününün sentezlenmesi sağlanır.

2.2.4.1. *NPY* rs16139 (+1128 T/C) (Leu7Pro) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması

NPY geninin + 1128. pozisyonunda görülen ve sinyal peptidin 7.pozisyonunda losin-prolin aminoasiti değişimiyle sonuçlanan rs16139 polimorfizmi alelik varyasyonunu incelemek amacıyla 258 bç'lik bir bölge uygun primerler kullanılarak çoğaltıldı [Tablo 2.3.].

Reaksiyon karışımı 0,2 ml'lik ependorf tüplere hazırlandı ve PZR koşulları aşağıdaki gibi uygulanarak Thermal Cycler cihazına konuldu ve amplifiye olan ürünler ileriki çalışmalar için -20 °C de saklandı. [Tablo 2.4.] [Tablo 2.5] Şekil 2.1.'de primerlerin gen üzerindeki yerleşimi gösterilmektedir.

Tablo 2.3. *NPY* geninin (+ 1128 T/C) polimorfik bölgesinin uygun primer dizisi

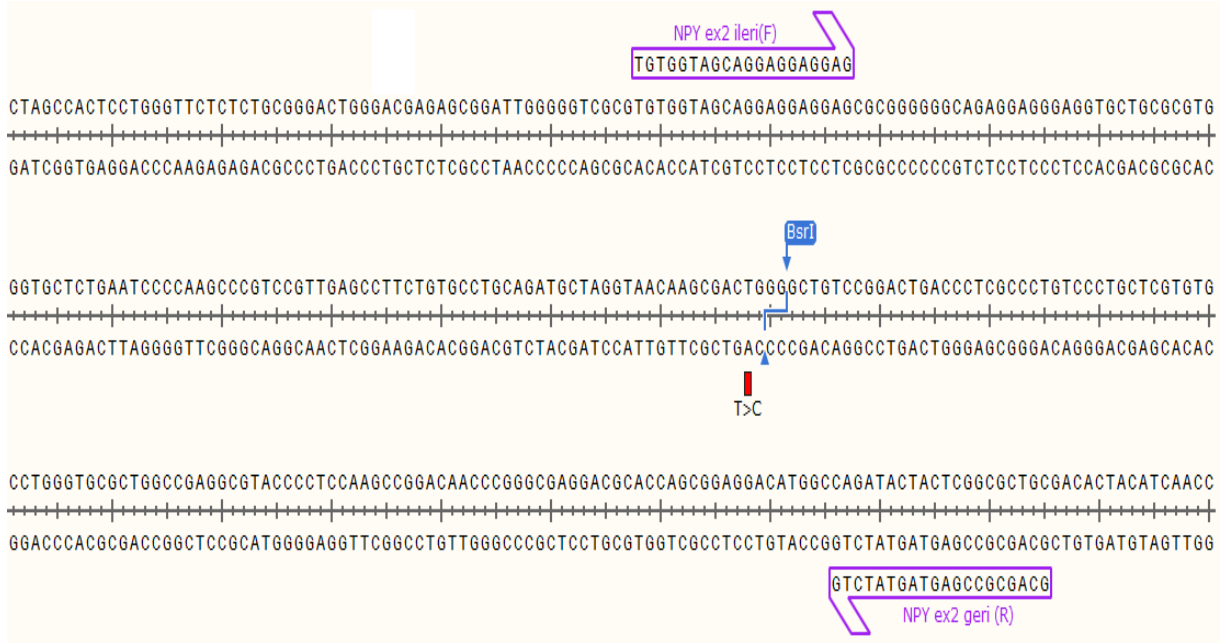
Primerler	5'-3' dizisi	Ürün
<i>NPY</i> ex2F	TGTGGTAGCAGGAGGAGGAG	258bp
<i>NPY</i> ex2R	GCAGCGCCG AGTAGT ATCTG	

Tablo2.4.Optimize Edilen PZR Reaksiyonu Bileşenleri

Reaksiyon Karışımı	Kullanılan Miktar (µl)
10X PZR Tamponu	2,5 µl
MgCl ₂ (25mM)	1,5 µl
dNTP(10mM)	0,25 µl
<i>Taq Polimeraz</i> enzimi	1 µl
Primer 1	1 µl
Primer 2	1 µl
Genomik DNA	2 µl
Distile Su	15,75 µl
Total Hacim	25 µl

Tablo 2.5. Optimize edilen PZR Döngü Koşulları

Basamaklar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94°C	5 dakika	1
Denatürasyon	94°C	45 saniye	32
Bağlanma	62°C	45 saniye	
Uzama	72°C	1 dakika	
Son Uzama	72°C	7 dakika	1
Bekleme	4°C	∞ dk	1



Şekil 2.1. *NPY* geninin (+ 1128 T/C) polimorfik bölgesini içeren nükleotit dizisi ve bu bölge üzerinde uygun ileri-geri primerlerin ve polimorfik bölgeyi içeren (kırmızı kutucuk ile gösterilmiş) *BsrI* enzim kesim noktasının (ACTGG’N) gösterimi.

2.2.4.2. *NPY* rs16147 (-485 T/C) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması

NPY geninin promotor bölgesinde -485. pozisyonunda sitozin-timin değişikliğine neden olan rs16147 polimorfizmini incelemek amacıyla 214 bç’lik bir bölge uygun primerler kullanılarak çoğaltıldı [Tablo 2.6.]. Şekil 2.1.’de primerlerin gen üzerindeki yerleşimi gösterilmektedir.

Reaksiyon karışımı 0,2 ml’lik ependorf tüplere hazırlandı ve PZR koşulları Tablo 2.4 ve Tablo 2.5’deki gibi uygulanarak Thermal Cycler cihazına konuldu ve amplifiye olan ürünler ileriki çalışmalar için -20 °C de saklandı.

Tablo 2.6. *NPY* geninin (-485 T/C) polimorfik bölgesinin uygun primer dizisi

Primerler	5’-3’ dizisi	Ürün
<i>NPY</i> proF	AGCTGCCTCCGACTTGTTCTA	214bp
<i>NPY</i> proR	TGCCAGAGATAGGAGCAGCC	

Agaroz jel elektroforeziyle amplifikasyon kontrolü yapılan örnekler *NPY* (+1128 T/C) için *Bsrl* ve *NPY* (-485 T/C) için *CviK-I* restriksiyon endonükleaz enzimleri ile, üretici firmanın önerilerine uygun olarak kesim reaksiyonuna alındı. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi reaksiyonunda gerekli enzim, tanıma dizisi ve kesim bölgesi, bu enzim için gerekli tampon çözelti, enzimi sağlayan firmalar ve enzimin çalışması için önerilen uygun sıcaklık Tablo 2.7’ de verilmiştir. Her iki enzim için reaksiyon bileşenleri ve miktarları Tablo 2.8’de verilmiştir.

Tablo 2.7. Restriksiyon enzimleri ve özellikleri

Enzim (Time-Saver™ Qualified Enzymes)	Tanıma Dizisi	Tampon Çözelti	Sıcaklık	Üretici Firma
<i>Bsrl</i>	5'... ACTGGN... 3' 3'... TGACCN... 5'	1X NEBuffer 3	65°C	NEB England BioLabs
<i>CviK-I</i>	5'... RG [▼] CY... 3' 3'... YC [▲] GR... 5'	1X NEBuffer 3	37°C	NEB England BioLabs

Tablo 2.8. RFLP reaksiyon bileşenleri ve miktarları

Reaksiyon Karışımı	Kullanılan Miktar (µl)
Tampon (10x)	5 µl
Restriksiyon Enzimi	1 µl
Amplifiye Ürün (PZR ürünü)	7 µl
Distile Su	37 µl
Toplam Hacim	50 µl
Reaksiyon Süresi	*5 dk (<i>Bsrl</i> ...65°C) (<i>CviK-I</i> ...37°C)

*(Time-Saver™ Qualified Enzymes)

2.2.6.1. *NPY* rs16139 Polimorfizminin Belirlenmesi için PZR Ürünlerinin *BsrI* Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

NPY geninin +1128.pozisyonunda görülen T>C polimorfizmini incelemek amacıyla *BsrI* restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak Tablo 2.8'de verilenlere göre reaksiyon gerçekleştirildi.

PZR ile elde edilen 258 bç'lik hedef gen bölgesi *BsrI* restriksiyon enzimi ile kesildi. Bu bölgede timin içeren dizi *BsrI* kesim noktası taşımaktadır [Şekil 2.1]. Timin nükleotitinden sitozin nükleotitine değişimi olan homozigot bireylerde 258 bç'lik tek bant, heterozigot bireylerde 258,124 ve 134 bç'lik üç bant, tanıma bölgesinde timin taşıyan bireylerde 124 ve 134 bç'lik iki bant elde edildi.

Kesim ürününden 30 µl alınarak 2 µl yükleme boyası ile karıştırıldı, %3'lük agaroz jel kuyucuklarına yüklenerek, 45 dakika boyunca 80 Volt'luk elektroforetik alanda yürütülerek bantların ayrılması sağlandı. Oluşan bantlar Syngene Gene Genius Bio Imaging Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi. Fakat beklenenin aksine, 124 ve 134 bç'lik bantlar birbirine çok yakın olduğu için tek bant gibi elde edildi.

2.2.6.2. *NPY* rs16147 Polimorfizminin Belirlenmesi için PZR Ürünlerinin *CviK-I* Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

NPY geni -485.pozisyonunda görülen T>C polimorfizmini incelemek amacıyla, *CviK-I* restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak Tablo 2.8'de verilenlere göre reaksiyon gerçekleştirildi.

PCR ile elde edilen 214 bç'lik hedef gen bölgesi *CviK-I* restriksiyon enzimi ile kesildi. Bu bölgede sitozin içeren dizi *CviK-I* kesim noktası taşımaktadır [Şekil2.2]. Timin nükleotitinden sitozin nükleotitine değişimi olan bireylerde 158 ve 56 bç'lik iki bant, heterozigot bireylerde 214,158 ve 56 bç (jel'de gözükmemektedir) 'lik üç bant, tanıma bölgesinde timin taşıyan bireylerde 214 bç'lik tek bant elde edildi.

Kesim ürününden 30 µl alınarak 2 µl yükleme boyası ile karıştırıldı, % 3'lük agaroz jel kuyucuklarına yüklenerek, 45 dakika boyunca 80 Volt'luk elektroforetik alanda yürütülerek bantların ayrılması sağlandı. Oluşan bantlar Syngene Gene Genius Bio Imaging Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

2.2.7. Otomatik DNA Dizi Analizi

Yapılan restriksiyon kesimlerinin doğruluğunu kontrol etmek amacıyla otomatik dna dizi analizi analizi yapılmıştır.

Zincir sonlandırma metodu ile DNA dizi analizi reaksiyonunda, özgül primerlerin bağlandığı tek zincirli DNA kalıpları kullanılır. Sentez reaksiyonunun durması, zincire DNA uzamasını engelleyecek nükleotid analoglarının katılması ile gerçekleştirilir. Bu zincir sonlandırıcılar, DNA zincir uzamasını sağlayan serbest 3'-OH grupları bulunmayan 2',3'- dideoksinükleozit-5'-trifosfatlardır (ddNTP). dNTP'ler ve dört farklı ddNTP'nin birinden oluşan karışım kullanıldığı zaman, enzim tarafından katalize edilen reaksiyon, ddNTP'nin yapıya katıldığı noktada duracaktır. Bütün bir dizilim, her birinde ayrı bir ddNTP'nin bulunduğu dört ayrı reaksiyon sonucunda elde edilir. Dizi reaksiyonları, EDTA ve formamid ile sonlandırılır, ısıtılarak denatüre edilir.

DNA dizi analizi, Sanger yönteminde kullanılan ddNTP'lerin her bir çeşidinin farklı renkteki bir floresan etiketle işaretlenmesi yolu ile otomatikleştirilmiştir. Bu yöntemde, birbirinden farklı renklerde işaretlenen ddNTP'lerin dördü de aynı reaksiyon tüpüne konulur. Reaksiyon sonucunda oluşan renkli DNA fragmentleri, kapiler tüp içine doldurulan polimerde ayrıştırılır. Yürüme sonucunda ortaya çıkan renkli pikler, lazer okuyucu tarafından saptanarak bilgisayara aktarılır.

DNA dizi analizi için "ABI PRISM Big Dye Version II" reaksiyon kiti kullanılmıştır. Floresan işaretli ddNTP'ler yardımıyla tek zincirli DNA sentezi sırasında DNA'da yer alan nükleotitler farklı floresan boylarla işaretlenecektir. İşaretli ürünler kapillere uygulanmış ve örneklerin DNA dizisi kromatogram analizi yapan programlar (chromas lite) aracılığıyla bilgisayarda kontrol edilmiştir.

