

YASEMİN OYACI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2020

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

MADDE KULLANIM BOZUKLUĞU OLAN HASTALARDA
EPİGENETİK FARKLILIKLARIN ARAŞTIRILMASI VE
KLİNİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

YASEMİN OYACI

DANIŞMAN
SACİDE PEHLİVAN

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Yasemin OYACI



ITHAF

Sevgili Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bana yol gösteren, hem akademik hem de hayat tecrübelerini benimle paylaşan tez danışmanım, sevgili hocam Prof. Dr. Sacide Pehlivan'a,
Tez çalışmamı yapabilmem için tüm olanakları sağlayan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fatma Savran Oğuz'a, eğitimimdeki katkılarından dolayı tüm Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma ve klinik olanaklarıyla destek olan Doç. Dr. Pınar Çetinay Aydın'a,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda çalışmama vesile olup beni destekleyen Alp Şen Vakfı'na,
Dostluklarıyla her zaman yanımda olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sekans Laboratuvarı çalışanlarına ve tecrübelerini paylaşan tüm Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına,
Okumanın ne kadar önemli olduğunu öğreten başta dedem İbrahim Sami Fidan olmak üzere, her kararında beni destekleyen, varlıklarıyla bana güç veren babam Oğuzhan Fidan, annem Veliye Nursel Fidan ve kardeşim Onurhan Fidan'a,
Sevgi ve ilgilerini esirgemeyen ikinci ailem Türkan Oyacı ve Yusuf Ziya Oyacı'ya,
Tanıştığımız andan beri sevgi, saygı ve desteğiyle beni onurlandıran sevgili eşim Gökhan Oyacı'ya,
Teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2019-34316

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XİV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XV
ÖZET	XVİİİ
ABSTRACT.....	XİX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. MADDE BAĞIMLILIĞI.....	2
2.1.1. Madde Kullanım Bozukluğu Sınıflandırması.....	2
2.1.2. Madde Kullanım Bozukluğunda Temel Kavramlar.....	3
2.1.3. Madde Kullanım Bozukluğu DSM-5 Tanı Kriterleri.....	4
2.1.4. Bağımlılığa Sebep Olan Maddeler.....	5
2.1.4.1. Kannabinoidler (Kannabis).....	5
2.1.4.2. Sentetik Kannabinoidler	6
2.1.4.3. Opioidler	7
2.1.4.4. Uyarıcılar (Psikostimülanlar).....	7
2.1.4.5. Halüsinojenler	7
2.1.4.6. İnhalanlar-Uçucular.....	8
2.1.4.7. Sedatifler-Hipnotikler.....	8
2.2. Bağımlılık ve Nörobiyoloji	8
2.2.1. Bağımlılıkta Rol Alan Beyin Bölgeleri.....	8
2.2.2. Bağımlılıkta Nörokimyasal Süreçler.....	10
2.2.2.1. Dopaminerjik Sistem.....	10
2.2.2.2. Serotonerjik Sistem	11
2.2.2.3. GABAerjik Sistem	12

2.2.2.4. Glutamaterjik Sistem.....	12
2.2.2.5. Nöradrenerjik Sistem.....	13
2.2.2.6. Santral Nitrenerjik Sistem	13
2.2.2.7. Kannabinoid Sistem	13
2.3. MADDE KULLANIM BOZUKLUKLARI VE GENETİK.....	14
2.4. MADDE KULLANIM BOZUKLUKLARI VE EPİGENETİK.....	15
2.5. Madde Kullanım Bozukluğunda Rolü Olabilecek Aday Genler.....	16
2.5.1. Katekol-o-metiltransferaz (COMT) Geni	16
2.5.2. Dopamin Reseptör D2 (DRD2) Geni.....	17
2.6. Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDDA) 2019 Verileri.....	18
2.7. Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (TUBİM) 2019 Verileri.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu	22
3.2. Gereçler.....	22
3.2.1. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	22
3.2.2. Kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar	23
3.3. Yöntemler.....	24
3.3.1. Tam Kandan Lökosit İzolasyonu	24
3.3.2. DNA İzolasyonu	25
3.3.3. DNA Safılık ve Konsantrasyon Ölçümleri.....	27
3.3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	27
3.3.4.1. PCR tekniğinde kullanılan cihaz ve malzemeler	29
3.3.4.2. Primer hazırlığı	30
3.3.4.3. PCR içeriğinin hazırlanması ve PCR koşulları	30
3.3.5. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)	32
3.3.5.1. Enzim Kesimi.....	32
3.3.6. Metilasyon Spesifik PCR (MSP)	33
3.3.6.1. DNA Bisülfid Dönüşümü	34
3.3.6.2. MSP metodu Primer hazırlığı	36
3.3.6.3. MSP metodu için gerekli PCR içeriği ve PCR koşulları	37
.....	38

3.3.7. Agaroz Jel Elektroforezi.....	38
3.3.7.1. TBE Tampon çözelti Hazırlanması	39
3.3.7.2. Agaroz Jel Hazırlanması.....	39
3.3.7.3. Örneklerin jele yüklenmesi ve yürütülmesi	39
3.3.7.4. RFLP kesim sonuçlarının belirlenmesi	40
3.4. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR.....	42
4.1.1. MKB grubunun madde kullanımına ait veriler.....	43
4.1.2. MKB grubuna ait demografik veriler.....	44
4.2. COMT geni Val158Met varyantına ait veriler	44
4.2.1. COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip sonuçları.....	46
4.2.2. MKB bireylerde COMT geni Val158Met varyantına ait verilerin çeşitli klinik parametrelerle karşılaştırılması	47
4.2.3. MKB bireylerde COMT Geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması.....	53
4.3. COMT Geni Metilasyon Analizine Ait Veriler.....	56
4.3.1. COMT geni metilasyon verilerinin çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	58
4.3.2. COMT geni Metilasyon verileri ile COMT geni Val158Met varyantı verilerinin karşılaştırılması.....	60
4.3.3. COMT geni Metilasyon verileri ile COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip verilerinin karşılaştırılması	62
4.4. DRD2 Geni -141C varyantına ait veriler	62
4.4.1. DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı birleştirilmiş genotip sonuçları	64
4.4.2. MKB Bireylerde DRD2 Geni -141C Ins/Del Varyantına Ait Verilerin Çeşitli Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması	65
4.5. DRD2 Geni Metilasyon Analizine Ait Veriler.....	69
4.5.1. DRD2 Geni Metilasyon Verilerinin Çeşitli Parametrelerle Karşılaştırılması ..	71
4.5.2. DRD2 geni Metilasyon verileri ile DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı verilerinin karşılaştırılması.....	73
4.6. Madde Başlama Yaşının Gen Varyantları, Gen Metilasyonları Ve Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması	74
4.6.1. Madde Başlama Yaşının Gen Varyantları Bakımından Karşılaştırılması.....	74
4.6.2. Madde Başlama Yaşının Gen Metilasyonları İle Karşılaştırılması.....	75
4.6.3. Madde Başlama Yaşının Çeşitli Parametrelerle Karşılaştırılması	76

4.7. Psikotik bozukluk ek tanısı almış ve almamış MKB bireylerin çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	77
4.8. Kontrol Grubu Erkek Bireyler İle MKB Bireylerin Çalışılan Gen Varyantları Ve Metilasyon Analizleri Bakımından Karşılaştırılması	77
5. TARTIŞMA	79
KAYNAKLAR	90
FORMLAR	112
ETİK KURUL KARARI	115
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	116
ÖZGEÇMİŞ	117



TABLOLAR LISTESİ

Tablo 2-1: Madde Kullanım Bozukluğu DSM-5 Tanı Kriterleri.....	4
Tablo 3-1: Çalışılan gen bölgelerinin primer dizileri ve koşulları.....	30
Tablo 3-2: DRD2 -141C Ins/Del bölgesi için hazırlanan PCR içeriği	31
Tablo 3-3: COMT Val158Met bölgesi için hazırlanan PCR içeriği	31
Tablo 3-4: DRD2 -141C Ins/Del bölgesi için PCR koşulları	31
Tablo 3-5: COMT Val158Met bölgesi için PCR koşulları.....	32
Tablo 3-6: DRD2 (-141C Ins/Del) bölgesi için BstNI enzim kesimi içeriği.....	33
Tablo 3-7: COMT Val158Met bölgesi için NlaIII enzim kesimi içeriği.....	33
Tablo 3-8: Çalışılan bölgelerin analizinde kullanılan kesim enzimleri.....	33
Tablo 3-9: DNA Bisülfid dönüşümü PCR koşulları	35
Tablo 3-10: Çalışmada kullanılan primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları	37
Tablo 3-11: MSP metodu PCR içeriği	38
Tablo 3-12: MSP metodu PCR koşulları.....	38
Tablo 3-13: Çalışılan bölgelere ait allel bantlarının uzunlukları	40
Tablo 4-1: MKB ve Kontrol grubuna ait demografik veriler	42
Tablo 4-2: MKB olan bireylerin madde kullanımına ait veriler	43
Tablo 4-3: Madde Kullanım Bozukluğu olan gruba ait demografik veriler	44
Tablo 4-4: COMT geni Val158Met varyantı genotip ve allel dağılımı	45
Tablo 4-5: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT geni Val158Met varyantı genotip ve allel dağılımı	46
Tablo 4-6: COMT Geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının karşılaştırılması	47
Tablo 4-7: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT geni Val158Met birleştirilmiş genotip dağılımı.....	47
Tablo 4-8: MKB Bireylerde COMT VAL158MET genotip frekans dağılımlarının çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	48
Tablo 4-9: COMT Geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	49
Tablo 4-10: Yoğun kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met genotip frekanslarının klinik parametrelerle karşılaştırılması.....	50

Tablo 4-11: Yoğun kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met genotip frekanslarının klinik parametrelerle karşılaştırılması.....	51
Tablo 4-12: Yoğun kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	52
Tablo 4-13: Yoğun kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	53
Tablo 4-14: MKB bireylerde COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	54
Tablo 4-15: Yoğun kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	55
Tablo 4-16: Yoğun kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	56
Tablo 4-17: MKB grubu ve kontrol grubunun COMT geni metilasyon durumu karşılaştırılması	57
Tablo 4-18: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT Geni Metilasyon durumu karşılaştırması.....	57
Tablo 4-19: MKB bireylerde COMT metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	58
Tablo 4-20: Yaygın kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	59
Tablo 4-21: Yaygın Kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	60
Tablo 4-22: MKB hasta grubunda COMT Val158Met varyantlarının genotip ve allel frekanslarının COMT metilasyon durumu ile karşılaştırılması	61
Tablo 4-23: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin COMT geni Val158Met genotip ve allel frekanslarının COMT geni metilasyon durumu ile karşılaştırması	61
Tablo 4-24: COMT Geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının COMT geni metilasyon durumları ile karşılaştırılması.....	62
Tablo 4-25: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT geni Val158Met birleştirilmiş genotip dağılımının COMT geni metilasyon durumu ile karşılaştırılması	62

Tablo 4-26: DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip ve allel dağılımı	63
Tablo 4-27: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip ve allel dağılımı	64
Tablo 4-28: DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı birleştirilmiş genotip dağılımı.....	65
Tablo 4-29: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı birleştirilmiş genotip dağılımı	65
Tablo 4-30: MKB bireylerde DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip frekans dağılımlarının çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	66
Tablo 4-31: MKB bireylerde DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	67
Tablo 4-32: Yoğun kullandığı madde sentetik kannabinoid olan bireylerde DRD2 geni -141C Ins/Del genotip frekanslarının klinik parametrelerle karşılaştırılması.....	68
Tablo 4-33: yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan bireylerde DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması	69
Tablo 4-34: MKB grubu ve kontrol grubunun DRD2 geni metilasyon durumu karşılaştırması	70
Tablo 4-35: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun DRD2 geni metilasyon durumu karşılaştırması	70
Tablo 4-36: MKB bireylerde DRD2 metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	71
Tablo 4-37: Yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan bireylerde DRD2 metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	72
Tablo 4-38: Yoğun kullandıkları madde kannabinoid olan bireylerde DRD2 metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	73
Tablo 4-39: MKB hasta grubunda DRD2 geni -141C Ins/Del varyantlarının genotip ve allel frekanslarının DRD2 metilasyon durumuyla karşılaştırılması.....	74
Tablo 4-40: Maddeye başlama yaşının genotip dağılımı ile karşılaştırılması	75
Tablo 4-41: Madde başlama yaşının allel dağılımı ile karşılaştırılması.....	75
Tablo 4-42: Maddeye başlama yaşının çalışılan gen metilasyonları ile karşılaştırılması	76
Tablo 4-43: Madde başlama yaşının çeşitli parametrelerle karşılaştırılması.....	76

Tablo 4-44: Psikotik bozukluk ek tanısı almış ve almamış grupların çeşitli parametrelerle karşılaştırılması	77
Tablo 4-45: Kontrol grubundaki erkek bireyler ile MKB grubunun genotip dağılımları bakımından karşılaştırılması	78
Tablo 4-46: Kontrol grubundaki erkek bireyler ile MKB grubunun metilasyon durumları bakımından karşılaştırılması	78



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: THC Bileşeninin Dopamin Seviyesine Etkisi (23).	6
Şekil 2-2: Dopaminerjik Yolaklar ve Görev Alan Yapılar (68).	11
Şekil 2-3: COMT geni lokalizasyonu ve fonksiyonel varyantlarının gösterimi (139)....	17
Şekil 2-4: DRD2 Gen Yapısı ve Fonksiyonel Varyantları (143).	18
Şekil 2-5: AB Erken Uyarı Sistemine ilk defa bildirilen yeni psikoaktif maddelerin sayıları ve kategorileri (146).	19
Şekil 2-6: Avrupa’da Yaşa Göre Uyuşturucu Kaynaklı Raporlanan Ölümünün.....	20
Şekil 3-1: Polimeraz zincir reaksiyonu aşamaları (148).	29
Şekil 4-1: COMT Val158Met bölgesi PCR ve kesim ürünleri.....	45
Şekil 4-2: COMT geni metilasyon analizi kısmi metile ve unmetile ürünler.....	57
Şekil 4-3: -141C Ins/Del bölgesi PCR ve kesim ürünleri.....	63
Şekil 4-4: DRD2 geni metilasyon analizi kısmi metile ve unmetile ürünler.....	70

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Δ-9-THC:	Δ-9 tetrahidrocannabinol
5-HT:	5-hidroksitriptamin
AB:	Avrupa Birliği
ABCB1:	ATP bağlayıcı kaset alt ailesi B üyesi 1
ADH1B:	Alkol dehidrogenaz 1B
ADH1C:	Alkol dehidrogenaz 1C
Ala:	Alanin
ALDH2:	Aldehit dehidrogenaz
APA:	Amerikan Psikiyatri Birliği
BNST:	Stria terminalis yatak çekirdeği
cAMP:	Siklik AMP
CB1/CNR1:	Kannabinoid reseptör 1
CB2/CNR2:	Kannabinoid reseptör 2
CBD:	Kannabidiol
CGAS:	Aday gen ilişkilendirme çalışmaları
COMT:	Katekol-o-metiltransferaz
DAT:	Dopamin taşıyıcısı
Del:	Delesyon
DLPFC:	Dorsolateral prefrontal korteks
DMSO:	Dimetil sülfoksit
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
dNTP:	Deoksiribonükleozid trifosfat
DRD1:	Dopamin reseptör D1
DRD2:	Dopamin reseptör D2
DRD3:	Dopamin reseptör D3
DRD4:	Dopamin reseptör D4
DRD5:	Dopamin reseptör D5
DSM:	Ruhsal bozuklukların tanıs ve istatistiksel el kitabı

DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA:	Etilendiamin tetraasetik asit
EMCDDA:	Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi
FAAH:	Yağ asidi amid hidrolaz
fMRI:	Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme
GABA:	Gama-aminobutirik asit
GABRA1:	Gama-aminobutirik asit reseptörü alt birimi alfa-1
GABRA2:	Gama-aminobutirik asit reseptörü alt birimi alfa-2
GAD1:	Glutamat dekarboksilaz 1
GRIN2C:	Glutamat N-Metil D-Aspartat reseptör alt birimi epsilon 3
GWAS:	Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
HTR1B:	5-hidroksitriptamin reseptörü 1B
HTR3A:	5-hidroksitriptamin reseptörü 3A
HTR3B:	5-hidroksitriptamin reseptörü 3B
ICD:	Uluslararası Hastalık Sınıflandırma Sistemi
Ile:	İzolösin
Ins:	İnversiyon
KCNJ9:	Potasyum kanalı, içe doğru düzelten alt aile J, üye 9
Leu:	Lösin
LSD:	Liserjik asit dietilamid
MAOA:	Monoamin oksidaz A
MAOB:	Monoamin oksidaz B
MB-COMT:	Membran bağlı Katekol-o-metiltransferaz
MDMA:	3,4-metilenedioksi-N-metilamfetamin
Met:	Metiyonin
MgCl ₂ :	Magnezyum Klorür
miRNA:	Mikro RNA
MKB:	Madde Kullanım Bozukluğu
NAc:	Nükleus akkumbens
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentetaz
OFC:	Orbitofrontal korteks
OPRM1:	Opioid Reseptör Mu 1

ORL1:	Opioid Reseptör benzeri 1
PBS:	Fosfat Buffer Saline
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PET:	Pozitron emisyon tomografisi
Pro:	Prolin
PRS:	Poligenetik risk puanı
S-COMT:	Soluble (Çözünür) Katekol-o-metiltransferaz
Ser:	Serin
SLC6A3:	Çözünen taşıyıcı aile 6, üye 3
SNP:	Tek nükleotid polimorfizmi
SPECT:	Bilgisayarlı tek foton emisyon tomografisi
SPSS:	Statistical package for the social sciences
TBE:	Tris-Borik asit-EDTA
THC:	tetrahidrocannabinol
TUBİM:	Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi
Val:	Valin
VTA:	Ventral tegmental alan

ÖZET

Oyacı, Y. (2020). Madde kullanım bozukluğu olan hastalarda epigenetik farklılıkların araştırılması ve klinik parametrelerle karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Madde kullanım bozukluğu (MKB), ülkemiz dahil tüm dünya ülkelerinin karşı karşıya kaldığı en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. MKB'nin oluşumu ve seyri farklı moleküler ile hücresel mekanizmalar, çevresel etmenler gibi faktörlere bağlıdır. Yapılan genetik ve epigenetik araştırmalar bazı genlerin MKB ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Özellikle dopaminerjik yollarda rol oynayan genler MKB çalışmalarının odak noktası olmuştur. Çalışmamızda dopaminerjik sistemde etkili olan COMT geninin membran-bağı (MB-COMT) formundaki Val158Met fonksiyonel varyantı ile MB-COMT metilasyon analizi ile dopamin reseptör geni olan DRD2 geninin -141C Ins/Del fonksiyonel varyantı ve DRD2 metilasyon analizi ile demografik ve klinik parametrelerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Kontrol grubu olarak 102 birey ve MKB tanısı almış 218 birey çalışmada yer almıştır. Gen varyantlarının analizi için PCR-RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) metodu, metilasyon analizleri için MSP (Metilasyon-spesifik PCR) metodu kullanılmıştır. Sonuçların Pearson ki-kare testi ve Fisher Exact testi kullanılarak istatistiksel analizi yapılmış ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. MKB grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında COMT Val158Met ve DRD2 -141C varyantlarının genotip ve allel frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Ancak Val158Met varyantı Val/Met genotipi psikotik bulgu ek tanısı almış bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Val alleli taşıyıcılarında da çoklu madde kullanımı anlamlı düzeyde yüksektir ($p < 0,05$). -141C varyantı Ins alleli ise ailede psikiyatrik bir bozukluk olan bireylerde anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). MB-COMT metilasyon analizine göre MKB bireylerin kontrol grubuna göre daha düşük metilasyon frekansına sahip olduğu saptanırken ($p < 0,001$), DRD2 metilasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sonuç olarak, COMT ve DRD2 fonksiyonel gen varyantlarının çeşitli klinik parametrelerle anlamlı derecede ilişkilere sahip oldukları ve MB-COMT'un hipometilasyonunun MKB için önemli bir faktör olabileceği bu çalışmada gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: MKB, COMT, DRD2, Dopamin, Metilasyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2019-34316

ABSTRACT

Oyacı, Y. (2020). Investigation of epigenetic differences in patients with substance use disorders and comparison with clinical parameters. Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology. Master Thesis. Istanbul.

Substance use disorder (SUD) is one of the most important public health problems facing all countries, including our country. The formation and course of SUD depends on different molecular and cellular mechanisms and environmental factors. Genetic and epigenetic studies have shown that some genes are associated with SUD. Genes that play a role especially in dopaminergic pathways have been the focus of the study of SUD. In our study, it was aimed to compare the demographic and clinical parameters with the Val158Met functional variant of the COMT gene, which is effective in the dopaminergic system, with the membrane-bound (MB-COMT) form, the DRD2 gene, which is the dopamine receptor gene, the -141C Ins/Del functional variant and the DRD2 methylation analysis. As control group, 102 individuals and 218 individuals diagnosed with SUD were included in the study. Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was used for analysis of gene variants and Methylation-specific PCR (MSP) method was used for methylation analysis. The results were statistically analyzed using Pearson chi-square test and Fisher Exact test, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. When comparing the SUD group and the control group, no statistically significant difference was observed in the genotype and allele frequencies of the COMT Val158Met and DRD2 -141C variants ($p > 0.05$). However, Val158Met variant Val/Met genotype was found statistically significantly higher in individuals diagnosed with psychotic symptoms ($p < 0.001$). Multiple substance use is also significantly higher in Val allele carriers ($p < 0.05$). -141C variant Ins allele was significantly higher in individuals with a family psychiatric disorder ($p < 0.05$). According to MB-COMT methylation analysis, while MKB individuals were found to have lower methylation frequency compared to the control group ($p < 0.001$), there was no statistically significant difference compared to DRD2 methylation analysis ($p > 0.05$). In conclusion, it was observed in this study that COMT and DRD2 functional gene variants have significant relationships with various clinical parameters and that hypomethylation of MB-COMT may be an important factor for SUD.

Key Words: SUD, COMT, DRD2, Dopamine, Methylation

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: TYL-2019-34316

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Madde Kullanım Bozukluğu (MKB) maddenin en başta istenilenden daha yüksek miktarda ve daha sık aralıklarla alınması, kullanılan maddeye karşı yoğun bir isteğin varlığı, madde kullanan kişinin sosyal hayatında ve insanlarla ilişkilerinde tekrarlayan olumsuz durumlara ve fiziksel veya ruhsal rahatsızlıklara sebep olduğu halde maddenin kullanımının sürdürülmesi ile karakterize edilmiş bir bozukluktur (1). MKB, çok çeşitli zihinsel, fiziksel ve sosyal zararlarla bağlantılı ciddi bir sağlık sorunudur. MKB ile ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltmak amacıyla daha etkili önleme ve müdahale stratejileri geliştirmek için, kullanımın başlamasından ve/veya kullanımının artmasından önceki mekanizmaları anlamak çok önemlidir.

Madde kullanım bozukluklarının gelişiminde beynin ödül sistemindeki nöroadaptasyonlar etkili olduğu gibi sosyal çevre ve bu çevredeki durumlara bireyin verdiği cevap da önemlidir (2). Çevre çalışmalarının yanında yapılan moleküler çalışmalarla, birçok gendeki varyasyonların, bir bireyin madde bağımlılığına yatkınlığını belirleyebileceğini ve bu varyasyonların ilişkilendirme çalışmalarında etkili genetik belirteçler olabileceğini kanıtlanmıştır (3).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise DNA'da meydana gelen metilasyon ve histon asetilasyonu gibi epigenetik faktörlerin de madde kullanımında risk teşkil etmede rol oynadığı ve çevresel faktörlerin de epigenetik mekanizmaları değiştirebildiği bildirilmiştir (4).

Madde kullanım bozukluklarında rolü olabilecek genlerin hem genetik hem de epigenetik mekanizmalarını bilmek, bu genlerin bağımlılıklarla ilişkisini anlamamıza ve bağımlılığa etkisini açıklamamıza yardım edecektir. Bu bilgilerin ışığında çalışmamızdaki amaç; bağımlılıkla ilişkili veya bağımlılık üzerine etkisi olabilecek genlerin gen varyantları ve metilasyon düzeylerini belirlemek ve elde ettiğimiz verileri klinik parametrelerle karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Madde Bağımlılığı

Birkaç madde sınıfının kronik kullanımı, insanlarda fiziksel, psikolojik ve davranışsal değişikliklere neden olur. Hem fiziksel hem de davranışsal bağımlılığı içeren madde bağımlılığı, madde ile ilgili bozuklukların en kapsamlı tanımıdır (5). Fiziksel bağımlılık, kronik kullanımdan sonra ortaya çıkan tolerans ve geri çekilme anlamına gelirken davranışsal bağımlılık, olumsuz fiziksel, psikolojik, toplumsal veya yasal sonuçlara rağmen kontrol edilemeyen, kalıcı kullanım olarak tanımlanır. Bağımlılık, bireyin madde kullanımıyla ilişkili olumsuz sonuçlara rağmen maddelerin kullanımı üzerinde kontrolünü kaybettiği bir durum olarak tanımlanır (6).

Madde bağımlılığı çoklu faktörler etkisinde oluşmakta ve sürekliliği de bu faktörlerle birlikte seyretmektedir. Farklı çevresel faktörler, moleküler yollar, hücresel mekanizmalar bağımlılıkta tolerans, bağımlılığın tekrarlanması ve madde arayışı gibi bağımlılığa bağlı durumlarda çeşitli roller üstlenmektedir (7).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla da epigenetik değişimlerin madde bağımlılığında rol aldığı anlaşılmıştır (8). Böylece bağımlılığın mekanizmasını anlamaya yardımcı olabilecek yeni bir yol açılmıştır.

2.1.1. Madde Kullanım Bozukluğu Sınıflandırması

Amerikan Psikiyatri Birliği (APA) tarafından yayınlanan Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı'nda (DSM) madde bağımlılığı terimi ayrı bir bozukluk olarak ilk defa 1968 yılında yayınlanan DSM-2 el kitabında yer almıştır (9). 1980'de yayınlanan DSM-3 el kitabında ise madde kullanım bozukluklarının tanı ölçütleri ve yol açtığı davranış durumları daha genişletilmiş bir şekilde belirtilmiştir (10). 1987 yılında DSM-3 el kitabının revize edilmiş hali olan DSM-3-R yayınlanmış ve bu el kitabında madde kullanım bozuklukları kategorisinin adı psikoaktif madde kullanım bozuklukları olarak değiştirilerek kötüye kullanım tanı ölçütü eklenmiştir (11). 1994 yılında yayınlanmış olan DSM-4'te ise kategorinin adı yeniden madde ile ilgili bozukluklar olarak değiştirilmiştir (12). Son yayınlanan 2013 tarihli DSM-5 el kitabında ise kategori madde kullanım bozuklukları olarak güncellenmiş, kötüye kullanma ve bağımlılık terimlerinin ayrılması son bulmuş ve şiddet ölçütü tanı kriterlerine eklenmiştir.

DSM-5 el kitabında madde kullanım bozukluğuna yol açan maddeler, alkol, kafein, kannabinoidler, halüsinojenler (fenisiklidin ve diğer halüsinojenler), inhalanlar, opioidler, sedatifler, yatıştırıcılar ve anksiyolitikler, uyarıcılar, tütün ve diğer maddeler olarak 10 grupta toplanmışlardır. Madde kullanımı, madde kullanım bozuklukları ve madde kullanımının yol açtığı bozukluklar olarak iki ana gruba ayrılmıştır. İntoksikasyon ve yoksunluk sendromunun yol açtığı ruhsal bozukluklar madde kullanımının yol açtığı bozukluklar sınıfında yer almaktadırlar. Depresyon, kaygı, takıntı gibi davranışsal bozukluklar, uyku ve cinsel işlev bozuklukları ve deliryum gibi nörobilişsel bozukluklar madde kullanımının yol açtığı ruhsal bozukluklar olarak sınıflandırılır (13).

2.1.2. Madde Kullanım Bozukluğunda Temel Kavramlar

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) geliştirdiği ve DSM kitapçıklarında da yer alan Uluslararası Hastalık Sınıflandırma Sistemi (ICD) madde kullanımıyla ilişkili bazı temel kavramları tanımlamıştır(13).

İntoksikasyon (Zehirlenme): Zihinsel, davranışsal ve duygudurum gibi ruhsal değişiklikler, yargılama ve sosyal işlevler gibi mental işlevlerin bir ya da birkaçının belli bir maddenin kullanımı sonrası geri dönüşümlü bir klinik tablodur.

Kötüye kullanım: Kişinin sosyal ve tıbbi olarak desteklenmeyen şekilde, olumsuz sonuçları olmasına rağmen bir ilacı veya maddeyi kendisine uygulaması durumudur.

Yoksunluk: Belli bir zamandır kullanılmakta olan maddenin aniden kesilmesi ya da miktarının düşürülmesi durumunda ortaya çıkan psikolojik belirtilerin yanı sıra düşünme ve davranış bozuklukları gibi fizyolojik belirtilerle de karakterize edilen sendromdur.

Tolerans: Kişinin maddeyi belirli bir süre aynı dozlarla alması sonucunda aynı etkiyi görememesi sebebiyle ortaya çıkan ve maddenin dozunun giderek artırılmasıyla sonuçlanan durumdur.

Çapraz Tolerans: Bir maddeye karşı tolerans geliştirilmesinden sonra aynı etkiye sahip başka bir maddeye de tolerans geliştirilmesi durumudur. Bu duruma diazepam ve barbitüratlar örnek verilebilir(14).

Nüks (Yeniden Başlama): Madde kullanımının bırakılması ve tedavi sürecinin ardından kişinin tekrar yoğun miktarlarda madde kullanmaya başlaması durumudur.

2.1.3. Madde Kullanım Bozukluğu DSM-5 Tanı Kriterleri

Madde kullanım bozukluğu tanısı, DSM-5 el kitabında belirtilen tanı kriterlerinden son 12 ay içerisinde en az 2 veya daha fazla belirti gösteren bireylere koyulmaktadır. Belirtilmiş tanı kriterlerine göre madde kullanım bozukluğunun şiddeti de ölçülebilir. Kriterlerden 2 veya 3 belirti gösteren bireyler ağır olmayan, 4 ya da 5 belirti gösterenler orta dereceli ve 6 ve daha fazla belirti gösteren bireyler ağır bozukluk gösteren bireyler olarak tanı almaktadırlar (13).

DSM-5 el kitabına göre madde kullanım bozukluğu tanı kriterleri Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2-1: Madde Kullanım Bozukluğu DSM-5 Tanı Kriterleri

Madde Kullanım Bozukluğu DSM-5 Tanı Kriterleri
1. Çoğu kez, istenilenden daha büyük miktarda ya da daha uzun süreli olarak madde alınır. 2. Madde kullanmayı bırakmak ya da denetim altında tutmak için sürekli bir istek ya da sonuç vermeyen çabalar gösterilir. 3. Madde elde etmek, madde kullanmak ya da yarattığı etkilerden kurtulmak için gerekli etkinliklere çok zaman ayrılır. 4. Madde kullanmak için çok büyük bir istek duyma ya da kendini zorlanmış hissetme durumu vardır. 5. İşte, okulda ya da evdeki konumunun gereği olan başlıca yükümlülüklerini yerine getirememeye ile sonuçlanan, yineleyici madde kullanımı vardır. 6. Maddenin etkilerinin neden olduğu ya da alevlendirdiği, sürekli ya da yineleyici toplumsal ya da kişiler arası sorunlar olmasına karşın madde kullanımını sürdürme eğilimi vardır. 7. Madde kullanımından ötürü önemli birtakım toplumsal, işle ilgili etkinliklerin ya da eğlenme dinlenme etkinliklerinin bırakılması ya da azaltılması. 8. Yineleyici bir biçimde tehlikeli olabilecek durumlarda madde kullanma. 9. Büyük bir olasılıkla maddenin neden olduğu ya da alevlendirdiği, sürekli ya da yineleyici bedensel ya da ruhsal bir sorunu olduğu bilgisine karşın madde kullanımı sürdürülür. 10. Aşağıdakilerden biriyle tanımlandığı üzere Dayanıklılık (Tolerans) gelişmiş olması; a) Esrikliği (entoksikasyonu) ya da istenen etkiyi sağlamak için belirgin olarak artan ölçülerde madde kullanma gereksinimi; b) Aynı ölçüde madde kullanımının sürdürülmesine karşın belirgin olarak daha az etki sağlanması 11. Aşağıdakilerden biriyle tanımlanması üzere, yoksunluk gelişmiş olması; a) Kullanılan maddeye özgü yoksunluk sendromu; b) Yoksunluk belirtilerinden kurtulmak ya da kaçınmak için madde ya da yakından ilişkili başka bir madde alır.

2.1.4. Bağımlılığa Sebep Olan Maddeler

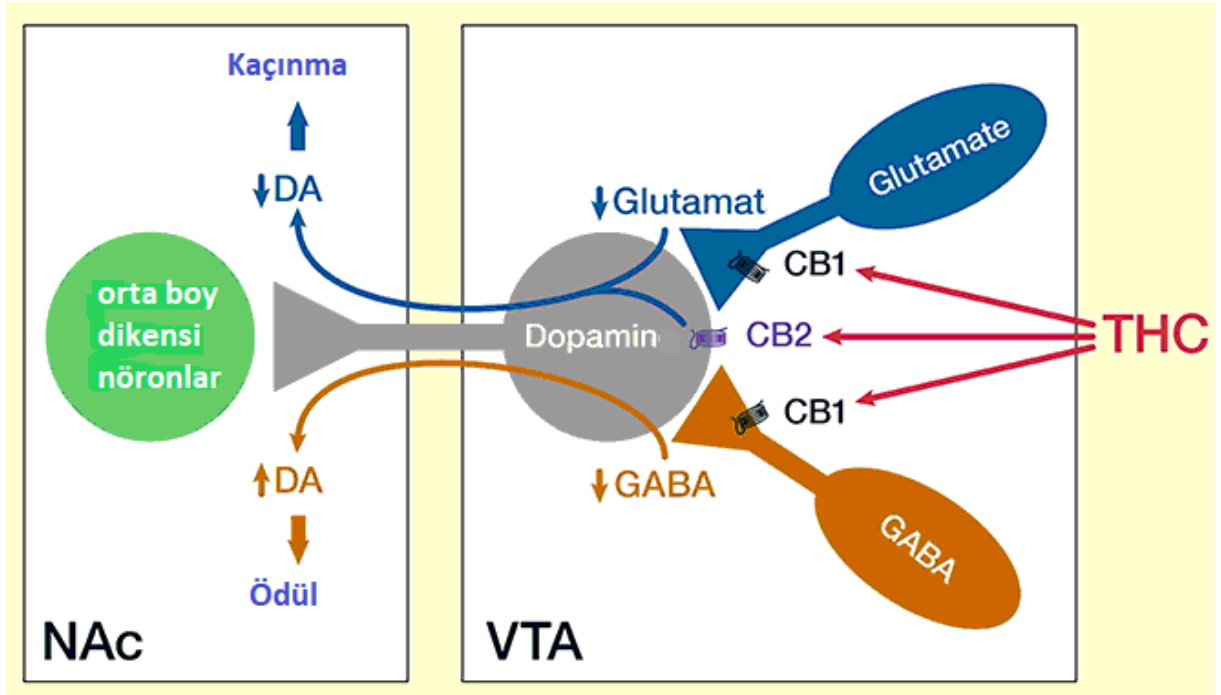
2.1.4.1. Kannabinoidler (Kannabis)

Eski çağlarda lif olarak, yemek olarak ve hatta dini törenlerde bile kullanılan *Cannabis Sativa* bitkisinin köklerinin 5000 yıl öncesine kadar uzandığı düşünülmekte ve tıbbi amaçlarla kullanımının da MS.400 yıllarına uzandığı bildirilmiştir (14,15). Kannabis kullanımı Hindistan ve Çin'den Asya kıtasına, daha sonra Orta Doğu bölgesine ve Afrika kıtası ile Güney Amerika'ya yayılmıştır. Eski zamanlarda Afrika ülkelerinde cannabis tıbbi amaçlı olarak yılan ısırıkları, yüksek ateş ve doğumu kolaylaştırma gibi durumlar, sıtma, astım, dizanteri ve şarbon gibi hastalıkların tedavi sürecinde kullanılmıştır (16).

Keyif verici madde olarak yaygın kullanımı ise 20. yüzyılda başlamıştır (17). Doğal kannabis tüketimi sonucunda akut olarak görülen gevşeme, zaman algısının değişmesi, hafıza sorunları, problem çözmede zorlanma, çarpıntı, tansiyon düzensizlikleri ve iştah artışı gibi durumların yanında uzun vadeli kullanımda da anksiyete, paranoya ve depresyon gibi rahatsızlıklar görülmektedir (18,19).