2.2.7.1. PZR Ürünlerinin Temizlenmesi

DNA dizi analizi uygulanacak amplifikasyon ürünlerinin, PZR artıklarından temizlenmesi *Exonuclease I / Shrimp Alkaline Phosphatase* kullanılarak gerçekleştirilmiştir

Her bir PZR ürününün temizlenmesi için aşağıdaki karışım hazırlanmıştır:

PZR ürünü	7 µl
<i>Exonuclease 1</i> (10 Ünite/ µl)	1 µl
<i>Shrimp Alkaline Phosphatase</i> (1 Ünite/ µl)	1 µl
Toplam Hacim	9 µl

Tüp içerikleri pipetlenerek karıştırılmış ve ısı döngüleyiciye yerleştirilerek aşağıda program uygulanmıştır:

37°C	20 dakika
80°C	20 dakika
95°C	2 dakika

2.2.7.2 İşaretleme Reaksiyonu

Otomatik DNA dizi analizi reaksiyonu, “ABI PRISM Big Dye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit” reaksiyon kiti ile üretici firmanın öngördüğü koşullar doğrultusunda aşağıda verildiği şekilde yapılmıştır. Bu PZR kitinin özelliği tüm PZR kimyasalları ile beraber, floresan boyalı ddNTP’ler ile Taq DNA Polimeraz enzimini tek bir karışım halinde bulundurmasıdır. “Big Dye Ready Reaction Mix” olarak adlandırılan bu karışıma sadece primer ve temizlenmiş kalıp DNA eklenerek ve reaksiyon başlatıldı.

Her bir dizi analiz reaksiyonu için aşağıdaki karışım hazırlanmıştır:

Kalıp DNA (PZR ürünü)	3 µl
Big Dye reaksiyon karışımı	8 µl
Primer (10 pmol/µl)	0.5 µl
sdH ₂ O	8.5 µl
Toplam Hacim	20 µl

Reaksiyon tüpleri pipetlenerek karıştırılmış ve ısı döngüleyiciye yerleştirilerek aşağıdaki program 25 döngü halinde uygulandı.

96°C	10 saniye
50°C	5 saniye
60°C	4 dakika

Örnek hazırlaması sırasında amplifikasyon ürünü izopropanol çöktürmesi ile reaksiyon artıklarından temizlendi. Bu aşama özellikle reaksiyona girmemiş floresan boyalı ddNTP’lerin uzaklaştırılması açısından önemlidir. İşlem uygun şekilde yapılamazsa kontaminant boyaların da lazer tarafından okunduğu ve analizin hassasiyetini etkilediği bilinmektedir.

Döngüler tamamlandıktan sonra reaksiyondan artan malzemeler, aşağıda belirtilen prosedür takip edilerek ortamdan temizlendi.

1. Her bir tüpe 2 µl 3M sodyum asetat ilave edildi.
2. Tüplere 50 µl soğuk % 95- 100'lük etil alkol ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak 1.5 ml'lik ependorf tüplere aktarıldı.
3. Tüpler 20 dakika -20°C'de bekletildi.
4. 20 dakika 13000 rpm'de santrifüje edilmiş ve süpernatant uzaklaştırıldı.
5. 250 µl soğuk %70'lik etil alkol ilave edildi.
6. 5 dakika 13000 rpm'de santrifüj edildi.
7. Süpernatant uzaklaştırılmış ve pelet oda ısısında kurumaya bırakıldı.
8. Pelet 20 µl formamid ilave edilerek çözülmüş ve vortekslendi.
9. Örnekler 95°C'de 5 dakika inkübe edilerek denatüre edildi.
10. Hazırlanan örnekler kapiller elektroforez sisteminde yürütüldü

2.2.8. İstatistiksel Analizler

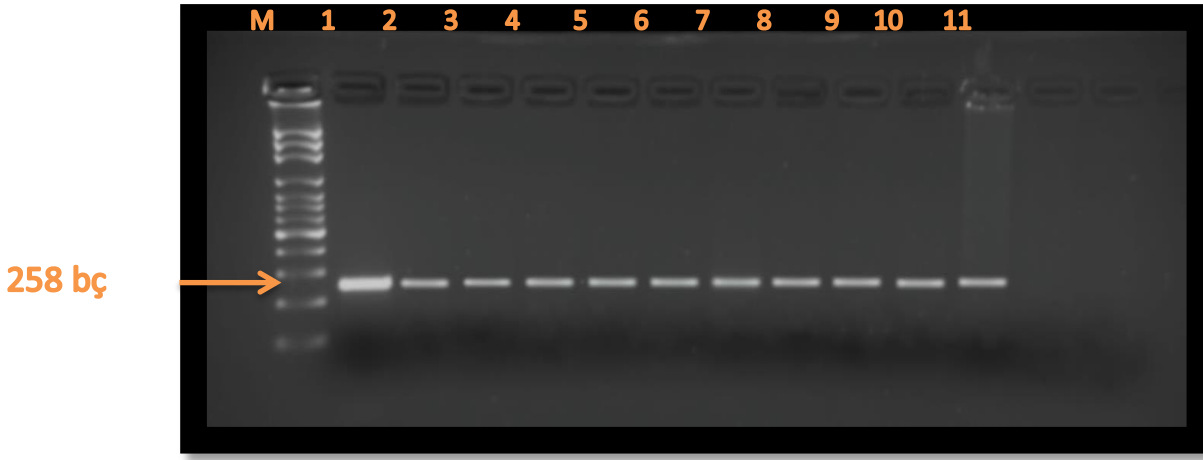
Araştırmamızda, elde edilen verileri değerlendirebilmek için SPSS version 21.0 for Windows (SPSS, Inc, USA) istatistik paket programı kullanılmıştır. Bu araştırmada, rs16139 ve rs16147 tek nükleotit polimorfizmleri için çalışma gruplarımız olan alkol bağımlısı tanısı almış grup ile kontrol grupları arasında *NPY* gen polimorfizm frekansları açısından fark bulunup bulunmadığı Ki-kare (Pearson Ki-kare) ve One way Anova testleri ile değerlendirilmiştir. Farkları $p < 0.05$ olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

3.1.PZR Sonuçları

3.1.1. *NPY* rs16139 (+1128 T/C) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları

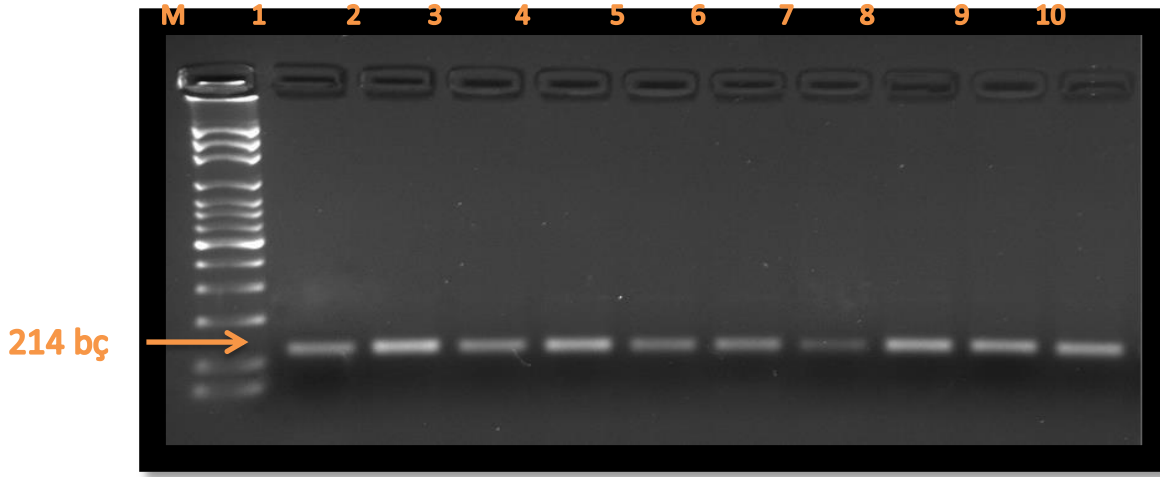
NPY geninin 2. ekzonuna ait +1128 pozisyondaki polimorfizmi içeren nükleotit dizisinin PZR yöntemi ile çoğaltılması sonucu elde edilen ürün, 258 bç büyüklüğünde olup bu ürünün agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 3.1.'de verilmiştir.



ŞEKİL 3.1. *NPY* geninin 2. ekzonuna ait +1188 pozisyonundaki polimorfizmi (T/C) içeren 258 bç'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jelde görüntülenmesi.(M:100 bç'lik belirteç,1-6.Kuyucuklar: Hasta, 7-1. Kuyucuklar: Kontrol)

3.1.2. *NPY* rs16147(-485 T/C) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları

NPY geninin promotor bölgesine ait -485. pozisyondaki polimorfizmi içeren nükleotit dizisinin PZR yöntemi ile çoğaltılması sonucu elde edilen ürün, 214 bç büyüklüğünde olup bu ürünün agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 3.1.'de verilmiştir.



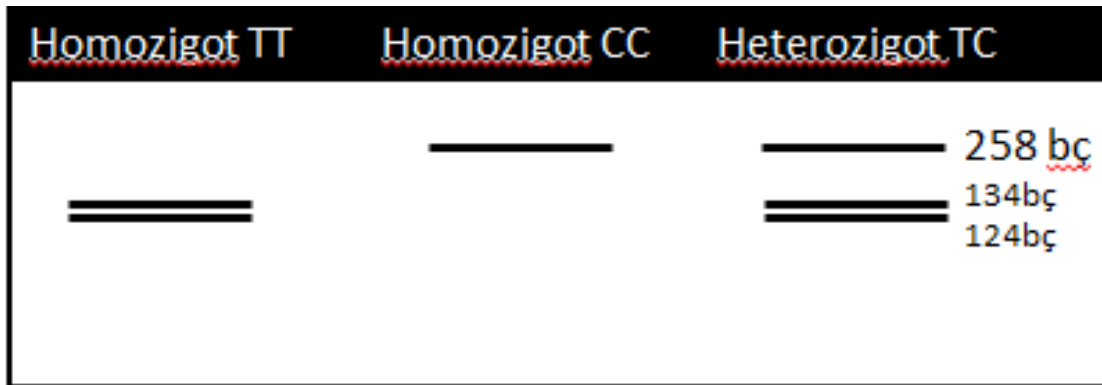
Şekil 3.2. *NPY* geninin promotor bölgesine ait -485 pozisyonundaki polimorfizmi (T/C) içeren 214 bç'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jelde görüntülenmesi (M:100 bç'lik belirteç,1-5.Kuyucuklar: Hasta, 6-10.Kuyucuklar: Kontrol)

3.2. RFLP Sonuçları

Bu çalışma kapsamında, 142 adet alkol bağımlısı tanısı almış (hasta) ve 102 adet sağlıklı bireyin (kontrol) örnekleri, *NPY* geninin +1128. ve -485. Pozisyonundaki polimorfizmler RFLP yöntemi ile incelenmiştir.

3.2.1 *NPY* rs16139 (+1128 T/C) Gen Bölgesinin *BsrI* Kesimi Sonuçları

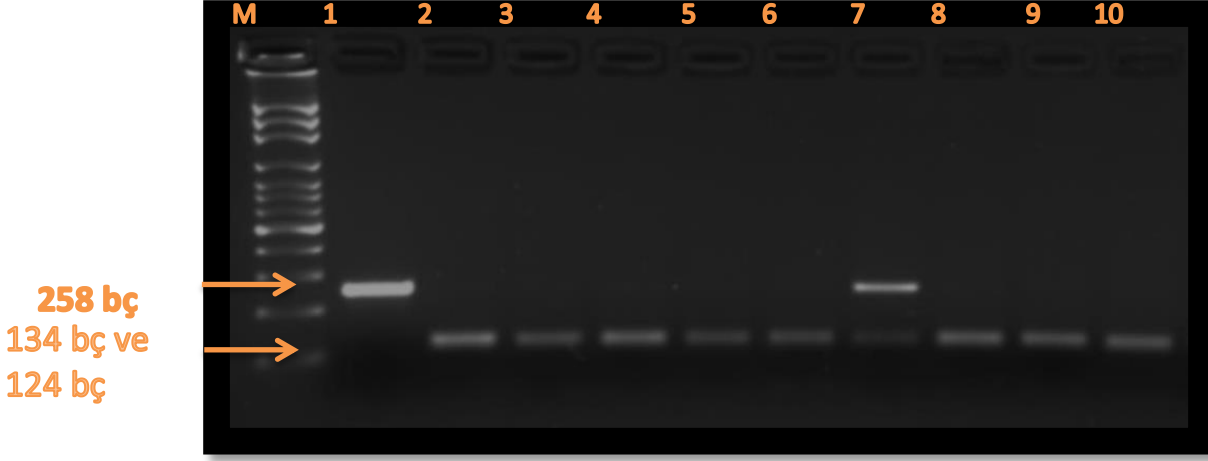
BsrI enzimi ile yapılan kesimler sonucu Şekil 3.3.'te şematik olarak gösterilmiştir.