Kannabisin toplumda bilinen çok fazla adı bulunmaktadır. Esrar, hint keneviri, kubar, marihuana, ot ve Mary Jane bu isimlerden bazılarıdır (20).

Kannabis bitkisinde 60 tanesi kannabinoid olarak isimlendirilen 400'den fazla farklı kimyasal bileşen olduğu belirlenmiştir. Belirgin ve spesifik olarak isimlendirilmiş kannabinoidlerden en etkili olanı Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) 'dir. THC'den sonra gelen bir diğer etkili kimyasal bileşen ise canabidiol (CBD)'dür (21,22). THC bileşeni CB1 ve CB2 kannabinoid reseptörlerine bağlanır, dopamin seviyesini arttırıp azaltarak ödül ve kaçınma mekanizmalarına etki eder (Şekil 2.1) (23).



Şekil 2-1: THC Bileşeninin Dopamin Seviyesine Etkisi (23).

2.1.4.2. Sentetik Kannabinoidler

THC'nin izole edilmesi ve kannabinoid reseptörlerinin keşfedilmesiyle birlikte kannabinoid mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla laboratuvarlarda yapılan çalışmalarda sentezlenmiş psikoaktif maddelere sentetik kannabinoid adı verilmektedir. John W. Huffman ve ekibi kannabinoid reseptörlerin mekanizmasının beyinde ve diğer organlardaki etkisini test edebilmek için 400'den fazla sentetik kannabinoid sentezlemeyi başarmıştır. Ancak 2000'li yılların sonunda ekibin sentezlediği 2 adet bileşik esrara alternatif olarak satılmaya başlamış ve Huffman bilimsel amaçlarla yola çıkmış olsa da ilaç suistimalinden sorumlu tutulmuştur. Elde ettikleri maddelerden kolay sentezlenebilenleri ve yüksek etki gösterenleri en çok tercih edilen sentetik kannabinoidler arasındadır (24).

Sentetik kannabinoidler toplumda Spice, K2, Jamaika ve bonzai gibi isimlerle anılmaktadır. Düzenli olarak yeni kimyasal bileşenler karıştırılıp sentezlenerek yeni sentetik kannabinoid türevleri elde dilmekte ve piyasaya sürülmektedir (25,26).

2.1.4.3. Opioidler

Opioidler (opiyat, opium), Lâtincesi *Papaver Somniferum Linee* olan afyon (haşhaş) bitkisinden elde edilen ve kullanımı MÖ.4000’li yıllara kadar uzanan bilinen en eski ilaçlardan biridir. 19.yüzyıldan sonra medikal amaçlarla afyonun morfin, kodein ve eroïn gibi alkaloidleri sentezlenmiş ve 20.yüzyılın sonlarında ise opioid bağımlılığı tıbbi bir problem olarak görülmeye başlamıştır (27).

Opioid peptitler ve reseptörleri, nöral devre boyunca, merkezi sinir sistemindeki ödül ve duygu ile ilişkili beyin yapılarının kritik bölgeleri boyunca eksprese edilir. Bugüne kadar dört farklı opioid reseptör sistemi mu (μ), delta (δ), kappa (κ), opioid reseptörü benzeri-1 (ORL1) karakterize edilmiştir (28). Bu opiyat reseptörleri doğal opioid peptidlerin (enkefalinler, dinorfin ve endorfin) etkisine aracılık ederler. Mu reseptörleri bağımlılıkla ilişkilendirilmiştir ve duydu-durum mekanizmasını etkilediği belirtilmektedir (29,30).

2.1.4.4. Uyarıcılar (Psikostimülanlar)

Kokain, katinon, amfetamin ve türevleri uyarıcı maddeler grubuna girmektedir. Koka bitkisi çığnemenin Güney Afrika’daki yerlilere kadar uzanan eski bir tarihi bulunmaktadır (31). Kokain 1859’da Latince adı *Erythroxylum coca* olan koka bitkisinin yapraklarından izole edilmiş ve ileri yıllardaki tıbbi yayınlarla faydalı olduğu iddia edilerek ilaç yapımında kullanılmaya başlanmıştır (32).

En etkili ve yaygın kullanılan psikostimülanlardan olan amfetamin ve türevleri dopamin, noradrenalin ve serotonin nörotransmitterlerinin geri alımını durdurarak salınmalarını yükseltir böylece merkezi sinir sistemini aktiveleştirirler. Bu aktivasyon sistemi, nükleus akübens ve prefrontal kortekste dopaminin seviyesini yükseltir. Uyarıcı maddeler postsinaptik sinir uçlarında da dopaminin hücre içi miktarını artırır (33,34).

Psikostimülan maddelerin kullanımının sebep olduğu hastalıklar arasında özellikle ritim bozukluğu ve enfarktüs gibi kardiyovasküler rahatsızlıklar ile nörolojik rahatsızlıklar sayılabilir (35-37).

2.1.4.5. Halüsinojenler

Halüsinojenler, farmakolojik etki mekanizması ve kimyasal yapı ile geniş bir şekilde tanımlandığı gibi birkaç farklı sınıfa ayrılır (38). Algı ve mod değişikliği yaparak renkli, iyi şekillenmiş, canlı görsel halüsinasyonlar oluştururlar. Prototipi liserjik asit dietilamid (LSD) dir. Kişi gerçek dünyadan tamamen soyutlanır. LSD kullanımında

nadir olarak görsel bozukluklar kalıcılaşabilir ve iskemiye yol açan beyin damarlarının daralmasına yol açabilirler (39-41). Kimyasal adıyla 3,4-metilenedioksi-N-metilamfetamin MDMA, toplumda anılan adıyla ekstazi de hem uyarıcı hem de halusinatif etkiler gösterir. MDMA, hem metamphetamine hem de meskalinin özelliklerine sahiptir. Metamphetamine gibi MDMA da presinaptik geri alım bölgelerinde etkili bir şekilde katekolamin nörotransmitterlerinin (yani epinefrin, norepinefrin ve dopamin) güçlü bir serbest bırakıcısıdır. MDMA aynı zamanda güçlü bir pre-sinaptik serotonin salıcısıdır (42-44). MDMA kullanımı aşırı durumlarda hastaneye yatmaya, organ yetmezliğine ve hatta ölüme yol açabilecek hipertermiye neden olabilir (45).

2.1.4.6. İnhalanlar-Uçucular

Özellikle çocuklarda ve ergenlik çağlarında kullanımı görülen, oda sıcaklığında kolay buharlaşabilen bağımlılık yapıcı maddelerdir. Volatil çözücüler, benzin ve anestezikler, nitrik oksit ile buharlaşabilen alkil nitritler uçucu maddeler sınıfındadır (46). Uçucu maddelerin çok ciddi yan etkileri görülebilmektedir. Uçucu bir maddeyi ilk kez deneyimleyen kullanıcılarda bile ciddi yan etkilerin yanı sıra ölümler de bildirilmiştir (47,48).

2.1.4.7. Sedatifler-Hipnotikler

Medikal amaçlarla anksiyolitik ve uyku verici etkileri nedeni ile kullanılan bu maddeler GABAerjik yolak üzerinden etki göstermektedirler. Barbitüratlar ve benzodiazepinler bu gruba ait maddelerdir. Sarhoşluk hissine sebep olurlar. Yüksek doz ve düzenli kullanımlarda sedasyon hali, koma ve depresyon gibi yan etkiler görülmektedir. İnhalan maddelerin yoksunluk durumlarında ise tremor, halüsinasyon ve psikoz gibi nörolojik etkiler bildirilmiştir (49).

2.2. Bağımlılık ve Nörobiyoloji

2.2.1. Bağımlılıkta Rol Alan Beyin Bölgeleri

Amigdala: Amigdala aktivitesi duygu uyandıran olaylar için hafızayı güçlendirme ile ilgili bölgedir. Duygusal hafızayı oluşturur. Amigdala, uyaranlara ödül değeri atamada ve yeni uyaranlara korkunun koşullandırılmasında rol oynar. Örneğin, ilaç uygulamasıyla tanımlanan belirli bir kafesi tercih eden kemirgenler, amigdala kesilirse bu koşullu uyarıyı kaybedecektir. Kokain ve nikotin bağımlısı bireylerin PET ve fMRI

nörogörüntüleme çalışmaları sonucunda, ilaca bağlı uyaranlara maruz kalmanın amigdalar bölgesinin aktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir (50,51).

Ön Singulat Korteks: Duygu ve dikkat bozukluklarında yer alan ön singulat, duygusal oto-kontrol, odaklı problem çözme, hata tespiti, performans izleme ve değişen koşullara uyaranabilir tepki ile ilgilidir (52). Özellikle düşük frekanslı yanıtlar yürütüldüğünde işleme çakışmalarının saptanmasında rol oynar, ancak hem motivasyon hem de duygusal durumdan etkilenir (53). Ön singulat, yanıt inhibisyonu, prokain uygulaması ve kod rehberli stres indüksiyonu görevi sırasında bağımlı kişilerde azalmış aktivasyon gösterir. Ön singulatın bozulmuş şekliyle yapılan çalışmalarda, özellikle inhibitör süreçler veya karar verme sürecine katılan bilişsel görevlere yanıt olarak, bu beyin bölgelerinin bağımlı kişi nüksetmeye doğru giderken bu dürtüyü uygun şekilde dizginleyememesi sürecine dahil olduğu düşünülmektedir (54-57).

Stria terminalis yatak çekirdeği (BNST): Stres yanıtı da dahil olmak üzere korku uyaranlarına karşı gösterilen otonomik ve davranışsal reaksiyonlarda yer alan BNST, genişletilmiş amigdalanın bir parçası olarak kabul edilir ve çekirdeği paylaşılarak dopamin stimülasyonuna duyarlılık kazandırır. Sıçanlarda yapılan bir araştırmada BNST'nin, şok uygulanmasından sonra kokain arayışının eski haline getirilmesinde rol oynadığı belirtilmiştir (58).

Dorsolateral prefrontal korteks (DLPFC): Birkaç bilgi parçasını çevrimiçi bellekte tutma ve koruma veya kısa süreli depolamada zorluklarla ilgili olan DLPFC, olayların sıralanması, planlama ve hedeflerin seçimi de dahil olmak üzere bilişsel faaliyetlerin kontrolü ve düzenlenmesi için çok önemlidir. Kokain, metilfenidat ve alkol için arayış sırasında yapılan PET ve fMRI çalışmaları, DLPFC'nin aktivasyonunun arttığını göstermiştir (50,59,60).

Hipokampus: Yeni gerçek bilgilerin elde edilmesi ve kişisel olarak deneyimlenen olayları içeren eylemsel bellek hakkında yeni anıların oluşumu için kritik role sahiptir. Hipokampusu zarar verilmesi ileriye dönük amnezi ve daha az derecede de geriye dönük amnezi ile sonuçlanır. Hipokampusün dahil olduğu iletim süreçlerinin madde bağımlılığında nöksleri tetiklemede rol aldığı ileri sürülmüştür (61).

İnsüler Korteks: Ağrının işlenmesi için önemli olan insüler korteks, iç organlarla ilgili duyuşal girişler, koku alma, tat alma ve diğer bedensel-duyuşal girişlerde rol alır. Önleyici sinyalleri diğer yöntemlerden gelen bilgilerle ilişkilendirmede önemli bir bölgedir. Yapılan çalışmalar insüler korteks ve önleyici bilginin, kokain bağımlılığı

sürecinde prefrontal ağların aracılık ettiği bilişsel kontrol ve karar verme süreçlerini etkilediği olası sinirsel mekanizmaları ortaya koymaktadır (62).

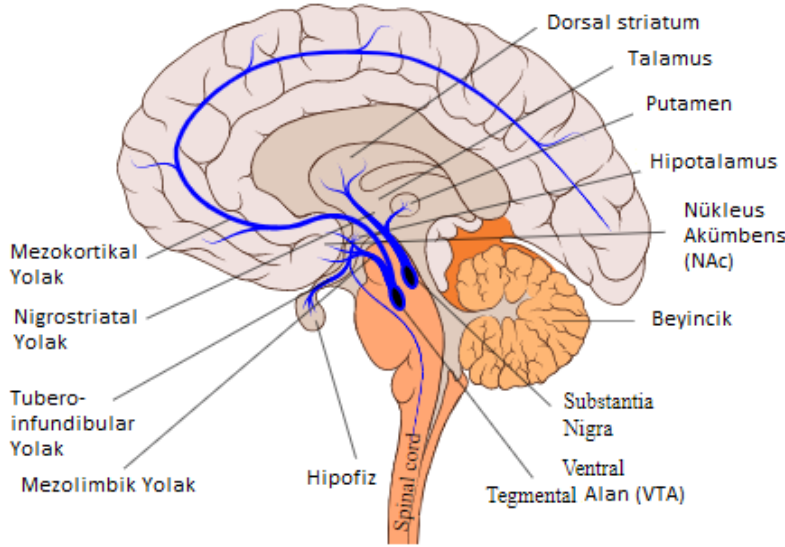
Orbitofrontal korteks (OFC): Dürtüsellik ve karar verme bozukluklarında yer almanın yanı sıra, OFC öngörülemeyen veya belirsiz olan durumlarda görev alır ve son deneyim bağlamında uyaranların takviye değerini düzenler. Mevcut eylem seçimlerinin olası değerini veya davranışsal ilgisini değerlendirir ve deşifre eder ve bu nedenle uygun bir eylem tarzını belirlemek için yeterli bilgi olmadığında etkinleştirilir. Son çalışmalar, hipokampus ve singulat ile bağlantıları olan medial OFC'nin bir durumun aşinalığını veya doğruluğunu değerlendirmede ve sonuç beklentilerini entegre etmede rol oynadığını göstermektedir. Lateral OFC, amigdala ve insulaya bağlantılarla, daha önce ödüllendirilmiş yanıtların bastırılması ile ilişkilidir ve davranışı değiştirmek için yani durdurma sinyalini sağlamak için gereklidir (63). OFC'nin yüksek aktivasyonu, kokain bağımlısı ve hem prokain hem de metilfenidat uygulaması sırasında kokain bağımlısı olan deneklerde benzer şekilde gözlemlenir, bu da OFC'nin çeşitli psikolojik ve farmakolojik zorluklara karşı aşırı duyarlı olduğunu gösterir (64-66).

2.2.2. Bağımlılıkta Nörokimyasal Süreçler

PET ve SPECT gibi teknikler bağımlılığı incelemek ve madde bağımlılığı ile ilişkili nörokimyasal değişiklikler hakkında önemli bir bilgi kaynağı sağlamak için son yıllarda sık olarak uygulanmıştır. Bu görüntüleme teknikleriyle görüntülenen moleküler hedefler ile bağımlılıkta rolü olan moleküler mekanizmalar ortaya çıkarılmıştır.

2.2.2.1. Dopaminerjik Sistem

Genişletilmiş amigdala, mezolimbik dopaminerjik yolak, nükleus akkumbens (NAc), ventral tegmental alan (VTA), ventral striatum ve prefrontal korteks beyin ödül sistemine ait yapılardır (67). Dopamin, merkezi sinir sisteminde bulunan katekolaminlerin büyük bir yüzdesini oluşturan ve beyin ödül sistemindeki en önemli nörotransmitter maddedir. Dopaminerjik sistemlerden mezolimbik sistem bağımlılık sürecinde rol alır. Dopaminerjik yolaklar ve bu yolaklarda görev alan yapılar Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



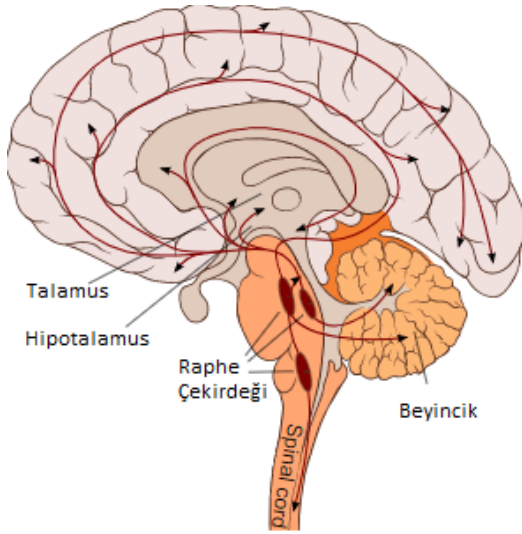
Şekil 2-2: Dopaminerjik Yolaklar ve Görev Alan Yapılar (68).

Gıda gibi doğal ödülleri ve alkol, amfetamin, kafein, kokain, esrar, nikotin, opioidler de dahil olmak üzere çoğu bağımlılık yapıcı madde mezolimbik dopaminin hücre dışı konsantrasyonlarını artırır. Uyarıcı maddelerden kokain ve amfetamin postsinaptik dopamin reseptöründeki mezolimbik dopaminerjik sinyali doğrudan farklı sinaptik mekanizmalar yoluyla yükseltir (69-71).

Mezolimbik yol, ödül sisteminde anahtar bileşen olarak tanımlanmıştır. Bu yol, orta beyindeki ventral kısımda dopamin açısından zengin bir çekirdek olan ventral tegmental alandaki (VTA) dopaminerjik hücre gövdelerinden orijin alır. Bu dopaminerjik aksonlar ventral striatumdaki nükleus akümbensde (NAc) yapılandırılır ve sonlanır, aynı zamanda amigdala, stria terminalis yatak çekirdeği (BNST) ve lateral hipotalamus içine uzanır. VTA, dopamin açısından zengin başka bir çekirdek olan substantia nigra'ya yakındır. Mezokortikal dopamin lifleri ağırlıklı olarak VTA'dan orijin alırken, bazıları substantia nigra'nın dorsal ve medial yönlerinden de orijin alır (72).

2.2.2.2. Serotonerjik Sistem

Serotonin (5-HT) beyinde nörotransmitter ve nöromodülatör görevi yapan bir monoamindir. Merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak serotonin kullanan nöronlar, orta hat raphe çekirdeklerinde ortalanmış, lateral retiküler formasyonun alt çekirdeğine uzanan beyin sapıyla sınırlıdır (73). Serotonerjik yolak ve bu yolakta görev alan yapılar Şekil 2.2'de gösterilmiştir (74).



Şekil 2-2: Serotonerjik Yolak ve Görev Alan Yapılar (74).