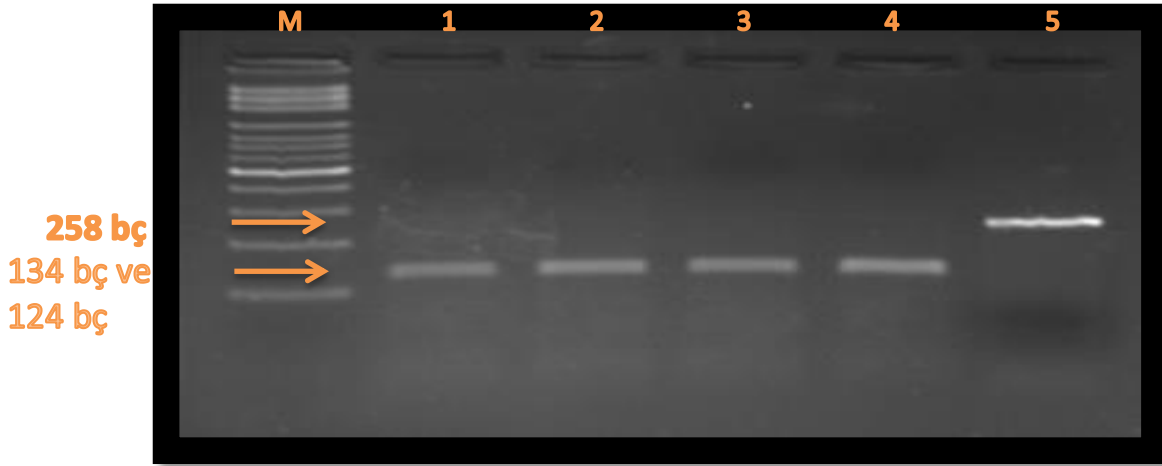
Şekil 3.3. *NPY* (+1128) polimorfizmi *BsrI* kesim sonuçlarının şematik gösterimi

Fragmentlerin jel görüntüleri bu üç genotip açısından değerlendirilmiş ve bireylerin *NPY* (+1128) polimorfizmine ait genotip profilleri belirlenmiştir. Yapılan kesim sonucu

agaroz jel'de görüntüleme yapıldığında 134 bç ve 124 bç birbirlerine çok yakın oldukları için tek bant olarak gözlenmiştir. Şekil 3.4'te hastalar ile yapılan kesim sonuçları, Şekil 3.5'te ise kontrol grubuyla yapılan kesim sonuçları gösterilmiştir.



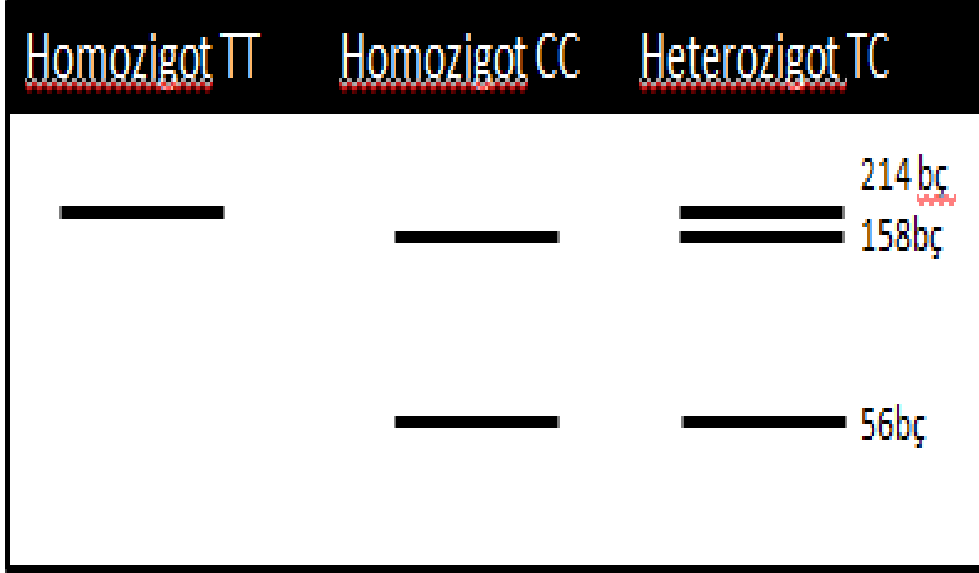
Şekil 3.4. *NPY* geninin (+1128 T/C) bölgesinin *BsrI* enzimi ile kesimi sonucu hastalardan elde edilen RFLP ürünlerinin jelde görüntülenmesi. (M:100 bç'lik belirteç, 1.Kuyucuk: Homozigot CC, 2-6 ve 8-10.Kuyucuklar: Homozigot TT, 7.Kuyucuk: Heterozigot TC).



Şekil 3.5. *NPY* geninin (+1128 T/C) bölgesinin *BsrI* enzimi ile kesimi sonucu kontrol grubundan elde edilen RFLP ürünlerinin jelde görüntülenmesi. (M:100 bç'lik belirteç, 1-4: Homozigot TT, 5: Homozigot CC).

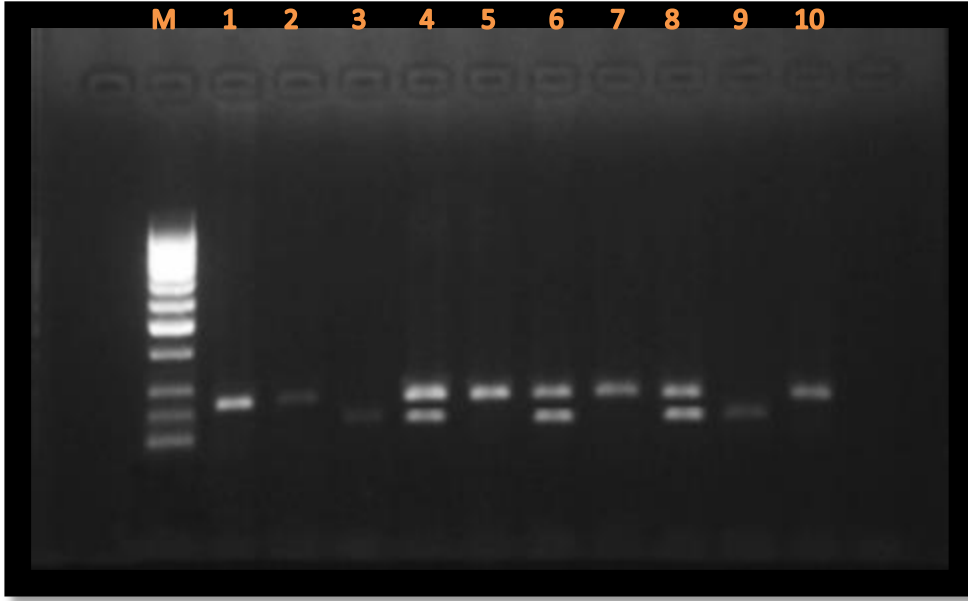
3.2.2. *NPY* rs16147 (-485 T/C) Gen Bölgesinin *CviK-I* Kesimi Sonuçları

CviK-I enzimi ile yapılan kesimler sonucu Şekil 3.6.'te şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.6. *NPY*(-485 T/C) polimorfizmi *CviK-I* kesim sonuçlarının şematik gösterimi

Fragmentlerin jel görüntüleri bu üç genotip açısından değerlendirilmiş ve bireylerin *NPY* (-485 T/C) polimorfizmine ait genotip profilleri belirlenmiştir. Yapılan kesim sonucu agaroz jelde görüntüleme yapıldığında 56 bp'lik ürün gözlenmemiştir. Şekil 3.7' te hastalar ve kontrol grubu ile yapılan kesim sonuçları gösterilmiştir.

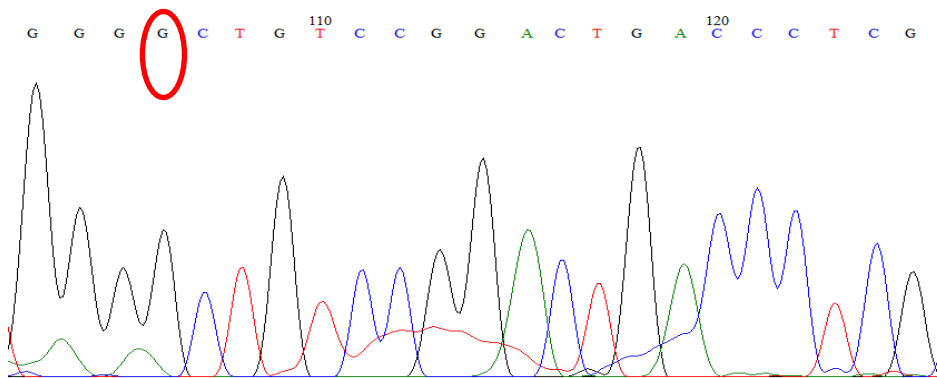


Şekil 3.7. *NPY* geninin (-485T/C) bölgesinin *CviK-I* enzimi ile kesimi sonucu hastalardan (1-5) ve kontrol grubundan (6-10) elde edilen RFLP ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi. (M:100 bç'lik belirteç, 1,2,5,7 ve 10.Kuyucuklar: Homozigot TT ,3 ve 9.Kuyucuklar: Homozigot CC, 4,6 ve 8. Kuyucuklar : Heterozigot TC

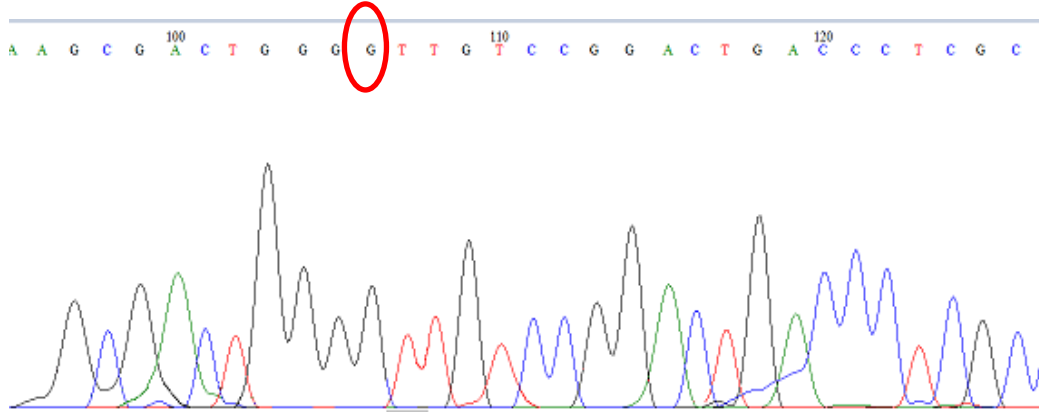
3.3.DNA Dizi Analizi Sonuçları

3.3.1. *NPY* rs16139 (+1128 T/C) Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi Sonuçları

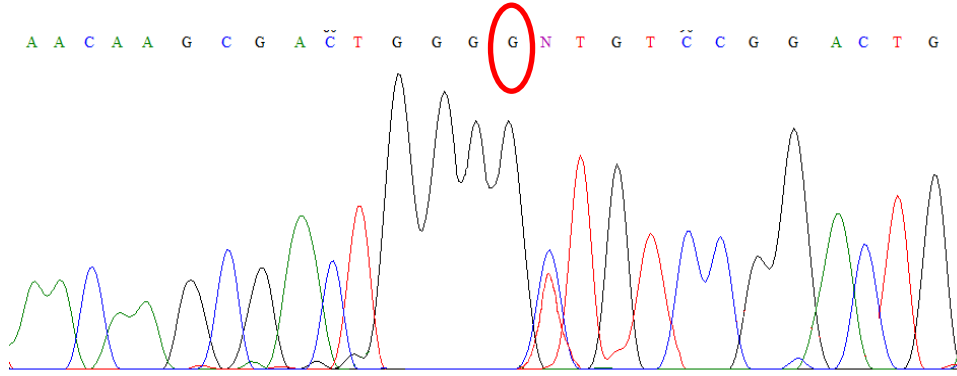
BsrI restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan kesimler sonucu elde edilen verilerin doğruluğu, hasta grubu ve kontrol grubundan rastgele örneklem oluşturularak yapılan DNA dizi analizi ile kontrol edilmiştir.



Şekil 3.8. *NPY* geni 1128. pozisyonda C aleli taşıyan hasta bireye ait DNA dizi analizi kromatogramı



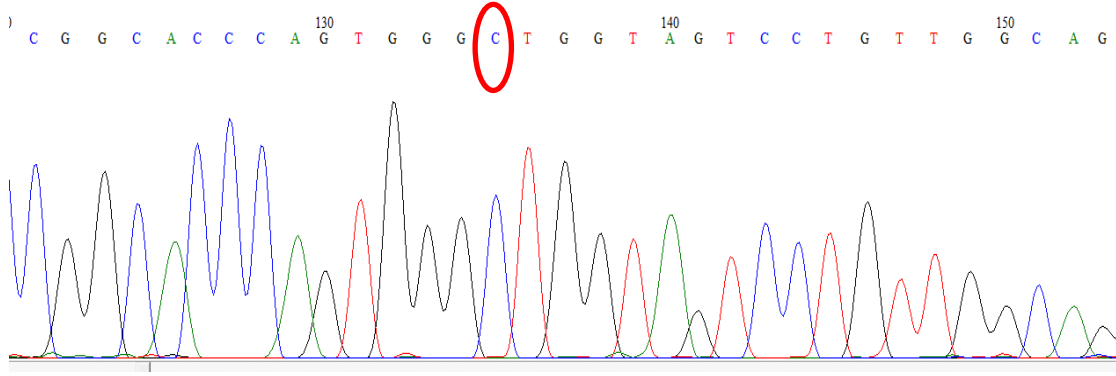
Şekil 3.9. *NPY* geni 1128. pozisyonda T aleli taşıyan kontrol bireye ait DNA dizi analizi kromatogramı



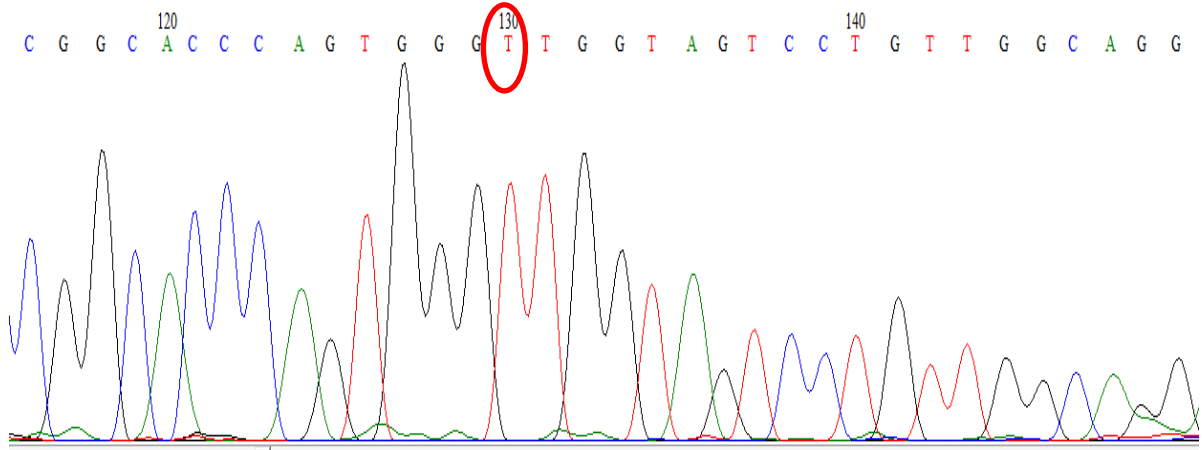
Şekil 3.10. *NPY* geni 1128. pozisyonda T/C aleli taşıyan kontrol bireye ait DNA dizi analizi kromatogramı

3.3.1. *NPY* rs16147(-485 T/C) Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi Sonuçları

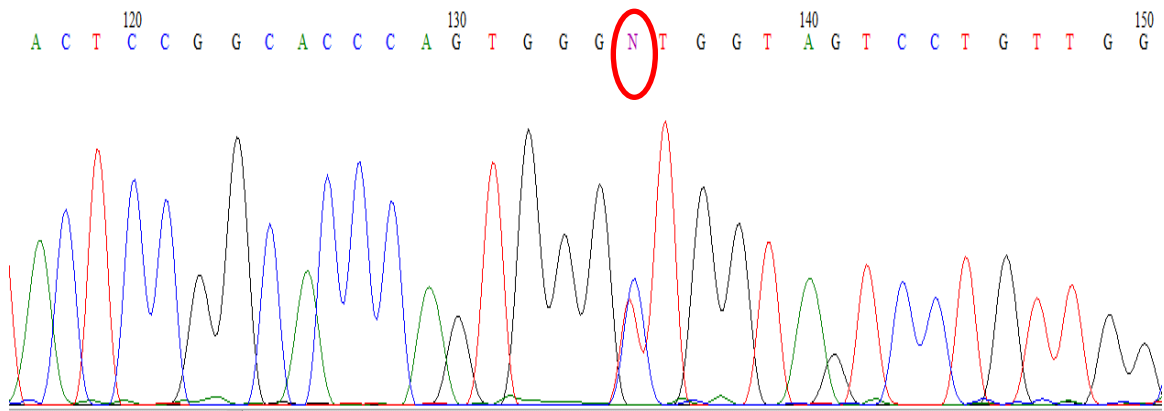
CviK-I restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan kesimler sonucu elde edilen verilerin doğruluğu, hasta grubu ve kontrol grubundan rastgele örneklem oluşturularak yapılan DNA dizi analizi ile kontrol edilmiştir.



Şekil 3.11. *NPY* geni -485. pozisyonda C aleli taşıyan hasta bireye ait DNA dizi analizi kromatogramı



Şekil 3.12. *NPY* geni -485. pozisyonda T aleli taşıyan hasta bireye ait DNA dizi analizi kromatogramı



Şekil 3.13. *NPY* geni -485. Pozisyonda T/C aleli taşıyan hasta bireye ait DNA dizi analizi kromatogramı

3.3.4. Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmaya klinik olarak alkol bağımlısı tanısı almış 142 hasta ve sağlıklı olan 102 kontrol bireyi alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin cinsiyeti erkektir. 142 hasta ve 102 kontrol bireyi *NPY* geni rs16139 (1128 T/C) ve rs16147 (-485 T/C) polimorfizmleri açısından değerlendirilmiş, polimorfizmlere ait genotip ve alel frekansları hasta ve kontrol grubunda belirlenerek karşılaştırılmıştır. Ayrıca bazı hasta ve kontrol grubuna ait bireylere ait veriler (yaş, aile hikayesi, ortalama alkol tüketim miktarı) elde edilemediğinden dolayı çalışmadan çıkartılmış ve geriye kalan 82 hasta ve 81 kontrol grubuna ait birey aile hikayesi, ortalama alkol tüketim miktarları ve alkole başlama yaşı açısından çalışmaya dahil edilmiş ve taşıdıkları polimorfizm ile aralarında anlamlı bir ilişki olup olmadığı karşılaştırılmıştır.

rs16139 polimorfizmi için, 142 hastada genotip dağılımları; 132 (% 92,96) hastada TT, 8 (% 5,63) hastada TC ve 2 (%1,41) hastada CC olarak saptandı. Buna karşılık 102 kontrolde genotip dağılımları; 91(%89,22) kontrol TT, 8 (% 7,84) kontrol TC, 3(%2,94) kontrol CC olarak saptandı. Alkol bağımlısı grup ile kontrol grubu genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) [Tablo 3.1.]

Alel dağılımları açısından hasta (T aleli 272 (%95,77)) ve (C aleli 12 (%4,23)) ve kontrol grubu (190 T aleli (% 93,14)), (14 C aleli (%6,86)) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p>0,05$) [Tablo 3,1].

rs16147 (-485 T/C) polimorfizmi için, 142 hastada genotip dağılımları; 35 hastada (%24,66) TT, 68 hastada (%47,9) TC ve 39 hastada (%27,5) CC olarak saptandı. Buna karşılık 102 kontrolde genotip dağılımları;17 kontrolde TT (%16,7), 69 kontrolde TC (%67,6) ve 16 kontrolde CC (%15,7) olarak saptandı. Alkol bağımlısı grup ile kontrol grubu genotip açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$) [Tablo 3.1].

Alel dağılımları açısından hasta (T aleli 138(%48,6)) ve (C aleli 146(%51,4)) ve kontrol grubu (T aleli103(%50,5) ve C aleli 101(%49,5)) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p>0,05$) [Tablo 3.1]

Tablo 3.1. *NPY* geni rs16139 ve rs16147 polimorfizmlerine ait hasta ve kontrol gruplarının genotip ve alel frekans dağılımları

		Genotipler			Alel	
rs16139	<i>n</i>	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
Hasta	142	132(%92,96)	8(%5,63)	2(%1,41)	272(%95,77)	12(%4,23)
Kontrol	102	91(%89,22)	8(%7,84)	3 (%2,94)	190(%93,14)	14(6,86)
p		0,545			0,304	
		Genotipler			Alel	
rs16147	<i>n</i>	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
Hasta	142	35(%24,66)	68(%47,9)	39(%27,5)	138(%48,6)	146(%51,4)
Kontrol	102	17(%16,7)	69(%67,6)	16(%15,7)	103(%50,5)	101(49,5)
p		0,008			0,133	

rs16139 için; hastalar ve kontroller incelendiğinde CC genotipi ve aynı şekilde C alelli frekansı düşük bulunmuştur.

rs16147 için ise; TC genotipi frekansı hem hastalarda hem de kontrollerde diğer genotiplere göre daha yüksektir. Fakat T ve C aleleri karşılaştırıldığında değerler birbirine çok yakındır.

Hasta ve kontrol grubu olarak çalışmada bulunan genotipleri taranan 60'ı alkol bağımlısı ve 21'i kontrol grubundan olan bireylerin bazı verileri (yaş,aile hikayesi,ortalama alkol tüketim miktarı ve alkole başlama yaşı) elde edilemediğinden dolayı çalışmadan çıkartılmış ve 82 alkol bağımlısı ve 81 kontrol, taşıdıkları polimorfizmler ile aile hikayesi, ortalama alkol tüketim miktarı ve alkole başlama yaşları arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır.

Hastalar ve kontroller arası minimum yaş;18 iken maksimum yaş 65'tir. Hastalar arası ortalama min alkol tüketimi 17ml iken, maksimum tüketim 150 ml'dir.

rs16139 için hastalar ve kontrol grupları arasında genotip ya da alel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır ($p>0,05$) [Tablo 3.2].

Hastalar alkole başlama yaşı 20 yaş baz alınarak,erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı olarak ayrılmıştır. 82 hastanın 21 (% 35,6)'i erken başlangıçlı, 61(% 74,4)'ü geç başlangıçlıdır.

rs16139 için,statistikler genotiplere ve dominant modele (TT:1 ve TC+CC:2) göre yapılmıştır. Taşıdıkları genotip veya dominant modele göre alkole başlama yaşları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (p>0,05) [Tablo 3.2].

Ortalama alkol tüketimi değerlendirildiğinde ise yine genotip ve dominant modele göre ortalama alkol tüketim miktarları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (p>0,05) [Tablo 3.2]

Tablo3.2. rs16139 polimorfizmi genotip frekans değerlerinin alkole başlama yaşı ve ortalama alkol tüketimi açısından dağılımı

rs16139	Hasta / Kontrol n(%) n(%)			p
<u>Genotip ve alel frekansı</u>				
Genotip frekansı	TT 75 / 75 (%91,5) (%92,6)	TC 5 / 5 (%6,1) (%6,2)	CC 2 / 1 (1,5) (%1,5)	0,849
Alel (Dominant model)	TT 75 / 75 (%91,5) (%92,6)		TC+CC 7 / 6 (%8,5)(7,4)	0,184
Alel frekansı	T 155 / 155 (%94,5) (%95,7)		C 9 / 7 (%5,5) (%4,3)	
<u>Alkole başlama yaşı(20)</u>				
	<u>Erken/Gec</u>			
Genotip	TT 19 / 56 (25,3)(%74,7)	TC 1 / 4 (1,3)(3,7)	CC 1 / 1 (0,5)(%1,5)	0,701
Alel (Dominant model)	TT 19 / 56 (%25,3)(%74,7)		TC+CC 2 / 5 (%28,6)(%71,4)	0,579
<u>Ortalama alkol tüketimi</u>				
Genotip	TT 75 (41,45)	TC 5 (55,70)	CC 2 (8,00)	0,052*
Alel (Dominant model)	TT 75 (41,45)		TC+CC 7 (42,07)	0,946*

* One - way Annova

Hasta ve kontrol grupları aile hikayesi açısından değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur ($p=0,007$).

rs16139 polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları arasında taşıdıkları genotipe göre aile hikayeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$) [Tablo3.3.]