Alkol bağımlılığı ve serotonin yolakları ile ilgili yapılan çalışmalarda, serotonerjik aktivitedeki hem düşüşün hem de yükselişin alkol alımına yol açabileceği ve alkol alımında beyin ödül sistemi ve bilgi işleme bölgelerindeki serotonin aktivitesinin yükseldiği, sürekli hale gelmiş alkol alımında ise bu serotonin seviyelerinin düştüğü öne sürülmüştür (75,76). Strese bağlı olarak gelişen nüks durumlarında da serotonerjik yolakların etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (77).

2.2.2.3. GABAerjik Sistem

GABA (Gama-aminobutirik asit), santral sinir sisteminde en yaygın olarak bulunan inhibitör nörotransmitterdir. GABA sinir hücreleri düzeyinde hücreye Cl^- alımını artırır ve postsinaptik inhibisyon mekanizmasına sahiptir. GABA-A reseptörleri tolerans durumu, bağımlılığın artması ve yoksunluk belirtisi gibi durumlarda katkı sağlamaktadır (78). Madde kullanımıyla oluşan dopaminerjik anormalliklerde GABAerjik sistemle üzerinden bir etkili olma durumu söz konusudur. Dopaminerjik nöronların GABA tarafından inhibe edildiği ve dopaminin baskılanması durumu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (79). Bu olayın tam tersi bir durum, yani dopaminin de bazı durumlarda GABA reseptörlerini baskıladığı mekanizmalar bildirilmiştir (80).

2.2.2.4. Glutamaterjik Sistem

Glutamat beyinde bulunan eksitator (kolaylaştırıcı) bir nörotransmitterdir. Glutamat, amigdaladan NAc'ye uzanan glutamaterjik bağlantılar yoluyla, sırayla indüklenen

davranışsal plastisitenin birincil aracısı durumundadır. Tekrarlanan kokain alımı sonrasındaki glutamat salınımındaki artış, kokainin yol açtığı duyarlılaşmaya aracılık eder (81-83). Glutamaterjik sinyal iletiminin madde kullanımının nüks etmesi durumunu hızlandırmada da önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (84).

2.2.2.5. Nöradrenerjik Sistem

Santral sinir sisteminde bulunan nöradrenalin içeren sinir hücreleri seruleus bölgesinde bulunurlar. Nöradrenalin ve dopamin sentezinde öncül madde tirozindir (85). Noradrenerjik sistem, çevresel uyaranlara gösterilen tepkilerin kontrol edilmesinin yanında dikkat, bellek, duygu-durum ve öğrenme yetileri üzerinde de rollere sahiptir. Motivasyon ve dürtüsel hareketler gibi işlevlerde de etkili olduğu düşünülmektedir (86). Madde bağımlılığında nöradrenalinle ilgili yapılan çalışmalarda, yoksunluk sendromu yaşanan durumlarda nöradrenalin dönüşümünün arttığı gözlenmiştir (87,88).

2.2.2.6. Santral Nitrerjik Sistem

Serbest radikal gaz nitrik oksit (NO), çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynar ve merkezi sinir sisteminde nörotransmitter olarak görev yapar. L-argininini NO ve sitrüline dönüştüren nitrikoksitsentetaz (NOS) enzimi tarafından öncü l-arginin'den sentezlenir. Yapılan çalışmalarda NOS inhibitörlerinin morfin yoksunluğu belirtilerini azalttığı belirtilmiştir (89,90). Kokain ve amfetamin gibi psikostimulan maddelerle yapılan çalışmalarda, psikomotor uyarıcılar ile kombinasyon halinde verilen NOS inhibitörlerinin, psikostimulan kaynaklı aktiviteyi ve lokomotor duyarlılaşmayı değiştirdiği gözlenmiştir. NOS inhibitörleri ile tedavi edilen kemirgenlerde, amfetamin ve kokainin lokomotor uyarıcı etkilerine duyarlılık gelişimi azalmıştır (91-93).

2.2.2.7. Kannabinoid Sistem

Santral sinir sistemin çok yaygın olarak bulunan kannabinoid reseptörlerinden CB1 Ventral tegmental alanda (VTA) ve nükleus akümbenste (NAc) yoğunlaşmıştır. Beyin kannabinoid reseptörü olarak da isimlendirilirler (94). Kannabis bitkisinde bulunan en önemli psikoaktif bileşen olan Δ^9 -THC ve bunun dışındaki kannabinoid agonistleri nükleus akümbensteki dopamin salınımını arttırmaktadırlar (95).

Sıçanlarla yapılan çalışmalarda, kannabinoid CB1 reseptör antagonisti olan rimonabantın morfin bağımlısı sıçanlarda yoksunluk belirtilerini azalttığı gösterilmiştir (96).

Uzun sürelerde günlük düzenli kannabinoid kullanımı sonucunda hafıza ve bilişsel işlevlerde geri dönüşsüz bozulmaların meydana gelmesinin sebebinin, düzenli Δ^9 -THC'a maruz kalma sonucunda CB1 reseptör sayısının bu işlevlerden sorumlu beyin bölgelerinde azalmış olması öne sürülmektedir (97,98).

2.3. Madde Kullanım Bozuklukları Ve Genetik

Toplumsal ve psikolojik koşulların yanı sıra biyolojik yollardaki varyasyonlar ve genetik polimorfizmler de bağımlılığın hem başlangıcı hem de devamı ile ilişkilendirilmiştir (99). Yapılan aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları, genetik faktörlerin çevresel faktörlerle etkileşimler yoluyla tedaviden sonra bağımlılık davranışına ve nüksetmeye katkıda bulunduğunu sürekli olarak bildirmiştir (100,101). Madde kullanım bozuklukları için yapılan genetik birliktelik çalışmalarının amacı, bağımlılığın gelişiminde veya ilerlemesinde rol oynayabilecek genetik belirteçleri tanımlamaktır. Bu belirteçlerin tanımlanması madde kullanım bozukluklarının tedavisinde veya önlenmesinde yardımcı olabilir. Genetik birliktelik çalışmalarının iki ana kategorisi vardır. Aday gen ilişkilendirme çalışmaları (CGAS), önceden tanımlanmış belirteçlerin MKB fenotipleri ile ilişkisini test eder (102,103). Genom çapında yapılan ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), bir MKB fenotipi ile yüz binlerce tek nükleotid polimorfizmi (SNP) arasında, gen fonksiyonu hakkında önceden bilgi sahibi olmadan tüm genom boyunca önemli ilişkileri test eder. Böylece, GWAS MKB'ye katkıda bulunan yeni aday genleri tanımlayabilir. Bunun yanında da bir sonuçla ilişkili tüm SNP'lerin genom çapında bir öneme sahip olsun ya da olmasın, toplam etkisini poligenetik bir risk puanı (PRS) ile modelleyebilir (104,105).

Bu çalışmalar sonucunda çeşitli bağımlılık yapıcı maddeler için ilişkili bazı genler belirlenmiştir.

Örneğin alkol bağımlılığı için ADH1B, ADH1C ve ALDH2 genlerinin alkol ara maddesinin işlenmesinde, kannabinoid bağımlılığında CNR1, CNR2, FAAH ve ABCB1 genleri , tüm madde kullanım bozukluklarında etkili olan dopaminerjik yollardaki mekanizmalar için DRD2, MAOA ve COMT genleri, serotonerjik mekanizmalar için HTR3A, HTR1B, HTR3B genleri, GABAerjik mekanizmalar için GABRA1, GABRA2, GAD1, KCNJ9 genleri, glutaminerjik yolak için GRIN2C geni fonksiyonel öneme sahip genlerden bazılarıdır (106-114)

2.4. Madde Kullanım Bozuklukları Ve Epigenetik

Epigenetik mekanizmaların çalışması, genetik olmayan etkilerin DNA dizisini değiştirmeyip, DNA transkripsiyonunu veya transkripsiyonu takip eden gen ekspresyonunu nasıl etkilediğinin araştırılmasını ifade eder. Genellikle gen ekspresyonunu azaltan spesifik genlerin metilasyonu, protein translasyonunu düzenlemek için merkezi olan küçük, kodlanmayan düzenleyici RNA sınıfı olan mikroRNA üretiminde (miRNA) değişiklikler ve asetilasyon yoluyla DNA uyumunu değiştiren, translasyon için erişilebilirliği değiştiren histon modifikasyonu epigenetik etkilerdendir (115,116).

Gen ekspresyonu çalışmaları, MKB üzerindeki epigenetik etkilerin önemini ve çeşitliliğini göstermektedir. Genel olarak, bu çalışmalar gen ifadesindeki maddeye özgü değişiklikleri ve çoklu madde kullanımıyla ilişkili gen ifadesindeki farklılıkları göstermektedir (117-119).

Alkol kullanım bozukluğunda alkolün beyindeki gen ekspresyonu üzerine etkileri oldukça yoğun şekilde çalışılmış ve belgelenmiştir (120,121). SLC6A3 tarafından kodlanan dopamin transporteri promoterinin (DAT) hipermetilasyonu alkol kullanım bozukluğu hastalarında pozitif ilişkili bulunmuştur (122). MAOA ve MAOB genleri ile yapılan DNA metilasyon çalışmalarında da bu genlerin metilasyon değişikliklerinin nikotin bağımlılığıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (123,124). Yapılan bir diğer çalışmada ise OPRM1 geninin promotöründe artan DNA metilasyonu seviyesinin de eski opioid kullanıcılarında kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirtilmiştir (125).

Hayvan çalışmaları ve moleküler literatürde, madde kullanımının nöronları etkileyen protein translasyonunu ve nöroplastisiteyi değiştirdiğini gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Diğer birçok fonksiyonunun yanı sıra miRNA'lar sinaps gelişimi ve nöronal plastisitenin kontrolünde de yer alırlar. miRNA'ların MKB'ye olan etkisi ile ilgili çalışmalar genellikle kokain kullanıcıları ile gerçekleştirilmiş ve dopaminerjik, glutamaterjik ve peptiderjik nörotransmitter sistemlerinde ve hücre iskeleti organizasyonun ve transkripsiyonel regülasyonun kontrolünde yer alan proteinlerin değişimlerine odaklanmıştır (126-130).

Asetilasyon ve deasetilasyon gibi histon modifikasyonları, MKB ile ilişkili beyin fonksiyonunda uzun süreli değişikliklerde rol oynamaktadır. Örneğin, alkol kullanım

bozukluklarında genom genelinde ve promotöre özgü değişiklikler için beyin bölgesine ve hücre tipine özgü histon asetilasyonu modifikasyonları bildirilmiştir. Özellikle, bazı beyin bölgelerinde gen ekspresyon profillerinin değişikliği, yoksunluk semptomlarının gelişmesine katkıda bulundukları belirtilmiştir (131). Benzer şekilde, kokain kullanıcılarında ödülle ilişkili bölgelerde özellikle nükleus akümbenste global histon asetilasyon seviyelerinin yüksek olduğu belirtilmiştir. Histon modifikasyonlarının, ilaç bağımlılığı ve yoksunluk semptomlarını düzenlemek için beyin yapı ağlarını koordine ettiği düşünülmektedir (132).

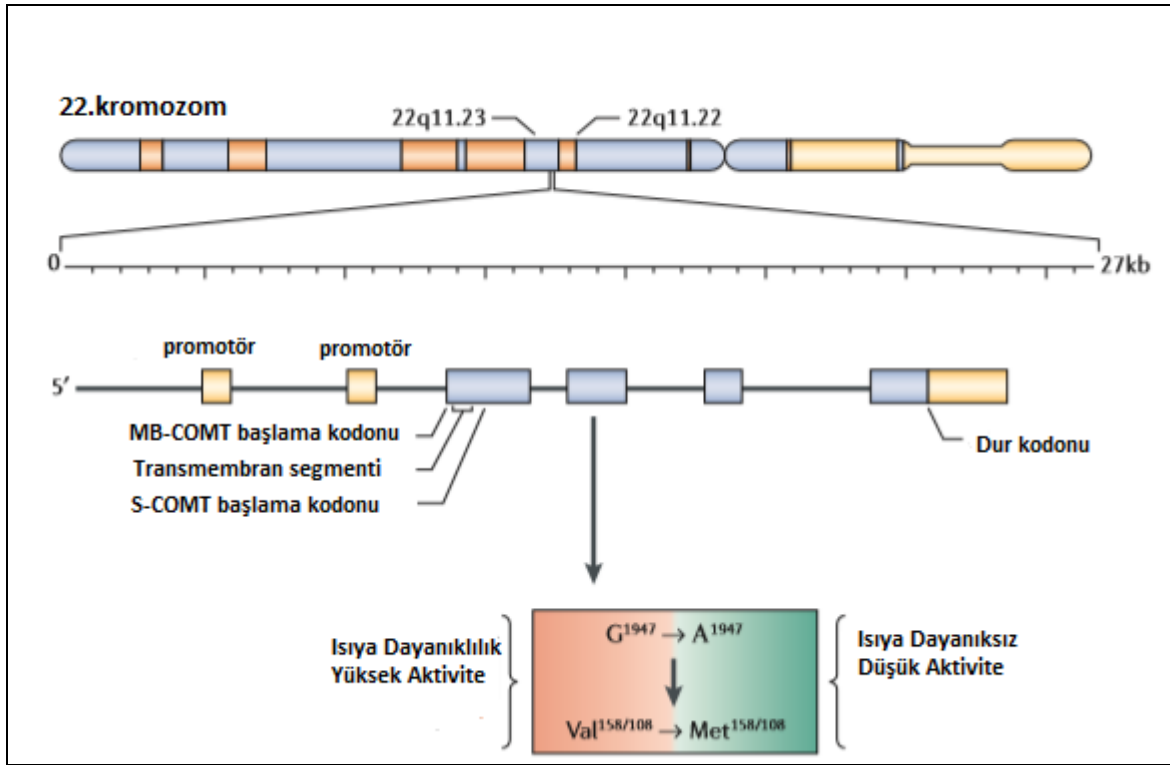
2.5. Madde Kullanım Bozukluğunda Rolü Olabilecek Aday Genler

2.5.1. Katekol-o-metiltransferaz (COMT) Geni

COMT enzimi insanda 22q11.2'de lokalize olan bir gen tarafından kodlanmaktadır ve membran bağlı COMT (MB-COMT) ile soluble-çözünmüş COMT (S-COMT) olmak üzere kendi promoter bölgesine sahip iki farklı protein izoformuna sahiptir (133). Genellikle beyin sinir hücrelerinde eksprese olan MB-COMT izoformu yüksek substrat ilgisi göstermesine rağmen genellikle karaciğer, kan ve böbrek dokularında eksprese olan S-COMT'a göre daha düşük katalitik etkisi bulunmaktadır (134-136).

COMT enzimi beynin prefrontal korteksinde dopamin nörotransmitterlerinin degradasyonu ve eliminasyonundan sorumludur. Dopamin gibi katekolamin ve katekolamin içeren maddelerin metabolizmasında rol oynayan ve böylece dopaminerjik sistemin önemli elemanlarından olan COMT enzimi ve COMT geni fonksiyonel varyantları birçok çalışmada odak noktası olmaktadır. Çözünmüş formu olan S-COMT'ta 108., membran-bağlı MB-COMT'ta 158. kodonlardaki Guanin-Adenin değişimi ve bu değişim sonucunda Valin-Metiyonin aminoasit değişimi COMT geninin oldukça yaygın fonksiyonel varyantlarıdır. Bu fonksiyonel varyantlar için Valin aminoasiti bulunduran, ısıya dayanıklı ve yüksek aktiviteli, (H-High) ve metiyonin aminoasiti bulunduran, ısıya dayanıksız ve düşük aktiviteli (L-Low) allellerden oluşan üç farklı genotip (HH, HL, LL) tanımlanmıştır. Gendeki bu fonksiyonel varyantlar sebebiyle düşük enzim aktivitesi gösteren genotipe sahip bireylerdeki katekolamin metabolizması, hızlı enzim aktivitesi gösteren genotipe sahip bireylerdekine göre yaklaşık 4 kat daha düşük olmaktadır (137,138). COMT geninin kromozom

lokalisasyonu ve sahip olduğu izoformlar ile fonksiyonel varyantları Şekil 2.3'te gösterilmiştir (139).



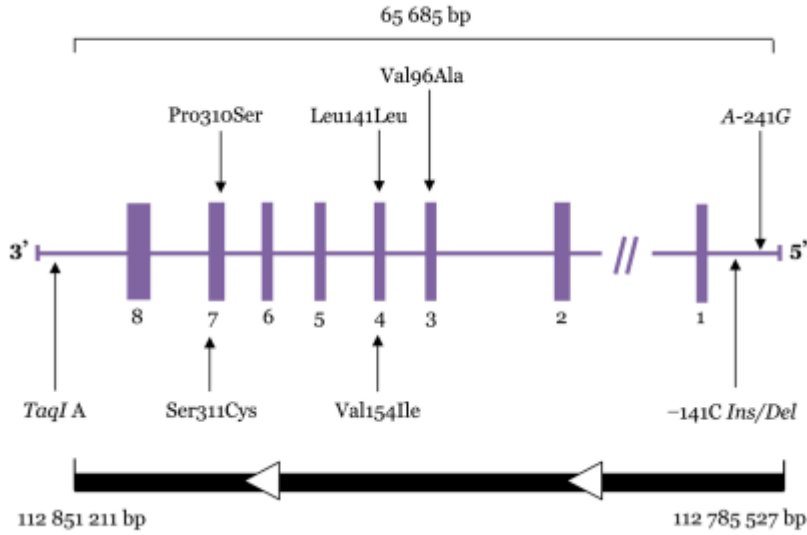
Şekil 2-3: COMT geni lokalizasyonu ve fonksiyonel varyantlarının gösterimi (139).

Val108Met ve Val158Met polimorfizmleri, COMT aktivitesini ve dolayısıyla dopamin seviyelerini modüle eder ve daha önceki çalışmalarla madde kullanımına bağlanmıştır. Polimorfizmlerin yanında COMT gen metilasyonunun da COMT ekspresyonunu ve dolaylı olarak COMT aktivitesini etkileyebileceği bilinmektedir (140).

2.5.2. Dopamin Reseptör D2 (DRD2) Geni

D1 benzeri reseptörler ve D2 benzeri reseptörler olmak üzere iki sınıfa ayrılan dopamin reseptörleri dopaminin ve dopamin bileşenlerinin etkilerini düzenlerler. Bu düzenleme mekanizmalarının en önemlisi olan adenilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesinde siklik AMP (cAMP) uyarılır veya baskılanır. Genel olarak D1 benzeri reseptörler olan DRD1 ve DRD5 adenilat siklaz aktivitesini dolayısıyla cAMP aktivasyonunu uyarırken, D2 benzeri reseptörler olan DRD2, DRD3 ve DRD4 ise bu mekanizmayı baskılar (141,142).

Kromozom 11q23.2’de lokalize olan DRD2 geninde, Val96Ala, Leu141Leu, Val154Ile, Pro310Ser, Ser311Cys, TaqI A, A-241G ve -141C Ins/Del polimorfizmleri bulunmaktadır (Şekil 2.4) (143).



Şekil 2-4: DRD2 Gen Yapısı ve Fonksiyonel Varyantları (143).

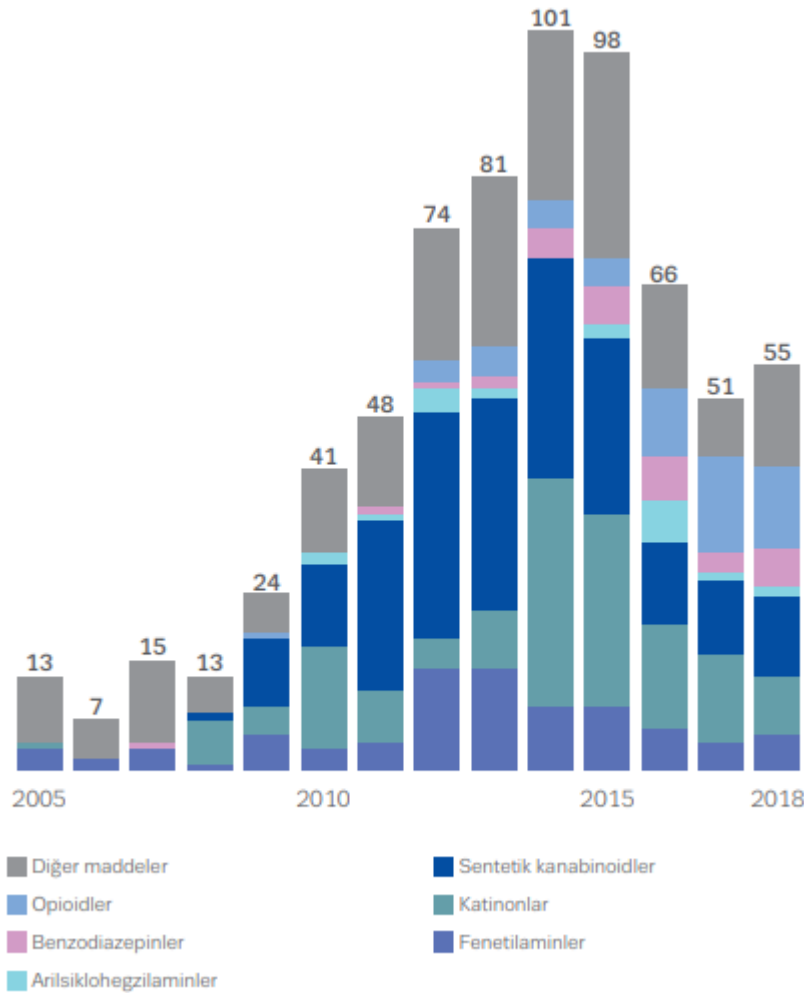
-141C Ins/Del polimorfizmi DRD2 geninin 5’ promotör bölgesinde lokalizedir ve -141 pozisyonundaki sitozinin insersiyon (Ins) veya delesyonu (del) durumudur. Genellikle psikiyatrik hastalık çalışmalarında analizleri yapılmıştır. Bu fonksiyonel varyantın DRD2 ekspresyonunu değiştirdiği, bu bölgede Del alleli taşıyan bireylerde DRD2 ifadesinin çok daha düşük olduğu gösterilmiştir (144).

Yapılan bir diğer çalışmada da DRD2-141C Ins / Del polimorfizminin metilasyon oranlarını etkileyebildiği belirtilmiştir (145).

2.6. Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDDA) 2019 Verileri

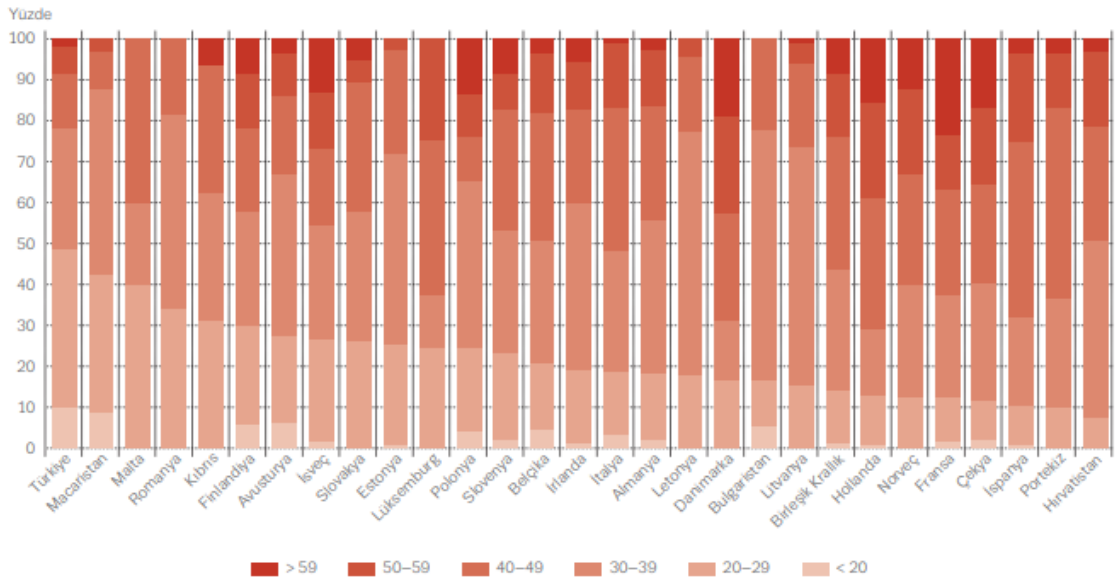
Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDDA) her yıl, Avrupa Birliği ülkeleri, Norveç ve Türkiye olmak üzere 30 ülkenin uyuşturucu ilişkili bilgilerini ve kullanım istatistiklerini aktardığı kapsamlı bir rapor yayınlamaktadır. 2019 yılında yayınlanan son uyuşturucu rapora göre, Avrupa’daki kannabinoid kullanıcı sayısının genç yetişkin grubunda (15-34 yaş) 17,5 milyon, yetişkin grubunda (35-64 yaş) ise 24,7 milyon olduğu tahmin edilmektedir. Kokain kullanıcı sayısı genç yetişkinlerde 2,6 milyon, yetişkinlerde 3,9 milyon, MDMA kullanıcısı genç yetişkinlerde 2,1 milyon, yetişkinlerde 2,6 milyon, amfetaminlerin genç yetişkinlerde

1,2 milyon, yetişkinlerde 1,7 milyon ve opioid kullanıcı sayısının da toplamda 1,3 milyon olduğu bildirilmiştir. İstatistikler kannabinoid kullanıcılarının madde bağımlılığında en yüksek orana sahip olduğunu göstermektedir. 15-24 yaş grubu kullanıcılarının yaklaşık %20'si geçtiğimiz yıl kannabinoid kullandığını bildirmiştir. EMCDDA 2018 sonu itibariyle erken uyarı sistemiyle bildirilen 730'un üzerinde yeni psikoaktif maddeyi izlemektedir. Bunlardan 55'i Avrupa'da ilk kez 2018 yılında tespit edilmiştir. Bu maddeler, sentetik kannabinoid, uyarıcılar, opioidler ve benzodiazepinler gibi geniş bir aralıktaki uyuşturucuları oluşturmaktadır. Son yıllarda bildirilen yeni maddeler arasında sentetik kannabinoidler ve katinonlar baskın konumdadırlar. 2005-2018 yılları arasındaki erken uyarı sistemine bildirilen maddeler Şekil 2.5'te gösterilmiştir (146).



Şekil 2-5: AB Erken Uyarı Sistemine ilk defa bildirilen yeni psikoaktif maddelerin sayıları ve kategorileri (146).

Raporun Türkiye ile ilgili verilerinde, Türkiye’de ele geçirilen MDMA, eroin, amfetamin, metamfetamin miktarının Avrupa Birliği’nin tamamında ele geçirilenden daha fazla olduğu, yine Türkiye’de ele geçirilen kubar esrar miktarının da diğer herhangi bir ülkeden yüksek olduğu bildirilmiştir. Aşırı doza bağlı ölümlerde Türkiye’de yaş ortalamasının Avrupa ülkelerinin ortalamasından daha genç olduğu görülmektedir (Şekil 2.6). Türkiye’de aşırı doza bağlı ölümlerde yaş ortalaması 32 olarak belirlenmiştir. Türkiyede son yıllarda sentetik kannabinoidlere bağlı ölüm sayısında büyük bir artış bildirilmiştir. 2015’te 137 olan sayı 2017’de 563’e çıkmıştır. Sentetik kanabinoidler, Türkiye’de raporlanan uyuşturucuya bağlı tüm ölüm vakalarının %60’ında mevcuttur ve bu vakaların büyük kısmı yirmili yaşlarındaki genç erkeklerdir (146).



Şekil 2-6: Avrupa’da Yaşa Göre Uyuşturucu Kaynaklı Raporlanan Ölümlerin Dağılımı (146)

2.7. Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (TUBİM) 2019 Verileri

Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi her sene Türkiye’deki uyuşturucu kullanımı, ele geçirilen uyuşturucu miktarı ve uyuşturucuya bağlı ölüm istatistiklerini de içeren oldukça kapsamlı bir rapor hazırlamaktadır. Rapora göre Türkiye coğrafi konumu ve nüfusunun genç olması nedeniyle uyuşturucudan doğrudan ve çok yakından etkilenen ülkelerdendir. Türkiye hem Asya’da üretilen ve Avrupa’ya

transfer edilen başta eroin olmak üzere afyon türevleri kaçakçılığında, hem de Avrupa'da üretilen ve Asya'ya sevkiyatı yapılan sentetik uyuşturucu ve ara kimyasal kaçakçılığında transit ve hedef ülkedir. Türkiye'de ele geçirilen uyuşturucu madde miktarlarının Avrupa genelinden çok yüksek olduğunu belirten EMCDDA raporları da bu bilgiyi desteklemektedir (146,147).

2018 yılında Türkiye'de 2018-2023 Uyuşturucu ile Mücadele Ulusal Strateji Belgesi ve Eylem Planı yürürlüğe girmiş ve ülkemizin uyuşturucu ile mücadele misyonu güncellenmiştir. Bu eylem planıyla, öncelikle uyuşturucunun arzının ve uyuşturucuya olan talebin önlenmesi amaçlanmaktadır. Hayatında en az bir kere madde kullananların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde;

- 15-24 yaş grubu %35,4,
- 25-34 yaş grubu %30,
- 35-44 yaş grubu %18,3,
- 45-54 yaş grubu %7,8,
- 55-64 yaş grubu %8,5 olduğu görülmüştür.

En yoğun yaş grubu %65 ile 15-34 yaş grubudur. Maddeyi ilk kullanım yaş ortalaması ise 19 olarak bildirilmiştir. Rapora göre 2018 yılında madde bağlantılı ölüm olaylarının %45,8'inde sentetik kannabinoid mevcuttur. Sentetik kannabinoid (bonzai) görülen ölümlerin %48,8'inde ise ölüm tek başına bu maddeden kaynaklanmıştır.

Tedavi istatistiklerine bakıldığında 2018 yılında yatarak tedavi görenlerin cinsiyete göre dağılımları incelendiğinde, %95,5'inin erkek, %4,5'inin kadın olduğu ve bu dağılımın geçtiğimiz yıllarla benzer olduğu belirtilmiştir. Tedaviye başvuran hastaların yaş ortalaması 27,2 olarak bulunmuştur. Tedavi olanların yaş grubuna göre dağılımı incelendiğinde; tedaviye başvuran hastaların 20-29 yaş grubu arasında yoğunlaştığı görülmektedir (147).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Mayıs 2019 ve Ocak 2020 tarihleri arasında İstanbul-Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi 12. Psikiyatri Kliniği'nde 'Madde Kullanım Bozukluğu' tanısı almış olan 18 yaşından büyük 218 birey gönüllü onam formları imzalatılıp onayları alınarak çalışmaya dahil edildi. Çalışma için İstanbul Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 22.01.2019 tarihli 2019/87 dosya numaralı etik kurul onayı alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylerden alınan kan örnekleri analizler başlayana kadar İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki araştırma laboratuvarlarında uygun sıcaklıkta (-20°C) saklandı.

Kontrol grubuna dahil edilen 18-63 yaş arası sigara, alkol ve herhangi bir madde kullanımı bulunmayan, akut ya da kronik hastalık tanısı olmayan 102 birey çalışma hakkında bilgilendirilerek ve imzalı onamları alınarak bu çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunun katılımcılarından da kan örnekleri alınarak İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki araştırma laboratuvarlarında -20°C 'de saklandı. Örnek alımı sırasında gönüllü katılımcıların demografik verileri (cinsiyet, yaş, medeni hal, çalışma durumu, eğitim durumu) kaydedildi.

3.2. Gereçler

3.2.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

- $+4^{\circ}\text{C}$ Buzdolabı (Altus)
- -20°C Derin Dondurucu (Indesit)
- Plate Santrifüj (Nüve NF200)
- Mikrosantrifüj (Nüve NF048)
- Santrifüj (Hettich Rotanta 46)
- Mini santrifüj (Biosan MSC6000)
- İnkübatör (Nüve EN055)
- Vorteks (LMS VTX 3000L)
- Isı Bloğu (Euroclone)

- Thermal Cycler (PCR cihazı) (Applied Biosystems GeneAmp 9700 ve Benchmark TC 9639)
- Spektrofotometre (Thermo Scientific NanoDrop 2000)
- Mikrodalga Fırın (Beko)
- Hassas Terazı (Sartorius)
- Yatay Jel Elektrophorez tank ve güç kaynağı (Cleaver Scientific)
- UV-Transilluminator (Vilber Lourmat)
- Otomatik Pipetler (1-10 µl, 10-100 µl, 10-1000 µl) (Eppendorf)
- Çok kanallı otomatik Pipetler (20-200 µl, 1-10 µl) (Axygen)
- Soğuk Blok (Austin Dynamics)

3.2.2. Kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar

- 2 ml mikrosantrifüj tüp (Eppendorf)
- 1,5 ml mikrosantrifüj tüp (Eppendorf)
- 0,5 ml mikrosantrifüj tüp (4titude)
- 0,2 ml mikrosantrifüj tüp (4titude)
- 14 ml falkon tüp (Falcon)
- 50 ml falkon tüp (Falcon)
- 96 kuyulu plate (Applied Biosystems)
- 96 derin kuyulu (deep well) plate
- Pipet uçları (10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl) (Axygen)
- Cam mezür (20 ml, 1000 ml)
- 4 ve 10 ml'lik EDTA'lı tüp
- 250 ml'lik cam erlen
- Pastör pipet
- Distile su (dH₂O)
- Bidistile su (bdH₂O)
- 99% etil alkol (Emsure)
- EZ-96 DNA Methylation-Gold™ Kit (Zymo Research, Katalog no: D5007)
- Plus Blood Genomic DNA Purification Kit (GeneMark, Katalog no:DP023)

- Human Methylated & Non-methylated DNA Set- İnsan metile ve unmetile DNA seti (Zymo Research, Katalog no: D5014)
- ZymoTaq™ Polymerase Kit (Zymo Research, Katalog no:E2002)
- Agaroz (Norgen)
- Etidyum Bromid (Sigma Aldrich)
- Jel yükleme boyası (Thermo Fischer Scientific)
- DNA belirteç (100 bç Ladder) (Fermantes)
- Tris/Borat/EDTA (TBE) elektroforez tampon çözelti 50X stok (Thermo Fischer Scientific)
- dNTP (Invitrogen)
- Taq DNA polimeraz enzim-5 U/μl (Thermo Fischer Scientific)
- PCR tampon çözelti (MgCl₂ içermeyen) (Thermo Fischer Scientific)
- PCR tampon çözelti (MgCl₂ içeren) (GeneMark)
- MgCl₂ (Thermo Fischer Scientific)
- DMSO (Roche)
- Primerler (Thermo Fischer Scientific)
- Kesim enzimleri (BstNI ve NlaIII) ve tampon çözeltileri (Thermo Fischer Scientific ve Genemark)

3.3. Yöntemler

Çalışmanın tüm laboratuvar test ve analizleri İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nın araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Hasta grubu ve kontrol grubuna ait bireylerden 4 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kanlar laboratuvar testleri başlayıncaya kadar -20°C derin dondurucuda saklandı. Her kan örneğinden önce lökosit izolasyonu daha sonra elde edilen lökositlerden DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

3.3.1. Tam Kandan Lökosit İzolasyonu

Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

- +4°C'de bekletilmiş bdH₂O
- 14 ml'lik falkon tüp
- Otomatik pipetler ve pipet uçları(100 μl ve 1000 μl)

- 2 ml mikrosantrifüj tüp
- Steril pastör pipet
- Santrifüj cihazları
- Vorteks

Protokol

- -20°C’de muhafaza edilen kan örnekleri oda sıcaklığına getirilirken, 14 ml’lik falkon tüplere ve 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplere örneklerin isimleri yazıldı.
- Her örnek kendi falkon tüpüne aktarılarak üzerlerine 11 ml’ye kadar bdH₂O ilavesi yapıldı.
- Falkon tüpler kuvvetlice yaklaşık 1-2 dakika boyunca elde çalkalandıktan sonra 10 dakika boyunca 2500 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüjle iki faza ayrılan örneklerin üst kısımda kalan sıvısı (yaklaşık 10 ml) steril pastör pipetlerle toplanıp atıldı.
- Kalan 1 ml’lik pelletin üzerine tekrar 11 ml’ye kadar soğuk bdH₂O ilavesi yapılarak pellet dipten kalkana kadar vorteks yapıldı.
- Tüpler tekrar 2500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüjle üst kısımda kalmış olan sıvı pastör pipetler yardımıyla toplanarak atıldı.
- Tüpte kalan pellet pipetle karıştırılıp 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve üzerlerine 1,5 ml’ye tamamlanacak şekilde bdH₂O ilavesi yapıldı.
- Tüpler vortekslenerek mikrosantrifüj cihazında 2500 rpm’de 10 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Üstte kalan sıvı pipetle pelleti kaldırmadan çekilerek atıldı.
- Kalan lökosit kısmı DNA izolasyonu yapılanaya kadar -20°C’de muhafaza edildi.