Tablo 3.3. rs16139 polimorfizlerinin genotip frekansına göre aile hikayesinin dağılımı

rs16139	Hasta / Kontrol		p
	n(%)	n(%)	
<u>Aile hikayesi</u>	var	yok	
TT	32/17 (%42,7)(%22,7)	43/58 (%57,3)(%77,3)	>0,05
TC	3/2 (%60)(%40)	2/3 (%40)(60)	
CC	0/0	2/1 (%2)(%1)	

rs16147 için, istatistikler genotiplere ve dominant modele (TT:1 ve TC+CC:2) göre yapılmıştır. Taşıdıkları genotip veya dominant modele göre alkole başlama yaşları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$) [Tablo 3.4.].

Ortalama alkol tüketimi değerlendirildiğinde ise yine genotip ve dominant modele göre ortalama alkol tüketim miktarları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır. ($p>0,05$) [Tablo 3.4.].

rs16147 polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları arasında taşıdıkları genotipe göre aile hikayeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$) [Tablo 3.5.].

Tablo 3.4. rs16147 polimorfizmi genotip frekans değerlerinin alkole başlama yaşı ve ortalama alkol tüketimi açısından dağılımı

rs 16147	Hasta / Kontrol			p
	n(%)	n(%)	n(%)	
<u>Genotip ve alel frekansı</u>				
Genotip frekansı	TT 21 / 15 (25,6) (%18,6)	TC 40 / 54 (%48,8) (%66,7)	CC 21 / 12 (%25,6) (%14,8)	0,063
Alel (Dominant model)	TT 21 / 15 (%25,6) (%18,6)	TC+CC 61 / 66 (%74,4) (%81,5)		0,184
Alel frekansı	T 82 / 70 (%46,06) (%48,6)	C 96 / 78 (%52,7) (%47,3)		
<u>Alkole başlama yaşı(20)</u>				
	<u>Erken/Geç</u>			
Genotip	TT 4 / 17 (%19) (%81)	TC 14 / 16 (%35) (%65)	CC 3 / 8 (%14,3) (%85,7)	0,154
Alel (Dominant model)	TT 4 / 17 (%18) (%81)	TC+CC 17 / 44 (%27,9) (%72,1)		0,312
<u>Ortalama alkol tüketimi</u>				
Genotip	TT 21 (43,45)	TC 40 (42,23)	CC 21 (37,17)	0,738*
Alel (Dominant model)	TT 21 (43,45)	TC+CC 61 (40,83)		0,659*

* One way Anova

Tablo 3.5. rs16147 genotip frekans değerlerine göre aile hikayesinin dağılımı

rs16139	Hasta / Kontrol		p
	n(%)	n(%)	
<u>Aile hikayesi</u>			
	var	yok	
TT	11/5 (%52,4)(%33,3)	10/10 (%47,6)(%66,7)	0,214
TC	15/12 (%37,5)(%22,2)	25/42 (%62,5)(77,8)	0,083
CC	9/2 (%42,9)(%16,7)	12/10 (%57,1)(%83,3)	0,124

3.4.TARTIŞMA

Alkol bağımlılığı psikososyal (çocukluk deneyimleri, anne baba tutumları, sosyal politikalar ve kültür gibi) ve biyolojik (biyokimyasal ve genetik) etkenlerin ortaklaşa etkileri sonucunda ortaya çıktığı kabul edilen, ortaya çıkan olumsuz sonuçlara rağmen, bireyin alkol alımı üzerindeki kontrolünün kaybı, bu nedenle bozulan sosyal ve mesleki işlevsellik ile karakterize, kronik seyir gösteren bir bozukluktur [2,56].

Alkolizm; neden olduğu ağır ruhsal ve bedensel hastalıklar yanında, kişiler arası ilişkilerin bozulmasında, aile içi sorunların artmasında, yasal problemler, intihar olayları, trafik ve iş kazalarında başta gelen etkenlerden biridir. Ayrıca, meydana getirdiği hastalıklar sonucunda hospitalizasyon, işgücü ve potansiyel kayıplar nedeniyle ekonomik zarara yol açmakta olup bu yönleri ile bir Halk Sağlığı sorunu olma özelliğine sahiptir.

Batı toplumlarında alkol kullanımına bağlı ortaya çıkan sosyal sorunlar, alkolün psikiyatrik ve fiziksel sonuçların gölgeleyecek boyutlara ulaşmıştır [6]. Ülkemizde alkol bağımlılığının sıklığının diğer birçok ülkeden daha düşük olduğu tahmin edilmekle birlikte, kişi başına alkol kullanımı oranı 1960'lı yıllardan itibaren giderek artış göstermektedir [31]. Alkol bağımlılığı tanısı için belirlenmiş kesin ölçütler olmasına karşın, farklı özellikler taşıyan hastaların ve hastalığın alt tiplerinin ayırt edilmesine yönelik kesinleşmiş kriterler mevcut değildir. Alt tiplerin belirlenmesi hastalığın ortaya çıkışı ile ilgili süreçlerin anlaşılmasına ve alt tiplere özgü tedavi yaklaşımlarının geliştirilebilmesine olanak sağlayacaktır. Mevcut alt tiplendirme girişimleri arasında hastalığı, alkol bağımlılığının başlangıç yaşına, alkol alımının örüntüsüne, bireylerde gözlenen kişilik özelliklerine, ek tanılara, hastalık seyrine göre sınıflandırmaya çalışan modeller sayılabilir [144].

Bağımlılığın gelişmesinde genetik yatkınlık, sosyal çevre, stres, ruh sağlığı, hastanın yaşı ve cinsiyeti önemli risk faktörlerindedir [8]. Özellikle, genetik risk faktörleri, alkol etiolojisinde önemli rol oynamaktadır [9]. Alkol bağımlılığının gelişmesinde kalıtsal bileşenlerin önemi ortada olmasına rağmen, tek bir biyolojik veya genetik nedenin bozukluğa yol açması mümkün görünmemektedir. Daha çok, birden fazla genetik ve biyolojik etkenin çevreyle etkileşimi sonucunda bozukluğun son risk düzeyi belirleniyor olabilir. Alkolizme yatkınlık oluşturan belirleyiciler, belki hastalığa neden olan genlerin yakınında aynı kromozom üzerinde yer alan başka genlerin ürünü olup, hastalığa yatkınlıkla ilişkileri tamamen rastlantısal olabilir; ya da bu belirleyiciler alkolizm riskini artıran etiyolojik düzeneklerin içinde doğrudan yer alıyor olabilir [59].

Kişilerin sahip oldukları bireysel bağımlılık risklerini saptamak, etkili tedavi ve önleme programları geliştirmek için alkol bağımlılığının genetik temellerini anlamak gereklidir. Bu nedenle son yıllarda hastalıklar ile gen polimorfizimleri arasındaki bağlantıyı ortaya çıkarmak ve hastalıklara ilişkin aday genleri tespit etmek, hastalığa tanı koymada ve tedavi yollarını belirlemede önemli bir yol gösterici olarak karşımıza çıkmaktadır.

Alkol bağımlılığının genetik yönleri son yıllarda çalışılmış ve aday genlerle ilgili önemli bilgiler edinilmiştir. Alkol bağımlılığı ile ilgili sorumlu aday genlerden bir tanesi de nöropeptit Y (*NPY*) genidir [13]. Kantitatif özellik lokusları, linkaj haritalama çalışmaları, transgenik çalışmalar ve mutant farelerle yapılan çalışmalar *NPY*'nin alkol tüketimine olan etkisinin önemine dikkat çekmiştir ve bu çalışmalar sonucunda prepro-*NPY* genindeki genetik varyasyonların alkol bağımlılığı kalıtımında rol oynayabileceği düşünülmektedir [15]. Çeşitli populasyonlarda yapılan çalışmalar, *NPY* geninde gözlenen rs16139 ve rs16147 polimorfizmlerinin alkol bağımlılığı riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir [16,17,18].

Alkol bağımlılığı ile rs16139 polimorfizminin ilişkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalar rs16139 C alelinin alkol bağımlılığı için bir risk faktörü olabileceğini belirtirken [16, 17; 13] bazıları da alkolizme yatkınlık oluşturabileceğini fakat alkolizm başlangıcını geciktirebileceğini belirtmişlerdir [88].

Doğu Finlandiya orta yaş erkek populasyonu ile yapılan bir çalışmada TT genotipinin sahip bireylerle, C aleli taşıyan bireyler karşılaştırıldığında, C aleli taşıyan bireylerde % 34 daha fazla alkol tüketimi saptanmıştır ve 889 kişilik örnekleme genotip dağılımlarını % 88.9 TT, % 10.7 TC ve % 4 CC olarak bulmuşlardır [145].

Tam tersine, bazı çalışmalar, Kafkas populasyonu ya da Asya populasyonunda ve özellikle Japon populasyonunda P7 alelinin alkolizm ile ilişkili olmadığını göstermektedir [133;134].

Ayrıca Zhu ve arkadaşları Fin ve İsveç populasyonu ile, Zill ve arkadaşları da Alman populasyonu ile yaptıkları çalışmada alkol bağımlıları ve kontrol gruplarını karşılaştırdıklarında bu polimorfizm açısından genotip frekanslarında bir farklılık bulamamışlardır.

Lappalainen ve arkadaşlarının alkol bağımlılığı ile ilgili yapmış olduğu ve A.B.D'de geniş bir örneklem üzerinden yürütülen çalışmada T aleli frekansı % 93,7 iken C aleli frekansı % 6,3 bulunmuştur ve C alelinin alkol bağımlılığı için risk faktörü olabileceğini savunmuştur.

Bu tez çalışması kapsamında, Türkiye popülasyonunu tanımlayan bir örnekleme *NPY* gen polimorfizmleri (rs16139, rs16147) araştırılmış ve bu polimorfizmlerin genotip dağılımları ve alel frekansları tanımlanmıştır. Önceki yıllarda başka popülasyonlarda yapılan polimorfizm çalışmalarında çoğunlukla TT genotipi ve T alelinin frekansı daha yüksek bulunmuştur ve C alelinin alkol bağımlılığında risk faktörü olabileceği savunulmuştur. Lappalainen ve arkadaşlarının % 5,0-5,5 , Kauhanen ve arkadaşlarının % 4,0 ve Ilveskoski ve arkadaşlarının % 5,2 olarak bulunduğu C alel frekansı ile paralel olarak bizim çalışmamızda da C alel frekansı % 4,23-8,68 olarak bulunmuştur. T aleli literatürle paralel olarak yüksek frekansta bulunmasına rağmen Koehnke ve ark.; Lappalainen ve ark. ve Mottagui-Tabar ve ark.'nın bulgularının tersine ve Zhu ve arkadaşları ve Zill ve arkadaşları'nın bulgularına paralel olarak C aleli varlığının alkol tüketimi, alkole başlama yaşı ve aile hikayesiyle arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

rs16139 polimorfizminin sıklığı farklı etnik gruplar arasında çeşitlilik göstermektedir. C aleli Fin popülasyonunda % 14, Alman popülasyonuna % 6 iken Japon popülasyonunda hiç rastlanmamıştır.

Türk popülasyonu ile yapılan bu çalışmada hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ve çalışma grubumuzda C alelinin varlığı alkol tüketimine, aile hikayesi varlığına ve alkole başlama yaşına etki etmemektedir.

rs16147 ise *NPY* geni promotor bölgede yer aldığından ve protein sentezini etkilediğinden dolayı birçok çalışmada üzerinde durulmuş ve birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Fakat alkol bağımlılığı ile ilgili risk faktörü olabileceği düşünülen bu polimorfizm ile ilgili literatürde popülasyon ile ilişkilendirilmiş çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Mottagui-Tabar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CC genotipi hastalarda 162, kontrollerde 36, TT genotipi hastalarda 135, kontrollerde 52 ve CT genotipi hastalarda 269, kontrollerde 87 kişide rastlanırken, T aleli hastalarda 539 kişide, kontrollerde 191 kişide, C aleli hastalarda 593 kişide, kontrollerde 159 kişide rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda da hastalarda 35 TT, 68 TC ve 39 CC genotipine, kontrollerde 17 TT, 69 TC ve 16 CC genotipine rastlanırken, hastalarda T aleli frekansı 138, C aleli 146 ve kontrollerde T aleli 103 ve C aleli 101 olarak saptanmıştır. Bu bulgular Mottagui-Tabar ve arkadaşlarının bulgularıyla paralel olarak bulunmuştur. Hastalar ve kontroller arası genotip frekansları karşılaştırıldığında

aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Son yıllarda yapılan bir çalışmada, Vergne ve arkadaşların iki kopya T aleli taşıyan alkol bağımlılarında günlük daha az ağır içicilik saptanmıştır. İlişkinin yüksek olduğu C/C ve C/T genotipi ile karşılaştırıldığında T/T genotipi daha düşük alkol bağımlılığı şiddeti ve düşük anksiyete belirtileri ile ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda T ya da C aleli taşımayanların alkol tüketim miktarı, aile hikâyesi ve alkole başlama yaşıyla arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Alkol bağımlılığında genetik ilişkilerin çalışılması zorluklar içermektedir ve örnek seçimi, genetik karışım, bölgesel farklılıklar ve çevresel etkileşimler gibi faktörlerce oldukça kompleks hale gelmektedir. Kompleks genetik etiyojolojiye sahip hastalıklarda genotipik asosiasyonun yapılmasında, hastalığın klinik fenotiplerinin hassas ayırımı önem taşır. Fenotipik yapısı tam olarak sınıflandırılıp ayrıştırılmamış heterojen hastalıklarda yürütülecek genetik çalışmalarda genetik etiyojoloji açısından araştırılacak belirteçlerin gücü düşük olacaktır. Buradan yola çıkarak, hem heterojen fenotipik yapı gösteren hem de karmaşık genetik özellikleri barındıran alkol bağımlılığında, ileriki çalışmalarda *NPY* geninin hastalığın alt fenotipleri ile ilişkilerinin değerlendirilmesi bu çalışmanın alkol bağımlılığının etiyojijisi konusunda değerli bilgiler verecektir.

Ayrıca farklı alt tipler (ör. Erken-Geç başlangıçlı) için genetik etiyojijinin aydınlatılması farklı popülasyonlarda alkol bağımlılığı gelişme riskini azaltmaya yönelik stratejilerin geliştirilmesini kolaylaştıracaktır.

Sonuç olarak, bizim çalışmamız her iki polimorfizm için Türkiye popülasyonunu karakterize etmede bir başlangıç adımı olarak görülebilir. Bu polimorfizmlerin alkol bağımlılığı üzerindeki rolünü aydınlatmak için, daha geniş bir popülasyonda çalışmaya katılanların klinik özelliklerinin dikkatlice karakterize edilmesi, alkolik ve alkolik olmayan bireylerde içme ve içmeme davranışlarının aile öyküsü dikkate alınarak araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın, alkol bağımlılığının patogenezini anlamamızda ve yüksek riskli bireylerin erken tanısını kolaylaştırmada, ayrıca mevcut koruyucu yöntemlerin ve ilaçların tasarlanması için yeni hedeflerin belirlenmesinde, başarılı gelişmelere yardımcı olacağını umuyoruz.

KAYNAKLAR

- [1] Bell, J.,_Alcohol use disorders. *Alcohol Medicine*, Volume 40, Issue 12, Pages 637-639,**2012** .
- [2] Koob, G.F., Theoretical frameworks and mechanistic aspects of alcohol addiction: alcohol addiction as a reward deficit disorder., *Current Topic Behavior Neuroscience.*, 13, 3e30.Koob, G.F., Volkow, N.D., **2013**.
- [3] Aksaray,G., Erol, S., Yelken, B.,Kaptanoğlu,C., Bal,C., Alkol bağımlısı olan erkek hastalarda alkolizm alt tipleri Düşünen Adam: *Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi*, 15(1):30-33. ,**2002**.
- [4] Goodwin, D.W., Alcoholism and heredity. A review of a hypothesis, *Gene Psychiatry*, 36:57-61,**1979**.
- [5] Cloninger, C.R., Bohman, M., Sigvardsson, S., Inheritance of alcohol abuse: cross-fostering analysis of adopted men., *Archieve of Gene Psychiatry* 38:861-868, **1981**.
- [6] Işık, A., Çöl, M., Dalgıç, N., Park Sağlık Ocağı Bölgesinde Alkolizm Prevalansı, *The Journal of the Faculty of Medicine*, vol. 47 : 505-518, **1994**.
- [7] World Health Organization .Global strategy to reduce the harmful use of alcohol. <http://www.who.int/substance_abuse/publications/alcohol/en/index.html>. **2010**
- [8] Gorini, G., Harris, R.A., Mayfield, R.D., Proteomic Approaches and Identification of Novel Therapeutic Targets for Alcoholism, *Neuropsychopharmacology*, 39: 104-130,**2013**.
- [9] Schuckit, M.A., An overview of genetic influences in alcoholism, 36: S5–14. A review that summarizes recent findings from human research regarding genetic influences in alcohol abuse and dependence, *Journal of Substant Abuse Treatment* ,**2009**.
- [10] Dalşmış, A.,Koçuk, N., Akvardar, Y., Alkol Bağımlılığında Biyomedikal görüşler, Genetik, Görüntüleme, Marker Belirleme Çalışmaları, *Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*;3(3):48-53. **2010**.
- [11] Gordis, E., Tabakoff, B., Goldman, D., Berg, K., Finding the gene(s) for alcoholism, *The Journal of the American Medical Association*, 263:2094–2095,**1990**.
- [12] Taylor,A., Wang, K.S., Association between DPYSL2 gene polymorphisms and alcohol dependence in Caucasian samples, *Journal of Neural Transmission*, **2013**.

- [13] Mottagui-Tabar, S., Prince, J.A., Wahlestedt, C., Zhu, G., Goldman, D., Heilig, M., A novel single nucleotide polymorphism of the neuropeptide Y (NPY) gene associated with alcohol dependence, *Alcohol Clinical Experimental Research*, 29:702-707, **2005**.
- [14] Cavadas, C., Silva, A.P., Mosimann, F., Cotrim, M.D., Ribeiro, C.A., Brunner, H.R., Grouzmann, E.J., NPYr regulates catecholamine secretion from human adrenal chromaffin cells, *Clinical Endocrinology Metabolism*. Dec;86(12):5956-63, **2001**.
- [15] Carr, L.G., Foroud, T., Bice, P., Gobbett, T., Ivashina, J., Edenberg, H., Lumeng, L., Li, T.K., .A quantitative trait locus for alcohol consumption in selectively bred rat lines, *Alcohol Clinical Experimental Research*, 22:884–887, **1998**.
- [16] Köhnke, M. D., Schick, S., Lutz, U., Willecke, M., Köhnke, A. M., Kolb, W., & Gaertner, I. Severity of alcohol withdrawal symptoms and the T1128C polymorphism of the neuropeptide Y gene. *Journal of Neural Transmission*, 109, 1423-1429, 2002.
- [17] Lappalainen, J., Kranzler, H. R., Malison, R., Price, L. H., Van Dyck, C., Rosenheck, R. A., Cramer, J., Southwick, S., Charney, D., Krystal, J., & Gelernter, J. A functional neuropeptide Y Leu7Pro polymorphism associated with alcohol dependence in a large population sample from the United States., *Archives of General Psychiatry*, 59, 825–831. **2002**.
- [18] Vergne, D., Anton, R., Voronin, K., Tiffany, A., Myrick, H., Canders, C., Klaybor, G., Randall, P., & Schacht, J. Neuropeptide Y rs16147 single nucleotide polymorphism is associated with heavy drinking and severity of alcohol dependence. *Posters. Paper 28. Samuel B. Guze Symposium on Alcoholism*. Retrieved from <http://digitalcommons.wustl.edu/guzeposter2010/28>. **2010**.
- [19] Kalyoncu, A., Mirsal, H., Alkol Kullanım Bozuklukları, *Psikiyatri Dünyası* , 4:22-30. **2000**.
- [20] NIAAA. Alcohol use disorders. <http://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/alcohol-use-disorders> (Aralık, **2013**)
- [21] Schuckit, M.A., Alcohol-use disorders. *Lancet*;373:492-501. **2009**
- [22] Koob, G.F., Alcoholism: allostasis and beyond, *Alcohol Clinical Experimental Research*.;27:232-243, **2003**.
- [23] Sigvardsson, S., Bohman, M. & Cloninger, C. R. Replication of the Stockholm Adoption Study of alcoholism. Confirmatory cross-fostering analysis, *Archieve of General Psychiatry*, 53, 681-7. **1996**.
- [24] Cloninger, C. R., Neurogenetic adaptive mechanisms in alcoholism. *Science*, 236, 410-6, **1987**.

- [25] Babor, T. F., Hofmann, M., Delboca, F. K., Hesselbrock, V., Meyer, R. E., Dolinsky, Z. S. & Rounsaville, B. Types of alcoholics, I. Evidence for an empirically derived typology based on indicators of vulnerability and severity, *Archives of General Psychiatry*, 49, 599-608, **1992**.
- [26] Hesselbrock, V. Female alcoholism: new perspectives-findings from the COGA Study, Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* , 20, 168A-171A, **1996**.
- [27] Penick, E. C., Nickel, E. J., Powell, B. J., Liskow, B. I., Campbell, J., Dale, T. M., Hassanein, R. E. & Noble, E., The comparative validity of eleven alcoholism typologies, *Journal of Studies on Alcohol and Drugs* , 60, 188-202, **1999**.
- [28] Von Knorring, L., Von knorring, A. L., Smigan, L., Lindberg, U. & Edholm, M. Personality traits in subtypes of alcoholics, *Journal of Studies on Alcohol and Drugs* , 48, 523-7. **1987**.
- [29] Buydens-Branchey, L., Branchey, M. H. & Noumair, D. Age Of Alcoholism Onset. I. Relationship To Psychopathology. *Archives of General Psychiatry*, 46, 225-30, **1989**.
- [30] Wetterling, T., Veltrup, C., John, U. & Driessen, M. Late Onset Alcoholism, *Eur Psychiatry*, 18, 112-8. **2003**.
- [31] Dünya Sağlık Örgütü, Global Status Report On Alcohol, Geneva, World Health Organization, Department Of Mental Health And Substance Abuse, **2004**.
- [32] Dünya Sağlık Örgütü, Status Report On Alcohol And Health In 35 European Countries, 2013.
- [33] Moller, L., Matic, S. & World Health Organization. Regional Office For, E. Best Practice In Estimating The Costs Of Alcohol Recommendations For Future Studies, Copenhagen, Denmark, Who Regional Office For Europe, **2010**.
- [34] Dünya Sağlık Örgütü, Status Report On Alcohol and Health, **2011**.
- [35] Robins, L. N., Helzer, J. E., Weissman, M. M., Orvaschel, H., Gruenberg, E., Burke, J. D., Jr. & Regier, D. A. Lifetime Prevalence Of Specific Psychiatric Disorders In Three Sites, *Archives of General Psychiatry*, 41, 949-58, **1984**.
- [36] Kessler, R. C., Nelson, C. B., McGonagle, K. A., Edlund, M. J., Frank, R. G. & Leaf, P. J. The epidemiology of co-occurring addictive and mental disorders: implications for prevention and service utilization. *American Journal of Orthopsychiatry*, 66, 17-31. **1996**.
- [37] Grant, B. F. & Dawson, D. A., Age at onset of alcohol use and its association with DSM-IV alcohol abuse and dependence: results from the National

- Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey. *Journal of Substant Abuse*, 9, 103-10. **1997**.
- [38] Compton, W. M., Thomas, Y. F., Stinson, F. S. & Grant, B. F. Prevalence, correlates, disability, and comorbidity of DSM-IV drug abuse and dependence in the United States: results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions, *Archives of General Psychiatry*, 64, 566-76, **2007**.
- [39] Harford, T. C., Parker, D. A., Grant, B. F. and Dawson, D. A. Alcohol Use and Dependence among Employed Men and Women in the United States in 1988. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 16: 146–148. doi: 10.1111/j.1530-0277.1992.tb01357, **1992**.
- [40] DİE, Türkiye İstatistik yıllığı, Statistical year book of Turkey. Ankara, Devlet İstatistik Enstitüsü. **2009**.
- [41] Özel, M.A., Güleç, C., Kronik alkolizmin epidemiyolojisi üzerine bir çalışma, 23. Ulusal Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Kongresi, İstanbul, **1987**.
- [42] Yemez, B., Uçku, R., Tunca, Z ve ark., Alkol kullanım bozukluğu belirleme testi ile alkol kullanım bozukluğunun yaygınlığının araştırılması. 30. Ulusal Psikiyatri Kongresi, Bilimsel Çalışmalar Kitabı, Kayseri, s. 181-185. **1994**.
- [43] Turan, M., Çilli, A.S., Aşkın, R ve ark. CAGE testi ile alkol kullanımı üzerine epidemiyolojik bir çalışma, *Klinik Psikiyatri*, 2: 217-221, **1999**.
- [44] Türkcan, A., Türkiye'de Alkol kullanımı ve bağımlılığının yaygınlığı üzerine bir gözden geçirme, *Türk Psikiyatri Derg*, 10: 310-318, **1999**.
- [45] Akvardar Y, Türkcan A, Çakmak D. Prevalence of alcohol use in Istanbul, *Psychological Reports*; 92: 1081-1088, **2003**.
- [46] Arıkan, Z., Coşar, B., Işık, A., Alcoholism prevalence in a district of Ankara, *Kriz Dergisi*; 4: 93-100, **1996**.
- [47] Kılıç, C., *Türkiye ruh sağlığı profili*. Eksen tanıtım ltd., Ankara, 77-93. **1998**.
- [48] Ceylan, M.E., Türkcan A: *Alkol ve madde kullanım bozuklukları*, 2.Cilt, 1. Kitap, 1-64, **2003**.
- [49] World Health Organisation, Country Profiles, Turkey. http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/profiles/tur.pdf, **2013**.
- [50] Tural, Ü., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı Dönem V Ders Notları, **2009**.
- [51] Kuş, S., *Alkol Kontrolü Stratejileri*, Tütün ve Alkol Piyasası Düzenleme Kurumu Ankara, **2012**.