3.3.2. DNA İzolasyonu

Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

- GeneMark Plus Blood Genomic DNA Purification Kit içeriği;
 - RBC Lysis Buffer
 - Cell Lysis Buffer
 - Binding/extraction Buffer

- Wash Buffer
- Elution Buffer (10mM Tris-HCl, pH 9.0, 0.5mM EDTA)
- Proteinase K
- RNase A
- Kolon ve toplama tüpleri
- PBS
- bdH₂O
- 99% etil alkol
- 1,5 ml ve 2 ml mikrosantrifüj tüpleri
- Pipet ucu (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Isı Bloğu
- Mikrosantrifüj
- Vorteks
- Otomatik Pipet (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)

Protokol

- Toz halinde bulunan Proteinaz K tüpüne 1100 µl bdH₂O ilave edilerek vortekslendi ve kullanılabilecek kadar -20°C'de muhafaza edildi.
- Kitte bulunan talimatlarda belirtilen miktarlara göre parçalama solüsyonu bdH₂O ile, yıkama solüsyonu ise etil alkolle seyreltilti.
- -20°C'de muhafaza edilen lökosit örnekleri oda sıcaklığına getirilirken 2 ml'lik ve 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine örnek isimleri yazıldı.
- 200 µl lökosit örneği tüplere aktararak üzerine 600 µl RBC Lysis Buffer eklenerek vorteks yapıldı.
- Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra 6000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Tüpün üstünde kalan kısım atıldı.
- Kalan pelletin üzerine 200 µl PBS eklenerek çözülene kadar vortekslendi.
- 4 µl RNase A ilavesinden sonra 5 dakika oda sıcaklığında beklendi.
- 20 µl Proteinaz K ilave edilerek vorteks yapıldı.
- 400 µl Cell Lysis Buffer eklenerek 30 saniye vortekslendi.
- 500 µl Binding/extraction Buffer eklenerek tekrar 30 saniye vortekslendi.
- 70°C'ye ayarlanmış ısı bloğunda 10 dakika inkübasyon yapıldı.

- Isı bloğu 60°C'ye ayarlandı ve elution buffer test sonuna kadar inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası 5 dakika 12000rpm'de santrifüj yapıldı.
- Tüpte kalan üst kısım 1,5 ml'lik tüplere aktarılarak 200 µl etil alkol ilave edildi. Kısa bir vorteks yapıldı.
- Tüpteki bütün karışım toplama tüplerine takılmış kolonlara aktarılarak üzerlerine 700 µl wash buffer eklendi ve 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpüne biriken kısım atıldı. Tekrar 700 µl wash buffer eklenerek 12000 rpm'de 1 dakika daha santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki kısım atıldı.
- Boş kolon 10000rpm'de 1 dakika daha santrifüj edildikten sonra toplama tüpleri atılarak kolonlar 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine takıldı.
- 60°C'de ısıtılmış olan elution bufferdan 100 µl kolona aktarıldı, 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Kolonlar atılarak, DNA toplanmış tüplerin kapakları kapatıldı ve -20°C'de saklandı.

3.3.3. DNA Saflık ve Konsantrasyon Ölçümleri

- İzole edilmiş DNA'ların saflık ve konsantrasyon ölçümleri spektrofotometre cihazında gerçekleştirildi.
- Konsantrasyonları 40 ng/ µl 'den az olan DNA örnekleri için tekrar lökositten DNA izolasyonu işlemi gerçekleştirildi.
- DNA örneklerinin saflıkları OD 260/280 nm dalga boyunda 1,8 ile 2,0 arasında ölçüldü.
- Ölçümleri yapıp not edilen DNA örnekleri -20°C'de muhafaza edildi.

3.3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR tekniği temelde herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'nın özgül bölgelerinin çoğaltılması işlemidir. PCR reaksiyonu, çoğaltılmak istenen DNA/RNA dizisinin milyarlarca kopyasının elde edildiği enzimatik bir in vitro yöntemdir. Bu yöntem 1985 yılında Cetus adlı biyoteknoloji firmasında çalışan Kary Mullis adlı araştırmacı tarafından bulunmuş ve bu buluşu, araştırmacıya 1993 yılında Nobel ödülünü kazandırmıştır.

PCR reaksiyonun gerçekleşmesi için öncelikle kalıp bir DNA'ya ihtiyaç vardır. Çoğaltılmak istenen bölge için spesifik dizayn edilmiş primerler, uzayacak bölgeye eklenecek serbest nükleotidler, enzimin çalışacağı uygun koşulları sağlayan bir tampon çözelti ve ısıya dayanıklı DNA polimeraz (Taq polimeraz) enzimine de ihtiyaç bulunmaktadır. PCR metodu temelde 3 farklı aşamadan oluşur ve DNA'nın hücre içinde kendini eşlemesi mekanizmasını dayanak alır (Şekil 3.1).

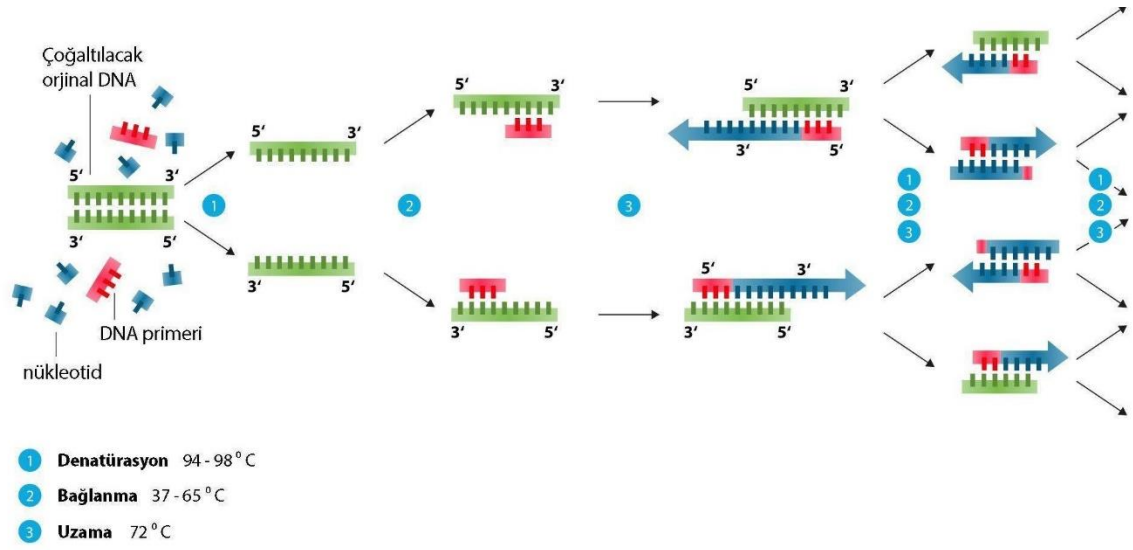
1.İlk Denatürasyon Aşaması: Bu aşamada çift iplikli DNA molekülü yüksek sıcaklık ile (94-96°C) ile 5-20 dakika arası bir zamanda tek zincirli duruma getirilir.

2.Çoğalma (Amplifikasyon): Bu aşama DNA bölgesinin uzunluğuna ve hedeflenmiş DNA kopya sayısına göre 25-45 döngü arasında tekrarlanabilir. Amplifikasyon aşaması da 3 bölümden oluşur.

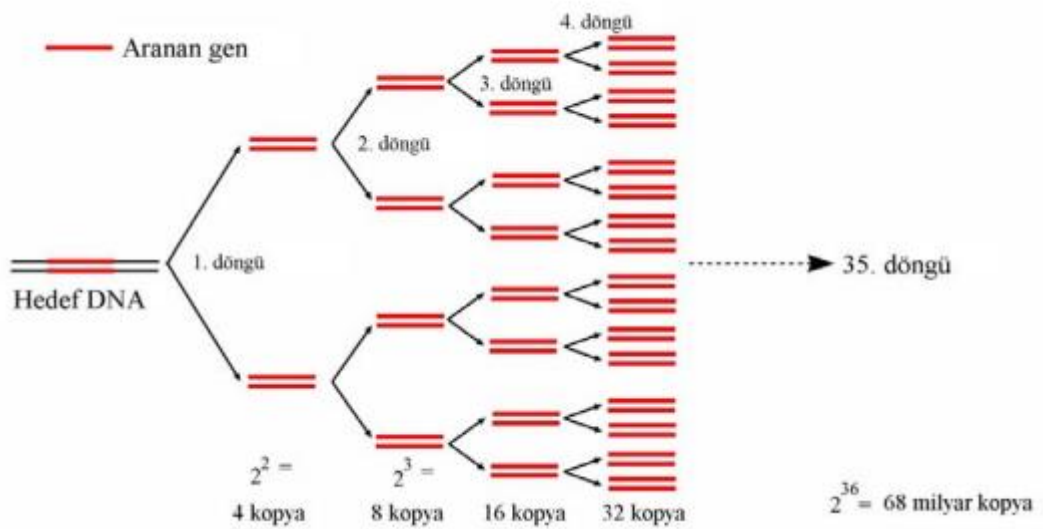
- Denatürasyon: Hedef bölgenin “G+C” oranına göre 94-96°C arasında değişen bir sıcaklığa ayarlanır.
- Bağlanma: Primerlerin sentezlenme özelliklerine ve nükleotid dizilerine göre 45-70°C arasında bir sıcaklıkta olabilir. Bu aşamada primerler tek iplikli DNA'ya bağlanır
- Uzama: DNA polimeraz enziminin aktivitesinin maksimum olması için sıcaklık 72°C'ye ayarlanır. DNA polimeraz enzimi ile dNTP'lerin varlığında hedef bölge boyunca uzatılmış olur.

Bu aşamadaki her döngünün sonunda başlangıçtaki hedef DNA materyali 2 katına çıkmış olur (Şekil 3.2).

3.Sonlanma (Son uzama): 72°C'de amplikon uzunluğuna göre 5-10 dakika arasındaki çoğalma döngülerinden sonraki aşamadır. Yeni sentezlenmiş ipliklerin uçlarının dNTP'lerle son kez eksikleri tamamlama işlemidir.



Şekil 3-1: Polimeraz zincir reaksiyonu aşamaları (148)



Şekil 3-2: Kalıp DNA'nın çoğaltılmasının üstel olarak gösterimi (149).

3.3.4.1. PCR tekniğinde kullanılan cihaz ve malzemeler

- PCR cihazı (Thermal Cycler)
- Otomatik pipetler (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Çok kanallı otomatik pipetler (1-10 µl ve 20-200 µl)
- Pipet uçları
- Vorteks
- 1,5 ml mikrosantrifüj tüpleri
- 96'lık plate

- 0,2 ml mikrosantrifüj tüpleri
- bdH₂O
- Taq DNA polimeraz
- dNTP
- PCR tampon çözelti (MgCl₂ içermeyen)
- PCR tampon çözelti (MgCl₂ içeren)
- MgCl₂
- DMSO
- Primerler

3.3.4.2. Primer hazırlığı

Liyofilize şekilde temin edilmiş primerler dizayn edildikleri prosedüre uygun şekilde bdH₂O ile çözdürüldü. Elde edilen 100 pmol/μl'lik stok primerler de 1:10 oranına göre bdH₂O ile sulandırılarak 10 pmol/μl'lik bir çözelti şeklinde uygulanacak PCR metodu için hazır hale getirildi. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: Çalışılan gen bölgelerinin primer dizileri ve koşulları

Çalışılan Bölge	Yöntem	Primer Dizisi	Bağlanma Sıcaklığı/ Döngü sayısı	Kaynak
DRD2 -141C Ins/Del	PCR-	F:5'-ACTGGCGAGCAGACGGTGAGGACCC-3'	63°C / 35 döngü	144
	RFLP	R:5'-TGCGCGCGTGAGGCTGCCGGTTCGG-3'		
COMT Val158Met	PCR-	F: 5'-ACTGTGGCTACTCAGCTGTG-3'	58°C / 35 döngü	138
	RFLP	R: 5'-CCTTTTCCAGGTCTGACAA-3'		

3.3.4.3. PCR içeriğinin hazırlanması ve PCR koşulları

DRD2 -141C Ins/Del bölgesi ve COMT Val158Met bölgesi için farklı PCR içerikleri uygulanmıştır. İki bölge için de hazırlanan PCR içerikleri Tablo 3.2 ile Tablo 3.3'te ve PCR programları Tablo 3.4 ve Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3-2: DRD2 -141C Ins/Del bölgesi için hazırlanan PCR içeriği

Reaktifler	Hacim
bdH₂O	13,1 µl
PCR tampon çözelti (MgCl₂ içermeyen)	2,5 µl
MgCl₂	2 µl
dNTP	2 µl
F primer	1 µl
R primer	1 µl
DMSO	1 µl
Taq DNA Polimeraz	0,3 µl
DNA	3 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3-3: COMT Val158Met bölgesi için hazırlanan PCR içeriği

Reaktifler	Hacim
bdH₂O	15,2 µl
PCR tampon çözelti (MgCl₂ içeren)	2,5 µl
dNTP	2 µl
F primer	1 µl
R primer	1 µl
Taq DNA Polimeraz	0,3 µl
DNA	3 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3-4: DRD2 -141C Ins/Del bölgesi için PCR koşulları

Sıcaklık Değeri	Bekleme Süresi	Döngü sayısı
95⁰C	5 dakika	1 döngü
95⁰C	30 saniye	
63⁰C	45 saniye	35 döngü
72⁰C	1 dakika	
72⁰C	5 dakika	1 döngü
4⁰C	∞	

Tablo 3-5: COMT Val158Met bölgesi için PCR koşulları

Sıcaklık Değeri	Bekleme Süresi	Döngü sayısı
95°C	5 dakika	1 döngü
95°C	30 saniye	
58°C	40 saniye	35 döngü
72°C	1 dakika	
72°C	5 dakika	1 döngü
4°C	∞	

3.3.5. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Polimorfizm çalışmalarında sıklıkla kullanılan restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism = RFLP) metodu temelde kesim enzimleri kullanılarak DNA'nın farklı büyüklüklerdeki parçalarına ayrılmasına dayanır. Kesim enzimleri DNA üzerindeki tanıma bölgelerine bağlanarak DNA'yı o bölgeden keserler. Oluşan farklı baz uzunluğundaki DNA parçaları jel elektroforezinde büyüklüklerine göre ayrılırlar. Bu çalışmada DRD2 geni -141C Ins/Del fonksiyonel varyantı ile COMT geni Val158Met fonksiyonel varyantı PCR-RFLP tekniğiyle analiz edilmiştir.

3.3.5.1. Enzim Kesimi

Kullanılan cihaz ve malzemeler

- İnkübatör
- Vorteks
- Otomatik pipetler (10 µl ve 100 µl)
- Çok kanallı otomatik pipetler (1-10 µl ve 20-200 µl)
- Pipet uçları
- 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüp
- Soğuk Blok

Enzim Kesimi Koşulları

DRD2 (-141C Ins/Del) bölgesi ve COMT Val158Met bölgesi için farklı kesim enzimleri kullanıldı ve farklı enzim kesimi koşulları uygulandı. İki bölge için de

hazırlanan enzim kesimi içerikleri Tablo 3.6 ve Tablo 3.7’de ve kullanılan enzimlerin inkübasyon ve kesim bölgesi bilgileri Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3-6: DRD2 (-141C Ins/Del) bölgesi için BstNI enzim kesimi içeriği

Reaktifler	Hacim
bdH ₂ O	5,2 µl
10X kesim tampon çözeltisi	1,5 µl
Restriksiyon enzimi	0,3 µl
PCR ürünü	8 µl
Toplam	15 µl

Tablo 3-7: COMT Val158Met bölgesi için NlaIII enzim kesimi içeriği

Reaktifler	Hacim
bdH ₂ O	2,9 µl
10X kesim tampon çözeltisi	1,6 µl
Restriksiyon enzimi	0,5 µl
PCR ürünü	15 µl
Toplam	18 µl

Tablo 3-8: Çalışılan bölgelerin analizinde kullanılan kesim enzimleri

Çalışılan Bölge	Kesim Enzimi	İnkübasyon sıcaklığı/Süresi	Kesim Bölgesi
DRD2 (-141c Ins/Del)	BstNI	37°C / 1 gece	5'...CC↓WGG...3' 3'...GGW↑CC...5'
COMT (Val158Met)	NlaIII	37°C / 1 gece	5'...CATG↓...3' 3'...↑GTAC...5'

3.3.6. Metilasyon Spesifik PCR (MSP)

Sadece metillenmiş CpG dizilerine özgü olarak tasarlanan metil-spesifik primerler kullanılarak DNA’nın çoğaltıldığı ve oluşan fragmentlerin jel elektroforezinde yürütülerek metile olmuş ve olmamış bölgelerin ayırt edilebildiği yöntemdir. Hızlı ve yüksek hassasiyete sahip olan MSP yöntemi kalitatif bir yöntemdir. Primer tasarımı

yapılırken, en az bir CpG bölgesi içeren ve bu CpG bölgelerinin primerlerin 3' ucuna yakın olması gerekmektedir. Her bir ampikon için 2 çift primer kullanılır. CpG bölgelerinde bir sitozin içeren forward ve reverse olarak metile primer seti ve CpG bölgelerinde sitozin yerine timin içeren forward ve reverse olarak unmetile primer seti dizayn edilir.

MSP yöntemi için analiz edilecek DNA örneklerine ilk aşamada bisülfite dönüşümü yapılmalıdır.

3.3.6.1. DNA Bisülfite Dönüşümü

DNA'nın metilasyon statusünü belirlemek için sodyum bisülfite modifikasyonu altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemle DNA'daki metillenmemiş tüm sitozinler kimyasal reaksiyonla Urasil'e çevrilir. DNA'daki metillenmiş olan sitozinler ise reaksiyon süresince değişmeden kalır.

Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

- Vorteks
- Plate santrifüj
- Otomatik pipetler (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Çok kanallı otomatik pipet (20-200 µl)
- PCR cihazı
- EZ-96 DNA Methylation-Gold™ Kit içeriği;
 - CT Conversion Reagent
 - M-Dilution Buffer
 - M-Dissolving Buffer
 - M-Binding Buffer
 - M-Wash Buffer
 - M-Desulphonation Buffer
 - M-Elution Buffer
 - Silicon-A™ Plate
 - Conversion Plate ve kaplama filmi
 - Collection Plate
 - Elution Plate

- Human Methylated & Non-methylated DNA Set- İnsan metile ve unmetile DNA seti (Zymo Research Katalog no: D5014)
- 99% etil alkol
- bdH_2O

Protokol

- **CT Conversion Reagent Hazırlanması**
 - Bir şişe CT Conversion Reagent içine 9 ml distile su, 500 μ l M-Dissolving Buffer ve 3 ml M-dilution buffer eklendi.
 - Oda sıcaklığında 15 dakika boyunca sık sık vorteksleme veya çalkalama ile karıştırıldı ve homojen bir karışım elde edildi.
- **M- Wash Buffer Hazırlanması**
 - Kullanımdan önce 36 ml M-Wash buffer içerisine 144 ml 99% etanol eklendi.
- Tüm DNA örneklerinin konsantrasyonları 200 ng/ μ l olacak miktarda ayarlandı.
- Conversion plate içerisine 130 μ l CT Conversion Reagent ve 20 μ l DNA örneği eklendi.
- Her plate için 1 kuyuya insan metile DNA örneği, 1 kuyuya da insan unmetile DNA örneğinden 1'er μ l eklendi.
- DNA örneğinin hacmi 20 μ l'den az olanlarda fark bdH_2O ile tamamlandı. Pipetleyerek örnekler karıştırıldı.
- Plate verilen filmle kapatıldı. PCR cihazında Tablo 3-9'daki adımlar gerçekleştirildi.

Tablo 3-9: DNA Bisülfid dönüşümü PCR koşulları

Sıcaklık Değeri	Bekleme süresi	Döngü Sayısı
98 °C	10 dakika	1 döngü
64 °C	150 dakika	1 döngü
4 °C	∞	

- Collection Plate'e yerleştirilmiş Silicon-A Binding Plate'in kuyucuklarına 400 μ l M-Binding Buffer eklendi.

- Örnekler Conversion Plate'den Silicon-A Binding Plate'in kuyucuklarına aktarıldı. Pipetleyerek karıştırıldı.
- 5 dakika boyunca 3000 x g 'de santrifüj edildi. Alttaki plate'e akan kısım atıldı.
- Plate'in her kuyucuğuna 400 µl M-Wash Buffer eklendi. 5 dakika 3000 x g'de santrifüj edildi. Alttaki plate'e akan kısım atıldı.
- Plate'in her kuyucuğuna 200 µl M-Desulphation Buffer eklenir. 15-20 dakika oda sıcaklığında beklendi. İnkübasyondan sonra 5 dakika 3000 x g'de santrifüj edildi. Alttaki plate'e akan kısım atıldı.
- Plate'in her kuyucuğuna 400 µl M-Wash Buffer eklendi. 5 dakika 3000 x g'de santrifüj edildi. Alttaki plate'e akan kısım atıldı.
- Plate'in her kuyucuğuna 400 µl M-Wash Buffer eklendi 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Alttaki plate'e akan kısım atıldı.
- Silicon-A Binding Plate bir elüsyon plate'ine yerleştirildi. Her bir kuyucuğa doğrudan 30 µl M-Elution Buffer eklendi. 5 dakika oda sıcaklığında beklendikten sonra 3000 x g'de 3 dakika santrifüj edildi.
- Bu bisülfid dönüşümü işlemi 218 hasta grubu ve 102 kontrol grubu olmak üzere toplamda 320 DNA örneğine uygulandı.
- DNA bisülfid dönüşümü yapılmış örneklerin konsantrasyonları ölçüldü. Konsantrasyonların 30 ng/ µl ile 60 ng/ µl arasında olduğu görüldü.
- DNA bisülfid dönüşümü yapılmış her bir örneğin bulunduğu plateler ileri testler yapılana kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.3.6.2. MSP metodu Primer hazırlığı

MB-COMT ve DRD2 genlerinin analizinde her bölge için 1 çift metile ve 1 çift unmetile olmak üzere 2 çift primer kullanıldı. Liyofilize halde bulunan primerler, dizayn prosedürlerine göre ddH_2O ile çözdürüldü. Elde edilen 100 pmol/µl'lik stok primerler de 1:10 oranına göre ddH_2O ile sulandırıldı. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları Tablo 3.10'da gösterilmiştir.

Tablo 3-10: Çalışmada kullanılan primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları

Çalışılan Bölge		Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Bağlanma Sıcaklığı/ Döngü sayısı
DRD2	MSP M*	CGTTTAGGTCGGGG ATCGTCG	GACGCCCGAACGCGAA AAACGCG	67°C / 40 döngü
DRD2	MSP U**	TGTTTAGGTTGGGG ATTGTTG	AACACCCAAACACAAA AAACACA	56°C / 40 döngü
MB-COMT	MSP M	TATTTTGTTATCGT CGCGC	AACGAACGCAAACCGTA ACG	56°C / 40 döngü
MB-COMT	MSP U	TATTTTGTTATTGT TGTGT	AACAAACACAAACCATA ACA	

*MSP M: Metile primer, **MSP U: Unmetile primer

Kullanılan Cihaz ve malzemeler

- PCR cihazı
- Vorteks
- Otomatik pipetler (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Çok kanallı otomatik pipet (1-10 µl ve 20-200 µl)
- ZymoTaq™ Polymerase kit içeriği
 - dNTP mix
 - 2x reaksiyon buffer
 - bdH₂O
 - Taq DNA polimeraz enzim
- 96 kuyulu plate
- 14 ml falkon tüp

3.3.6.3. MSP metodu için gerekli PCR içeriği ve PCR koşulları

Her örnek hem metile primerlerle hem de unmetile primerlerle hazırlanan PCR koşullarında çoğaltılarak çalışılmıştır. MSP metodu içeriği Tablo 3.11'de ve bölgelere göre PCR koşulları Tablo 3.12'de verilmiştir.

Tablo 3-11: MSP metodu PCR içeriği

Reaktifler	Hacim
2x Reaction Buffer	25 µl
dNTP Mix	0,5 µl
Forward Primer	2 µl
Reverse Primer	2 µl
Bisüfitlenmiş DNA miktarı	2,8 µl
Taq DNA Polimeraz	0,4 µl
bdH ₂ O	17,3 µl
Toplam	50 µl

Tablo 3-12: MSP metodu PCR koşulları

Sıcaklık Değeri	Bekleme Süresi	Döngü sayısı
95°C	10 dakika	1 döngü
95°C	30 saniye	
Primere göre	40 saniye	40 döngü
72°C	45 saniye	
72°C	7 dakika	1 döngü
4°C	∞	

3.3.7. Agaroz Jel Elektroforezi

Kullanılan cihaz ve malzemeler

- Mikrodalga fırın
- Yatay jel elektroforez sistemi
- Jel görüntüleme sistemi
- Hassas Terazî
- Otomatik pipetler (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- 250 ml Erlen
- Agaroz
- Etidyum Bromid
- Jel yükleme boyası
- DNA belirteç (100 bp Ladder)

- TBE tampon çözelti

3.3.7.1. TBE Tampon çözelti Hazırlanması

50X stok TBE tampon çözeltisi 1/50 oranında ddH_2O ile seyreltilerek 1X TBE tampon çözelti olarak elektroforezde ve agaroz jel hazırlamada kullanılmak üzere hazırlandı.

3.3.7.2. Agaroz Jel Hazırlanması

- Kullanılan farklı metodlarda PCR kontrolü ve analizi yapılacak ürünler için farklı ölçülerde agaroz jeller hazırlandı. Bunlar;
 - RFLP metodu uygulanacak PCR ürünlerinin kontrol edilmesi amacıyla 3 gram agaroz tartılarak 120 ml 1X TBE buffer ile hazırlanmış %2,5'lük agaroz jel,
 - Enzim kesimi yapılmış PCR ürünlerinin analizi için 4,2 gram agaroz tartılarak 120 ml 1X TBE buffer ile hazırlanmış %3,5'lük agaroz jel,
 - Bisüfitlenmiş DNA örneklerinin kontrolü için 2,4 gram agaroz tartılarak 120 ml 1X TBE buffer ile hazırlanmış %2'lik agaroz jel,
 - MSP metodu ile çalışılmış bisüfitlenmiş DNA örneklerinin metilasyon analizi için 3,6 gram agaroz tartılarak 120 ml 1X TBE buffer ile hazırlanmış %3'lük agaroz jel mikrodalga fırında ısıtılıp çözdürüldükten sonra soğutularak hazırlandı.
- 60°C'ye kadar soğutulmuş olan homojen agaroz jel çözeltisinin içerisine içine 8 μl EtBr eklenerek karıştırıldı.
- Yükleme yapılacak kuyuları belirleyen taraklar yerleştirilmiş olan elektroforez tabağına hazırlanan çözelti döküldü. Jel soğuyup donduktan sonra taraklar dikkatlice çıkarıldı ve 1X TBE tampon çözeltisinin olduğu elektroforez tankına yerleştirildi.

3.3.7.3. Örneklerin jele yüklenmesi ve yürütülmesi

- Analiz edilecek her üründen 10 μl ve yükleme boyasından ise 5 μl pipetajla karıştırılarak kuyulara yüklendi.
- Görüntülenecek bantların boyutlarının belirlenebilmesi için 100 bp-1000 bp aralığında DNA belirteci ilk kuyulara yüklendi.

- RFLP metoduyla kesim yapılmış örneklerin yüklenmesinde kesilmemiş PCR ürünü de yüklenerek karşılaştırma yapıldı.
- MSP metoduyla metilasyon analizinde teyit amacıyla metile ve unmetile DNA örnekleri de yüklendi.
- Farklı ürünlerin kontrol ve analizleri yapılırken farklı voltaj ve sürelerle yürütme işlemi gerçekleştirildi.
 - RFLP metodu uygulanacak PCR ürünleri 120 voltta 25 dakika,
 - Enzim kesimi yapılmış ürünler 80 voltta 60 dakika,
 - Bisüfitlenmiş DNA örnekleri 110 voltta 40 dakika,
 - MSP metodu ile çalışılmış ürünler 130 voltta 30 dakika sürelerle elektroforezde yürütüldü.
- Yürütme işlemlerinden sonra jeller UV ışık altında jel görüntüleme sisteminde görüntülendi ve fotoğraflandı.

3.3.7.4. RFLP kesim sonuçlarının belirlenmesi

Enzim kesimi yapılmış gen bölgelerinin allelleri Tablo 3.13'deki bç uzunluklarına göre belirlenmiştir.

Tablo 3-13: Çalışılan bölgelere ait allel bantlarının uzunlukları

Gen ve Polimorfizm	Allel bant uzunlukları (bç)	Kaynak
COMT (Val158Met)	Val: 114+29+26	138
	Met: 96+29+26+18	
DRD2 (-141C Ins/Del)	Ins: 160, 144	144
	Del: 303	

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen niceliksel ölçümlere ait tanımlayıcı değerler ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum olarak; kategorik ölçümlere ait tanımlayıcı değerler ise sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Niceliksel değişkenlerin normal dağılım dağılmadığı Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Gruplar arasında niceliksel değişkenlerin ortalamaları bakımından karşılaştırmalarda ise Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Gruplar arasında kategorik değişkenlerin görülme oranlarının karşılaştırılmasında Pearson ki-kare testi ve Fisher Exact testi kullanılmıştır. İstatistik

anlamlılık düzeyi olarak 0.05 alınmış ve $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hesaplamalarda SPSS (ver. 21) programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

İstanbul-Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Psikiyatri bölümünde madde kullanım bozukluğu tanısı almış (MKB) 218 birey ve herhangi bir madde ve sigara kullanımı olmayan sağlıklı 102 birey çalışmamıza dahil edildi. MKB olan bireylerin yaş ortalaması $28,63 \pm 6,70$ iken, kontrol grubuna dahil olan bireylerin yaş ortalaması $30,94 \pm 10,56$ 'dır. MKB bireylerin tamamı erkek bireylerden oluşmaktayken, kontrol grubu 48 kadın, 54 erkek bireyden oluşmaktadır. MKB bireyler ve kontrol grubunun demografik verilerini karşılaştırdığımızda MKB bireylerin eğitim düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,001$). MKB bireylerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bir yüzdesinin çalışmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,001$). MKB grubu ve Kontrol grubuna ait demografik veriler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: MKB ve kontrol grubuna ait demografik veriler

		MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Cinsiyet	Kadın	0 (%0)	48 (%47,1)	<0,001
	Erkek	218 (%100)	54 (%52,9)	
Medeni Durum	Evli	46 (%21,1)	37 (%41,6)	<0,001
	Bekar	151 (%69,3)	52 (%58,4)	
	Boşanmış	12 (5,5)	0 (%0)	
	Evli ama ayrı	9 (%4,1)	0 (%0)	
Eğitim Düzeyi	Okuryazar	5 (2,3)	0 (%0)	<0,001
	İlkokul	67 (30,7)	6 (%7)	
	Ortaokul	94 (43,1)	3 (%3,5)	
	Lise	40 (18,3)	4 (%4,7)	
	Üniversite	12 (5,5)	73 (%84,9)	
Çalışma Durumu	Öğrenci	3 (%1,4)	40 (%44,9)	<0,001
	Çalışıyor	62 (%28,4)	40 (%44,9)	
	Çalışmıyor	153 (%70,2)	9 (%10,1)	
Sigara Kullanımı	Var	215 (98,6)	0 (%0)	<0,001
	Yok	3 (%1,4)	100 (%100)	
Alkol Kullanımı	Var	39 (%17,9)	0 (%0)	<0,001
	Yok	179 (%82,1)	100 (%100)	

4.1.1. MKB Grubunun Madde Kullanımına Ait Veriler

MKB tanısı almış tüm bireylerin %79,8'i yoğun olarak sentetik kannabinoid kullanırken, %20,2'si ise yoğun olarak kannabinoid kullanmaktadır. MKB bireylerin %44,5'unda çoklu madde kullanımı bulunmakta ve %54,1 oranına bireyde her gün kullanım görülmektedir. MKB bireylerin %25,2'si madde kullanımına 15 yaşından küçükken başlamıştır. MKB bireylerin %74,8'i ise en az bir kere hastanede yatarak tedavi görmüştür. MKB bireylerin madde kullanımlarına ait veriler Tablo 4.2 de verilmiştir.

Tablo 4-2: MKB olan bireylerin madde kullanımına ait veriler

		MKB Grubu N (%)
Yaygın Kullanılan Madde	Sentetik Kannabinoid	174 (%79,8)
	Kannabinoid	44 (%20,2)
Çoklu Madde Kullanımı	Var	97 (%44,5)
	Yok	121 (%55,5)
Kullanılan İkinci Madde	Kannabinoid	38 (%39,2)
	Ekstazi	29 (%29,9)
	Sentetik Kannabinoid	23 (%23,7)
	Bali	3 (%3,1)
	Kokain	2 (%2,1)
	Eroin	2 (%2,1)
Kullanılan Üçüncü Madde	Ekstazi	20 (%83,3)
	Kokain	2 (%8,3)
	Eroin	1 (%4,2)
	Bali	1 (%4,2)
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı	100 (%45,9)
	Aralıksız	118 (%54,1)
Yatarak Tedavi	Var	163 (%74,8)
	Yok	55 (%25,2)
Madde Başlama Yaşı	≤15	80 (%36,5)
	>15	139 (%63,5)
Madde Kullanma Süresi	<10 sene	125 (%57,3)
	≥10 sene	93 (%42,7)

4.1.2. MKB Grubuna Ait Demografik Veriler

MKB grubu bireylerin %56,4'ünde psikotik bulguya rastlanmıştır ve bu tanıyı alan bireylerin %89,3'ünün madde bağlı psikoz tanısı aldığı belirlenmiştir. Bireylerin %70'i en az bir kere intihar girişiminde bulunurken, %53,7'sinin cezaevi veya gözaltı gibi adli öyküsü bulunmaktadır. MKB bireylerin %45,4'ünün aile hikayesinde bir psikiyatrik bozukluk görülmektedir. MKB bireylerin demografik verileri Tablo 4.3'te verilmiştir.

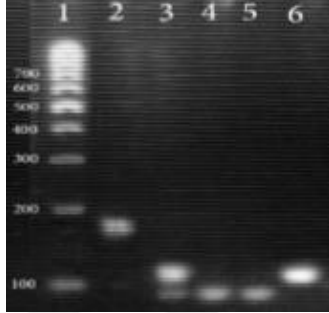
Tablo 4-3: Madde Kullanım Bozukluğu olan gruba ait demografik veriler

		MKB Grubu
		N (%)
Psikotik Bulgu	Var	123 (%56,4)
	Yok	95 (43,6)
Psikoz Tanısı	Madde Bağlı Psikoz	109 (%89,3)
	Bipolar Bozukluk	7 (%5,7)
	Depresyon	3 (%2,5)
	Atipik Psikoz	2 (%1,6)
	Antisosyal Kişilik Bozukluğu	1 (%0,8)
İntihar Girişimi	Var	152 (%70)
	Yok	65 (%30)
Adli Öykü	Var	116 (%53,7)
	Yok	100 (%46,3)
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var	99 (%45,4)
	Yok	119 (%54,6)

4.2. COMT Geni Val158Met Varyantına Ait Veriler

COMT geni Val158Met bölgesi PCR ürününe ve NlaIII enzimi kesim ürünlerine ait örnek agaroz jel fotoğrafı Şekil 4.1'de yer almaktadır. COMT Val158Met varyantına ait genotip ve allel frekansları kontrol grubu ve MKB olan grup arasında karşılaştırıldığında ve bireyler yoğun olarak kullandıkları maddeye göre ayrılarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında COMT geni Val158Met varyantının genotip ve

allel dağılımlarında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. MKB ve Kontrol grubundan elde edilen COMT geni Val158Met varyantına ait veriler Tablo 4.4'te, kullandıkları maddeye göre COMT geni Val158Met varyantına ait veriler Tablo 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4-1: COMT Val158Met bölgesi PCR ve kesim ürünleri

1: Belirteç, 2: PCR ürünü, 3: Val/Met, 4 ve 5: Met/Met, 6: Val/Val

Tablo 4-4: COMT geni Val158Met varyantı genotip ve allel dağılımı

COMT Val158Met		MKB Grubu	Kontrol Grubu	p
		N (%)	N (%)	
Genotip	Val/Val	66 (%30,4)	26 (%32,9)	0,348
	Val/Met	99 (%45,6)	29 (%36,7)	
	Met/Met	52 (%24,0)	24 (%30,4)	
	Toplam	217 (%100)	79 (%100)	
Allel	Val	231 (%53,2)	81 (%51,3)	0,673
	Met	203 (%46,8)	77 (%48,7)	
	Toplam	434 (%100)	158 (%100)	

Tablo 4-5: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT geni Val158Met varyantı genotip ve allel dağılımı