- [52] Türkcan, A., Alkolün Biyolojik Etkileri, Farmakolojisi, Emilimi, Dağılımı, Metabolizması ve Organ Sistemleri Üzerine Etkileri, *Türkiye Klinikleri Journal of Psychiatry-Special Topics*;3(3):30-6, **2010**.
- [53] Heath, A. C., Bucholz, K. K., Madden P. A., Dinwiddie, S., Slutske, W. S., Bierut, L. J., et al., Genetic and environmental contributions to alcohol dependence risk in a national twin sample: Consistency of findings in women and men. *Psychological Medicine*, 27, 1381-1396, **1997**.
- [54] Kendler, K. S., Heath, A. C., Neale, M. C., Kessler, R. C., & Eaves, L. J. A population-based twin study of alcoholism in women, *Journal of American Medical Association*, 268, 1877-1882, **1992**.
- [55] Hesselbrock, M. N. Genetic determinants of alcoholic subtypes. In H. Begleiter, & B. Kissin (Eds.). *The genetics of alcoholism* (pp.40-69). New York: Oxford University Press, **1995**.
- [56] Eşel E., Alkol Bağımlılığına Yatkınlığın Biyolojik Belirleyicileri, *Türk Psikiyatri Dergisi*, 14(1): 6071, **2003**.
- [57] Yenigün M., Alkol tüketimi ve tıp, *Hasekidergisi*, <http://www.hasekidergisi.com/sayilar/20/2006-3-1.pdf>, **2006**.
- [58] Kendler, K.S., Prescott, C.A., Neal, M.C. ve ark., Temperance board registration for alcohol abuse in a national sample of Swedish male twins, born 1902 to 1949, *Archives of General Psychiatry*, 54: 178-184, **1997**.
- [59] Schuckit, M.A., Biological markers in alcoholism, *Prog Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 10: 191-199, **1986**.
- [60] Coşkunol, H., Altıntoprak, E., Alkol Kullanımının Genetik Yönleri, *Klinik Psikiyatri*, 2:222-229, **1999**.
- [61] Agarwal, D.P., Geodde, H.W., Alcohol metabolism, alcohol intolerance and alcoholism, *Biochemical and pharmacogenetic approaches*, Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, s.184., **1990**.
- [62] Kops, M., *From genes to therapy: A study on how genetics can help identifying novel targets for alcohol dependence*, Master thesis, Utrecht University Master programme Neuroscience and Cognition, Behaviour Neuroscience, **2009**.
- [63] Michie, N., Hesselbrock, Victor M., Hesselbrock & Karen G. Chartier: Genetics of Alcohol Dependence and Social Work Research: Do They Mix?, *Social Work in Public Health*, 28:3-4, 178-193, **2013**.
- [64] Walters, G. D. The heritability of alcohol abuse and dependence: a meta-analysis of behavior genetic research. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 28(3), 557-584, **2002**.

- [65] Cloninger, C.R., Recent advances in family studies of alcoholism, *Genetics and alcoholism*, HW Goedde, DP Agarwal (Ed), New York, Liss AR, s.47-60,**1987**.
- [66] Hesselbrock, V., Bauer, L.O., Hesselbrock, M.N ve ark. Neuropsychological factors in individuals at high risk for alcoholism. Recent developments in alcoholism. M Gallanter (Ed),New York, Plenum Press, s.21-40,**1991**.
- [67] NIAAA.,<http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Social/Module2Etiology%26NaturalHistory/Module2.html> (Aralık,**2013**).
- [68] Agrawal, A., & Lynskey, M. T. Are there genetic influences on addiction: evidence. from family, adoption, and twin studies. *Addiction*, 103, 1069-1081,**2008**.
- [69] Edenberg, H. J. & Foroud, T. .Genetics and Alcoholism., *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 10, 487–494 ,**2013**.
- [70] Ferguson, R.A., Goldberg, D.M., Genetic markers of alcohol abuse. *Clinical Chimical Acta*; 257(2):199-250,**1997**.
- [71] Goldman, D., Oroszi, G., Ducci, F.: The genetics of addictions: uncovering the genes. *Natinal Reviews of Genetics*, 6:521-532, **2005**.
- [72] Morozova, T., et al,The genetic basis of alcoholism: multiple phenotypes, many genes, complex networks, *Genome Biology*, 13:239 , **2012**.
- [73] Yan, J., Aliev, F., Webb, B. T., Kendler, K. S., Williamson, V. S., Edenberg, H. J., Agrawal, A., Kos, M. Z., Almasy, L., Nurnberger, J. I., Schuckit, M. A., Kramer, J. R., Rice, J. P., Kuperman, S., Goate, A. M., Tischfield, J. A., Porjesz, B. and Dick, D. M. ,Using genetic information from candidate gene and genome-wide association studies in risk prediction for alcohol dependence, *Addiction Biology*, doi: 10.1111/adb.12035 ,**2013**.
- [74] Kendler, K.S., Neale, M.C., Heath, A.C., Kessler, R.C., Eaves,L.J., A twin family study of alcoholism in women.*Journal of the American Psychiatric Association*,151(5): 707-15.,**1994**.
- [75] Heath, A.C., Martin, N.G., The inheritance of alcohol sensitivity and of patterns of alcohol use, *Alcohol, Supplies* 1:141-5,**1991**.
- [76] Clifford, C.A., Hopper, J.L., Fulker, D.W. ve ark., A genetic and enviromental analysis of the twin study of alcohol use, anxiety and depression, *Genetic Epidemiology*, 1:63-79,**1984**.
- [77] Pedersen,W., Mental Health sensation seeking and drug use patterns: A longitudinal study, *British Journal of Addiction*, 86:195-204,**1991**.

- [78] Rietschel & Treutlein, The Genetics of Alcohol Dependence, *Annals of the New York Academy of Sciences* 1281,39-70, **2013**.
- [79] Rundio, Jr. A., Understanding Alcoholism, *Nursing Clinics of North America*, 48,385–390,**2013**.
- [80] Cederbaum, A., Alcohol Metabolism, *Clinics in Liver Disease*, Volume 16, Issue (4),Pages 667-685, **2012**.
- [81] Anonim,<http://www.pitt.edu/~super1/lecture/lec25521/029.htm> (Ocak,**2014**).
- [82] Schreiber, A., Alcoholism, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology Oral Radiology*,; 92:127-31, **2001**.
- [83] Mayfield, R.D., Harris, R.A., Schuckit, M.A., Genetic factors influencing alcohol dependence, *British Journal of Pharmacology*; 154:275-287,**2008**.
- [84] Köhnke, M.D., Approach to the genetics of alcoholism:A review based on pathophysiology, *Biocheical Pharmacology* ,75:160-177,**2008**.
- [85] Şengul, C.,Herken, H., Genetikten Epigenetiğe, *Anadolu Psikiyatri Dergisi*; 10:239-245, **2009**.
- [86] Tatemoto, K., Carlquist, M. & Mutt, V. Neuropeptide Y - a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide, *Nature* , 296, 659–660,**1982**.
- [87] Lindell, S.G., Schwandt, M.L., Sun, H., Sparenborg, J.D., Bjork, K., Kasckow, J.W. et al, Functional *NPY* variation as a factor in stress resilience and alcohol consumption in rhesus macaques, *Archives of General Psychiatry*; 67:423-431,**2010**.
- [88] Ilveskoski, E., Kajander, O.A., Lehtimaki, T., Kunnas, T., Karhunen, P.J.,Heinala, P., Virkkunen, M., Alho, H., Association of neuropeptide Y polymorphism with the occurrence of type 1 and type 2 alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* , 25:1420 –1422, **2001**.
- [89] Kalsi, G.,Prescott, C., Kendler, K.S., Riley B.P., Unraveling the molecular mechanisms of alcohol dependence,*Trends in Genetics* ,Vol. 25, Issue 1, pp,49-55,**2009**.
- [90] Tatemoto, K. Neuropeptide Y: History and Overview. In M. C. Michel (Ed.), *Handbook of Experimental Pharmacology, Vol 162: Neuropeptide Y and Related Peptides* (pp. 1-21). Heidelberg: Springer-Verlag, **2004**.
- [91] Kaipio, K. *Neuropeptide Y at the Cellular Level. Studies on PreproNPYL7P Polymorphism and the Mitochondrial Form of NPY*. (Doctoral dissertation). Retrieved from Annales Universitatis Turkuensis. (D 850),**2009**.

- [92] Kose, S., Gulec, M.Y., Ozalmete, O.A., Ozturk, M., Gulec H, Sayar K. Plasma neuropeptide Y levels in medication naive adolescents with major depressive disorder, *Klinik Psikofarmakoloji Bulteni*; 20:132-138, **2010**.
- [93] Criscione, L., Wyss, P., Stricker-Krongrad, A., Brunner, L., Miller, J., Crossthwaite, A., et al., The pharmacology of neuropeptide Y (NPY) receptor-mediated feeding in rats characterizes better Y5 than Y1, but not Y2 or Y4 subtypes, *Regulator Peptides*, 75-76:363-371, **1998**.
- [94] Gehlert DR. Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding and obesity. *Neuropeptides*; 33:329-338, **1999**.
- [95] Rasmusson, A.M., Southwick, S.M., Hauger, R.L., Charney, D.S., Plasma neuropeptide Y (NPY) increases in humans in response to the alpha(2) antagonist yohimbine, *Neuropsychopharmacology*; 19:95-98, **1998**.
- [96] Heilig, M., The NPYsystem in stress, anxiety and depression. *Neuropeptides*; 38:213-224, **2004**.
- [97] Bhaskar, L. V., Thangaraj, K., Shah, A. M., Pardhasaradhi, G., Praveen Kumar, K., Reddy, A. G., Papa Rao, A., Mulligan, C. J., Singh, L., & Rao, V. R. Alelic variation in the NPY gene in 14 Indian populations. *Journal Of Human Genetics*, 52(7), 592-598, **2007**.
- [98] Wahlestedt, C., & Heilig, M. Neuropeptide Y and Related Peptides. In F. E. Bloom & D. J. Kupfer (Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* (pp. 543-551). New York, NY: Raven Press, **1995**.
- [99] Vaht M., *Effects Of Serotonin Transporter Promoter Polymorphism (5-Httlpr) And Neuropeptide Y Gene Variants On Alcohol Use In Young Adults*, Master's thesis, University of Tartu Department of Psychology, Tartu, **2012**.
- [100] Lindner., D, Van Dieck, J., Merten, N., Morl, K., Gunther, R., Hofmann H.J., Beck-Sickinger, A.G., GPC receptors and not ligands decide the binding mode in neuropeptide Y multireceptor/multiligand system. *Biochemistry*; 47:5905-5914, **2008**.
- [101] Reuss, S., Hurlbut, E.C., Speh, J.C., Moore, R.Y., Neuropeptide Y localization in telencephalic and diencephalic structures of the ground squirrel brain, *American Journal of Anatomy*, 188:163-174, **1990**.
- [102] Protas, L., Qu, J., & Robinson, R. B., Neuropeptide Y: Neurotransmitter or Trophic Factor in the Heart? *News in Physiological Sciences*, 18, 181-185, **2003**.
- [103] Gülsün, M., Tamam, L., Özçelik, F., NPY ve Stres İlişkisi, *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry*; 4(1):14-36, **2012**.

- [104] Patel, D., & Patel, N. Review Of *NPY* And *NPY* Receptor For Obesity. *The Internet Journal of Pharmacology*, 8(2). Retrieved from <http://www.ispub.com/journal/the-internet-journal-of-pharmacology/volume-8-number-2/review-of-ntp-and-ntp-receptor-for-obesity.html>,**2010**.
- [105] Jia, C., Liu, Z., Liu, T., & Ning, Y. The T1128C Polymorphism of Neuropeptide Y Gene in a Chinese Population. *Archives of Medical Research*, 36, 175–177.,**2005**.
- [106] Morgan, C.A., 3rd, Wang, S., Southwick,S.M., Rasmusson, A., Hazlett, G., Hauger, R.L et al., Plasma neuropeptide-Y concentrations in humans exposed to military survival training, *Biological Psychiatry*,47:902-909,**2000**.
- [107] Heilig, M., Zachrisson, O., Thorsell, A., Ehnvall, A., Mottagui-Tabar, S., Sjogren, M., et al., Decreased cerebrospinal fluid neuropeptide Y (NPY) in patients with treatment refractory unipolar major depression: preliminary evidence for association with preproNPYgene polymorphism, *J Psychiatr Res*; 38:113-121, **2004**.
- [108] Mickey, B.J., Zhou, Z., Heitzeg, M.M., Heinz, E., Hodgkinson, C.A., Hsu D.T., Langenecker, S.A., Love, T.M., Pecina M, Shafir T, Stohler CS, Goldman D, Zubieta JK. Emotion processing, major depression, and functional genetic variation of neuropeptide y. *Archives of General Psychiatry*.;68(2):158–166, **2011**.
- [109] Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. Central nervous system control of food intake, *Nature*, 404, 661-671, **2000**.
- [110] Kuo, L.E., Kitlinska, J.B., Tilan, J.U., Li, L., Baker, S.B., Johnson MD et al., Neuropeptide Y acts directly in the periphery on fat tissue and mediates stress-induced obesity and metabolic syndrome, *National Medicine* ,13:803-811,**2007**.
- [111] Kaye, W.H., Berrettini, W., Gwirtsman, H., George, D.T., Altered cerebrospinal fluid neuropeptide Y and peptide YY immunoreactivity in anorexia and bulimia nervosa, *Archives of General Psychiatry*,47:548-556,**1990**.
- [112] Abe, K., Kuo, L., Zukowska, Z., Neuropeptide Y is a mediator of chronic vascular and metabolic maladaptations to stress and hypernutrition, *Experimental Biological Medicine (Maywood)*, 235:1179-1184, **2010**.
- [113] Shah, S.H., Freedman, N.J., Zhang, L., Crosslin, D.R., Stone, D.H., Haynes, C., et al. Neuropeptide Y gene polymorphisms confer risk of early-onset atherosclerosis, *PLoS Genetics*, 5:e1000318, **2009**.
- [114] Thiele, T. E., Marsh, D. J., Ste Marie, L., Bernstein, I. L., & Palmiter, R. D., Ethanol consumption and resistance are inversely related to *NPY* levels, *Nature*, 396, 366–369,**1998**.

- [115] Ehlers, C. L., Li, T. K., Lumeng, L., Hwang, B. H., Somes, C., Jimenez, P., & Mathe, A. A. Neuropeptide Y levels in ethanol-naive alcohol-preferring and nonpreferring rats and in Wistar rats after ethanol exposure, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22, 1778-1782, **1998**.
- [116] Gilpin, N. W., Stewart, R. B., Murphy, J. M., Li, T. K., & Badia-Elder, N. E. Neuropeptide Y reduces oral ethanol intake in alcohol-preferring (P) rats following a period of imposed ethanol abstinence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27, 787–794, **2003**.
- [117] Spence, J. P., Liang, T., Habegger, K., & Carr, L. G. NPY exhibits reduced mRNA expression in alcohol-naive iP rats compared with iNP rats in multiple brain regions. *Neuroscience*, 131, 871–876, **2005**.
- [118] Thiele, T. E., Koh, M. T., & Pedrazzini, T. Voluntary alcohol consumption is controlled via the neuropeptide Y Y1 receptor, *The Journal of Neuroscience*, 22(RC208), 1–6, **2002**.
- [119] Thorsell, A., Rimondini, R., & Heilig, M. Blockade of central neuropeptide Y (NPY) Y2 receptors reduces ethanol self-administration in rats. *Neuroscience Letters*, 332, 1–4, **2002**.
- [120] Francès, F., Guillen, M., Verdù, F., Portolès, O., Castellò, A., Sorlí, J. V., & Corella, D. The 1258 G>A polymorphism in the neuropeptide Y gene is associated with greater alcohol consumption in a Mediterranean population, *Alcohol*, 45(2), 131-136, **2011**.
- [121] Baker, E., Hort, Y. J., Ball, H., Sutherland, G. R., Shine, J., & Herzog, H. Assignment of the human neuropeptide Y gene to chromosome 7p15.1 by nonisotopic in situ hybridization, *Genomics*, 26, 163–164, **1995**.
- [122] Minth, C. D., Bloom, S. R., Polak, J. M., & Dixon, J. E. Cloning, characterization, and DNA sequence of a human cDNA encoding neuropeptide tyrosine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81, 4577–4581, **1984**.
- [123] Mains, R.E., Eipper, B.A., Neuropeptide Y, *American Society for Neurochemistry*, **2012**.
- [124] Mitchell, et al., Effect of an SNP on Trafficking and Secretion of NPY. *Journal of Neuroscience*, 28(53):14428 –14434, **2008**.
- [125] Eaton, K., Sallee, F. R., & Sah, R. Relevance of Neuropeptide Y (NPY) in Psychiatry. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7, 1645–1659, **2007**.
- [126] Wetherill, L., Schuckit, M. A., Hesselbrock, V., Xuei, X., Liang, T., & Foroud, T. Neuropeptide Y receptor genes are associated with alcohol dependence, alcohol withdrawal phenotypes, and cocaine dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32, 2031–2040, **2008**.

- [127] Ciccocioppo, R., Gehlert, D. R., Ryabinin, A., Kaur, S., Cippitelli, A., & Heilig, M., Stress-related neuropeptides and alcoholism: CRH, NPY, and beyond. *Alcohol*, 43, 491–498, **2009**.
- [128] Ding, B., Kull, B., Liu, Z., Mottagui-Tabar, S., Thonberg, H., Gu, H. F., Brookes, A. J., Grundemar, L., Karlsson, C., Hamsten, A., Arner, P., Ostenson, C. G., Efendic, S., Monne, M., von Heijne, G., Eriksson, P., & Wahlestedt, C. Human neuropeptide Y signal peptide gain-of-function polymorphism is associated with increased body mass index: possible mode of function. *Regulatory Peptides*, 127, 45-53, **2005**.
- [129] Pesonen, U. NPY L7P polymorphism and metabolic diseases. *Regulatory Peptides*, 149, 51-55, **2008**.
- [130] Kallio, J., Pesonen, U., Kaipio, K., Karvonen, M. K., Jaakkola, U., Heinonen, O. J., Uusitupa, M. I. J., & Koulu, M. Altered intracellular processing and release of neuropeptide Y due to leucine 7 to proline 7 polymorphism in the signal peptide of preproneuropeptide Y in humans, *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15, 1242–1244, **2001**.
- [131] Kallio, J., Pesonen, U., Jaakkola, U., Karvonen, M. K., Helenius, H., & Koulu, M. Changes in diurnal sympathoadrenal balance and pituitary hormone secretion in subjects with Leu7Pro polymorphism in the prepro-neuropeptide, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88, 3278–3283, **2003**.
- [132] Jaakkola, U., Koulu, M., Karvonen, M. K., Seppälä, H., Pesonen, U., Vahlberg, T., & Kallio, J. Impact of the Leu7Pro polymorphism of preproNPY on diurnal NPY and hormone secretion in type 2 diabetes. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 115, 281–286, **2007**.
- [133] Zhu, G., Pollak, L., Mottagui-Tabar, S., Wahlestedt, C., Taubman, J., Virkkunen, M., Goldman, D., & Heilig, M. NPYLeu7Pro and alcohol dependence in Finnish and Swedish populations. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27, 19–24. **2003**.
- [134] Zill, P., Preuss, U. W., Koller, G., Bondy, B., & Soyka, M. Analysis of single nucleotide polymorphisms and haplotypes in the neuropeptide Y gene: No evidence for association with alcoholism in a German population sample. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(3), *Special issue: Alcohol and adolescent brain development*, 430-434, **2008**.
- [135] Ding B. Distribution of the NPY1128C allele frequency in different populations. *J Neural Transm*;110:1199–1204, **2003**.
- [136] Ito, M., Arai, M., Kato, S., Ogata, Y., Furukawa, A., Haga, S., Ujike, H., Sora, I., Ikeda, K., & Yoshikawa, T. Association between a novel polymorphism in the promoter region of the neuropeptide Y gene and schizophrenia in humans. *Neuroscience Letters*, 347, 202-204, **2003**.

- [137] Zhou, Z., Zhu, G., Hariri, A. R., Enoch, M.-A., Scott, D., Sinha, R., Virkkunen, M., Mash, D. C., Lipsky, R. H., Hu, X.-Z., Hodgkinson, C. A., Xu, K., Buzas, B., Yuan, Q., Shen, P.-H., Ferrell, R. E., Manuck, S. B., Brown, S. M., Hauger, R. L., Stohler, C. S., Zubieta, J.-K., & Goldman, D. Genetic variation in human *NPY* expression affects stress response and emotion. *Nature*, 452, 997-1001, **2008**.
- [138] Buckland, P. R., Hoogendoorn, B., Coleman, S. L., Guy, C. A., Smith, S. K., & O'Donovan, M. C. Strong bias in the location of functional promoter polymorphisms. *Human Mutation*, 26(3), 214-223, **2005**.
- [139] Drevets, W. C., Savitz, J., & Trimble, M. The subgenual anterior cingulate cortex in mood disorders. *CNS Spectrums*, 13, 663-681., **2008**.
- [140] Sommer, W. H., Lidström, J., Sun, H., Passer, D., Eskay, R., Parker, ., S. C. J., Witt, S. H., Zimmermann, U. S., Nieratschker, V., Rietschel, M., Margulies, E. H., Palkovits, M., Laucht, M., & Heilig, M.. Human *NPY* promoter variation rs16147 as a moderator of prefrontal *NPY* gene expression and negative affect. *Human Mutation*, 31(8), E1594-1608, **2010**.
- [141] Dannlowski, U. *Neurogenetics of emotion processing in major depression*. (Doctoral dissertation). Retrieved from http://miami.uni-muenster.de/servlets/DerivateServlet/Derivate-5684/diss_dannlowski.pdf, **2010**.
- [142] Lindberg, C., Koefoed, P., Hansen, E. S., Bolwig, T. G., Reffeld, J. F., Møllerup, E., Jørgensen, O. S., Kessing, L. V., Werge, T., Haugbøl, S., Wang, A. G., & Woldbye, D. P. D.. No association between the -485 C>T polymorphism of the neuropeptide Y gene and schizophrenia, unipolar depression or panic disorder in a Danish population. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 113(1), 54-58, **2006**.
- [143] Domschke, K., Dannlowski, U., Hohoff, C., Ohrmann, P., Bauer, J., Kugel, H., Zwanzger, P., Heindel, W., Deckert, J., Arolt, V., Suslow, T., & Baune, B. T. Neuropeptide Y (NPY) gene: Impact on emotional processing and treatment response in anxious depression. *European Neuropsychopharmacology: The Journal Of The European College Of Neuropsychopharmacology*, 20(5), 301-309, **2010**.
- [144] Gürel Ş.C., Uluğ, B., Demir, B., Alkol Bağımlılığında Tanı ve Alt Tipleri *Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics* ,3(3):7-14, **2010**.
- [145] Kauhanen J, Karvonen MK, Pesonen U, Koulu M, Tuomainen TP, Uusitupa MI, Salonen JT (2000) Neuropeptide Y polymorphism and alcohol consumption in middle-aged men. *American Journal of Medical Genetics* 93:117–121

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: HAYRİYE AKEL

Doğum Yeri: ZONGULDAK

Medeni Hali: BEKAR

E-posta: hayriyeakel@hacettepe.edu.tr

Adresi: H.Ü. Beytepe Kampüsü Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji A.B.D

Eğitim

Lise: Kdz.Ereğli Anadolu Lisesi

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce- Advanced (ileri)

İş Deneyimi Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi

Deneyim Alanları

Moleküler genetik, genetik polimorfizm, hastalık mekanizmaları

Tezden Üretilmiş Proje ve Bütçesi (-)

Tezden Üretilmiş Yayınlar (-)

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar (-)