Yoğun Kullanılan Madde	COMT Val158Met	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Sentetik Kannabinoid	Genotip	Val/Val	51 (%29,4)	0,397
		Val/Met	79 (%45,7)	
		Met/Met	43 (%24,9)	
	Toplam	173 (%100)	79 (%100)	
Kannabinoid	Allel	Val	181 (52,3)	0,827
		Met	165 (%47,7)	
		Toplam	346 (%100)	
	Genotip	Val/Val	15 (34,1)	0,451
		Val/Met	20 (%45,4)	
		Met/Met	9 (%20,5)	
	Toplam	44 (%100)	79 (%100)	
Kannabinoid	Allel	Val	50 (%56,8)	0,403
		Met	38 (%43,2)	
		Toplam	88 (%100)	

4.2.1. COMT Geni Val158Met Varyantı Birleştirilmiş Genotip Sonuçları

COMT Val158Met varyantına ait birleştirilmiş genotip frekans dağılımları kontrol grubu ve MKB olan grup arasında karşılaştırıldığında ve bireyler yoğun olarak kullandıkları maddeye göre ayrılarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında COMT geni Val158Met varyantının birleştirilmiş genotip dağılımlarında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. MKB ve Kontrol grubundan elde edilen COMT geni Val158Met varyantına ait birleştirilmiş genotip dağılımlarına ait veriler Tablo 4.6’da, kullandıkları maddeye göre COMT geni Val158Met varyantına ait birleştirilmiş genotip dağılımına ait veriler Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4-6: COMT Geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının karşılaştırılması

COMT Val158Met	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Met/Met+Val/Met	151 (%69,6)	53 (%67,1)	0,681
Val/Val	66 (%30,4)	26 (%32,9)	
Toplam	217 (%100)	79 (%100)	

Tablo 4-7: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT geni Val158Met birleştirilmiş genotip dağılımı

Yoğun Kullanılan Madde	COMT Val158Met	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Sentetik	Met/Met+Val/Met	122 (%70,5)	53 (%67,1)	0,583
Kannabinoid	Val/Val	51 (%29,5)	26 (%32,9)	
	Toplam	173 (%100)	79 (%100)	
Kannabinoid	Met/Met+Val/Met	29 (%65,9)	53 (%67,1)	0,894
	Val/Val	15 (%34,1)	26 (%32,9)	
	Toplam	44 (%100)	79 (%100)	

4.2.2. MKB Bireylerde COMT Geni Val158Met Varyantına Ait Verilerin Çeşitli Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

MKB tanısı konmuş bireylerin klinik parametreleri COMT geni Val158Met varyantı genotip sonuçları ile karşılaştırıldığında çoklu madde kullanımı ile anlamlı ($p<0,05$) ve psikotik bulgu ile de yüksek anlamlı ($p<0,001$) ilişki saptanırken diğer parametrelerle herhangi bir anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). COMT geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımı sonuçlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması sonucunda çoklu madde kullanımı ve psikotik bulgu parametreleri anlamlı olarak bulunmuştur ($p<0,05$). COMT geni Val158Met varyantı genotip ve klinik parametre karşılaştırması Tablo 4.8’de, allel ve klinik parametre karşılaştırması Tablo 4.9’da verilmiştir.

Tablo 4-8: MKB Bireylerde COMT VAL158MET genotip frekans dağılımlarının çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET Gen Varyantları			p
			N (%)	N (%)	N (%)	
			Met/Met	Val/Met	Val/Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		17 (%17,5)	41 (%42,3)	39 (%40,2)	0,011
	Yok		35 (%29,2)	58 (%48,3)	27 (%22,5)	
Alkol Kullanımı	Var		10 (%25,6)	13 (%33,3)	16 (%41)	0,184
	Yok		42 (%23,6)	86 (%48,3)	50 (%28,1)	
Sigara Kullanımı	Var		52 (%24,2)	98 (%45,6)	65 (%30,2)	1,000
	Yok		0 (%0)	1 (%50)	1 (%50)	
Psikotik Bulgu	Var		27 (%22,1)	72 (%59)	23 (%18,9)	<0,001
	Yok		25 (%26,3)	27 (%28,4)	43 (%45,3)	
İntihar Girişimi	Var		16 (%24,6)	26 (%40)	23 (%35,4)	0,519
	Yok		36 (%23,8)	72 (%47,7)	43 (%28,5)	
Adli Öykü	Var		22 (%19)	57 (%49,1)	37 (%31,9)	0,200
	Yok		29 (%29,3)	41 (%41,4)	29 (%29,3)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		28 (28,6)	42 (%42,9)	28 (%28,6)	0,353
	Yok		24 (%20,2)	57 (%47,9)	38 (%31,9)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		26 (%26)	50 (%50)	24 (%24)	0,165
	Aralıksız		26 (%22,2)	49 (%41,9)	42 (%35,9)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		32 (%25,8)	61 (%49,2)	31 (%25)	0,135
	≥10 yıl		20 (%21,5)	38 (%40,9)	35 (%37,6)	

Tablo 4-9: COMT Geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET Allel		p
			N (%)	N (%)	
			Met	Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		75 (%38,7)	119 (%61,3)	0,002
	Yok		128 (%53,3)	112 (%46,7)	
Alkol Kullanımı	Var		33 (%42,3)	45 (%57,7)	0,383
	Yok		170 (%47,8)	186 (%52,2)	
Sigara Kullanımı	Var		202 (%47)	228 (%53)	0,626
	Yok		1 (%25)	3 (%75)	
Psikotik Bulgu	Var		126 (%51,6)	118 (%48,4)	0,026
	Yok		77 (%40,5)	113 (%59,5)	
İntihar Girişimi	Var		58 (%44,6)	72 (%55,4)	0,558
	Yok		144 (%47,7)	158 (%52,3)	
Adli Öykü	Var		101 (%43,5)	99 (%50)	0,180
	Yok		99 (%50)	131 (%56,5)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		98 (%50)	98 (%50)	0,222
	Yok		105 (%44,1)	133 (%55,9)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		102 (%51)	98 (%49)	0,103
	Aralıksız		101 (%43,2)	133 (%56,8)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		125 (%50,4)	123 (%49,6)	0,080
	≥10 yıl		78 (%41,9)	108 (%58,1)	

COMT geni Val158Met varyantı genotip sonuçları ile klinik parametrelerin karşılaştırılması MKB bireylerin yoğun olarak kullandığı maddelere göre yapıldığında ise, yoğun olarak sentetik kannabinoid kullanıcılarında çoklu madde kullanımı, psikotik bulgu ve madde kullanım süresi parametreleriyle istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunurken ($p<0,05$), kannabinoid kullanıcılarında sadece psikotik bulgu parametresinde istatistiksel olarak yüksek anlamlılık belirlenmiştir ($p<0,001$). Elde edilen bulgular Tablo 4.10 ve Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Yoğun kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met genotip frekanslarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET gen varyantları			p
			N (%)	N (%)	N (%)	
			Met/Met	Val/Met	Val/Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		14 (%20,6)	26 (%38,2)	28 (%41,2)	0,025
	Yok		29 (%27,6)	53 (%50,5)	23 (%21,9)	
Alkol Kullanımı	Var		9 (%25)	13 (%36,1)	14 (%38,9)	0,321
	Yok		34 (%24,8)	66(%48,2)	37 (%27)	
Sigara Kullanımı	Var		43 (%25,1)	78 (%45,6)	50 (%29,2)	1,000
	Yok		0 (%0)	1 (%50)	1 (%50)	
Psikotik Bulgu	Var		22 (%22,2)	56 (%56,6)	21 (%21,2)	0,002
	Yok		21 (%28,4)	23 (%31,1)	30 (%40,5)	
İntihar Girişimi	Var		11 (%20,8)	23 (%43,4)	19 (%35,8)	0,437
	Yok		32 (%26,7)	56 (%47,7)	32 (%26,7)	
Adli Öykü	Var		18 (%20)	46 (%51,1)	26 (%28,9)	0,266
	Yok		24 (%29,3)	33 (%40,2)	25 (%30,5)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		23 (31,9)	31 (%43,1)	18 (%25)	0,172
	Yok		20 (%19,8)	48 (%47,5)	33 (%32,7)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		19 (%26,8)	38 (%53,5)	14 (%19,7)	0,058
	Aralıksız		24 (%23,5)	41 (%40,2)	37 (%36,3)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		28 (%26,9)	54 (%51,9)	22 (%21,2)	0,012
	≥10 yıl		15 (%21,7)	25 (%36,2)	29 (%42)	

Tablo 4-11: Yoğun kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met genotip frekanslarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET gen varyantları			p
			N (%)	N (%)	N (%)	
			Met/Met	Val/Met	Val/Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		3 (%10,3)	15 (%51,7)	11 (%37,9)	0,069
	Yok		6 (%40)	5 (%33,3)	4 (%26,7)	
Alkol Kullanımı	Var		1 (%33,3)	0 (%0)	2 (%66,7)	0,207
	Yok		8 (%19,5)	20(%48,8)	13 (%31,7)	
Sigara Kullanımı	Var		9 (%20,5)	20 (%45,5)	15 (%34,1)	*
	Yok		0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Psikotik Bulgu	Var		5 (%21,7)	16 (%69,6)	2 (%8,7)	<0,001
	Yok		4 (%19)	4 (%19)	13 (%61,9)	
İntihar Girişimi	Var		5 (%41,7)	3 (%25)	4 (%33,3)	0,119
	Yok		4 (%12,9)	16 (%51,6)	11 (%35,5)	
Adli Öykü	Var		4 (%15,4)	11 (%42,3)	11 (%42,3)	0,357
	Yok		5 (%29,4)	8 (%47,1)	4 (%23,5)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		5 (19,2)	11 (%42,3)	10 (%38,5)	0,763
	Yok		4 (%22,2)	9 (%50)	5 (%27,8)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		7 (%24,1)	12 (%41,4)	10 (%34,5)	0,644
	Aralıksız		2 (%13,3)	8 (%53,3)	5 (%33,3)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		4 (%20)	7 (%35)	9 (%45)	0,339
	≥10 yıl		5 (%20,8)	13 (%54,2)	6 (%25)	

*İstatistiksel koşullar sağlanamamıştır.

COMT geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımı sonuçları ile klinik parametrelerin karşılaştırılması MKB bireylerin yoğun olarak kullandığı maddelere göre yapıldığında ise, yoğun olarak sentetik kannabinoid kullanıcılarında çoklu madde kullanımı ve madde kullanma süresi parametreleriyle istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunurken ($p<0,05$), kannabinoid kullanıcılarında sadece psikotik bulgu parametresinde istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmiştir ($p<0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.12 ve Tablo 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4-12: Yoğun kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET Allel		p
			N (%)	N (%)	
			Met	Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		54 (%39,7)	82 (%60,3)	0,017
	Yok		111 (%52,9)	99 (%47,1)	
Alkol Kullanımı	Var		31 (%43,1)	41 (%56,9)	0,427
	Yok		134 (%48,9)	140 (%51,1)	
Sigara Kullanımı	Var		164 (%48)	178 (%52)	0,624
	Yok		1 (%25)	3 (%75)	
Psikotik Bulgu	Var		100 (%50,5)	98 (%49,5)	0,225
	Yok		65 (%43,9)	83 (%56,1)	
İntihar Girişimi	Var		45 (%42,5)	61 (%57,5)	0,201
	Yok		120 (%50)	120 (%50)	
Adli Öykü	Var		82 (%45,6)	98 (%54,4)	0,477
	Yok		81 (%49,4)	83 (%50,6)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		77 (%53,5)	67 (%46,5)	0,069
	Yok		88 (%43,6)	114 (%56,4)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		76 (%53,5)	66 (%46,5)	0,070
	Aralıksız		89 (%43,6)	115 (%56,4)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		110 (52,9)	98 (%47,1)	0,017
	≥10 yıl		55 (%39,9)	83 (%60,1)	

Tablo 4-13: Yoğun kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET Allel		p
			N (%)	N (%)	
			Met	Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		21 (%36,2)	37 (%63,8)	0,066
	Yok		17 (%56,7)	13 (%43,3)	
Alkol Kullanımı	Var		2 (%33,3)	4 (%66,7)	0,695
	Yok		36 (%43,9)	46 (%56,1)	
Sigara Kullanımı	Var		38 (%43,2)	50 (%56,8)	*
	Yok		0 (%0)	0 (%0)	
Psikotik Bulgu	Var		26 (%56,5)	20 (%43,5)	0,010
	Yok		12 (%28,6)	30 (%71,4)	
İntihar Girişimi	Var		13 (%54,2)	11 (%45,8)	0,230
	Yok		24 (%38,7)	38 (%61,3)	
Adli Öykü	Var		19 (%36,5)	33 (%63,5)	0,133
	Yok		18 (%52,9)	16 (%47,1)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		21 (%40,4)	31 (%59,6)	0,524
	Yok		17 (%47,2)	19 (%52,8)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		28 (%44,8)	32 (%55,2)	0,665
	Aralıksız		12 (%40)	18 (%60)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		15 (%37,5)	25 (%62,5)	0,326
	≥10 yıl		23 (%47,9)	25 (%52,1)	

4.2.3. MKB Bireylerde COMT Geni Val158Met Varyantı Birleştirilmiş Genotip Dağılımlarının Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

COMT Val158Met varyantına ait birleştirilmiş genotip frekans dağılımları klinik parametrelerle karşılaştırıldığında çoklu madde kullanımı ve madde kullanma süresi parametreleriyle istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), psikotik bulgu parametresiyle de yüksek anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,001$). Diğer parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Elde edilen bulgular Tablo 4.14'te gösterilmiştir.

Tablo 4-14: MKB bireylerde COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET Birleştirilmiş Genotipler		p
			N (%)	N (%)	
			Met/Met+Val/Met	Val/Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		58 (%59,8)	39 (%40,2)	0,005
	Yok		93 (%77,5)	27 (%22,5)	
Alkol Kullanımı	Var		23 (%59)	16 (%41)	0,112
	Yok		128 (%71,9)	50 (%28,1)	
Sigara Kullanımı	Var		150 (%69,8)	65 (%30,)	0,517
	Yok		1 (%50)	1 (%50)	
Psikotik Bulgu	Var		99 (%81,1)	23 (%18,9)	<0,001
	Yok		52 (%54,7)	43 (%45,3)	
İntihar Girişimi	Var		42 (%64,6)	23 (%35,4)	0,312
	Yok		108 (%71,5)	43 (%28,5)	
Adli Öykü	Var		79 (%68,1)	37 (%31,9)	0,680
	Yok		70 (%70,7)	29 (%29,3)	
Ailede psikiyatrik bozukluk	Var		70 (%71,4)	28 (%28,6)	0,592
	Yok		81 (%68,1)	38 (%31,9)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		76 (%76)	24 (%24)	0,058
	Aralıksız		75 (%64,1)	42 (%35,9)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		93 (%75)	31 (%25)	0,045
	≥10 yıl		58 (%62,4)	35 (%37,6)	

COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip sonuçları ile klinik parametrelerin karşılaştırılması MKB bireylerin yoğun olarak kullandığı maddelere göre yapıldığında ise, yoğun olarak sentetik kannabinoid kullanıcılarında çoklu madde kullanımı, psikotik bulgu, madde kullanım sıklığı ve madde kullanma süresi parametreleriyle istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunurken ($p<0,05$), kannabinoid kullanıcılarında sadece psikotik bulgu parametresinde istatistiksel olarak yüksek anlamlılık belirlenmiştir ($p<0,001$). Elde edilen bulgular Tablo 4.15 ve Tablo 4.16’da gösterilmiştir.

Tablo 4-15: Yoğun kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			COMT VAL158MET Birleştirilmiş Genotipler		p
			N (%)	N (%)	
			Met/Met+Val/Met	Val/Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		40 (%58,8)	28 (%41,2)	0,007
	Yok		82 (%78,1)	23 (%21,9)	
Alkol Kullanımı	Var		22 (%61,1)	14 (%38,9)	0,164
	Yok		100 (%73)	37 (%27)	
Sigara Kullanımı	Var		121 (%70,8)	50 (%29,2)	0,504
	Yok		1 (%50)	1 (%50)	
Psikotik Bulgu	Var		78 (%78,8)	21 (%21,2)	0,006
	Yok		44 (%59,5)	30 (%40,5)	
İntihar Girişimi	Var		34 (%64,2)	19 (%35,8)	0,222
	Yok		88 (%73,3)	32 (%26,7)	
Adli Öykü	Var		64 (%71,1)	26 (%28,9)	0,819
	Yok		57 (%69,5)	25 (%30,5)	
Ailede psikiyatrik bozukluk	Var		54 (%75)	18 (%25)	0,275
	Yok		68 (%67,3)	33 (%32,7)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		57 (%80,3)	14 (%19,7)	0,019
	Aralıksız		65 (%63,7)	37 (%36,3)	
Madde kullanma süresi	<10 yıl		82 (%78,8)	22 (%21,2)	0,003
	≥10 yıl		40 (%58)	29 (%42)	

Tablo 4-16: Yoğun kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

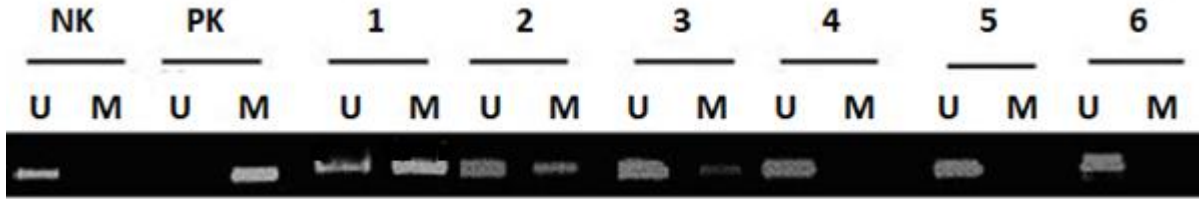
			COMT VAL158MET		p
			Birleştirilmiş Genotipler		
			N (%)	N (%)	
			Met/Met+Val/Met	Val/Val	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		18 (%62,1)	11 (%37,9)	0,455
	Yok		11 (%73,3)	4 (%26,7)	
Alkol Kullanımı	Var		1 (%33,3)	2 (%66,7)	0,264
	Yok		28 (%68,3)	13 (%31,7)	
Sigara Kullanımı	Var		29 (%65,9)	15 (%34,1)	*
	Yok		0 (%0)	0 (%0)	
Psikotik Bulgu	Var		21 (%91,3)	2 (%8,7)	<0,001
	Yok		8 (%38,1)	13 (%61,9)	
İntihar Girişimi	Var		8 (%66,7)	4 (%35,8)	0,894
	Yok		20 (%64,5)	11 (%33,3)	
Adli Öykü	Var		15 (%57,7)	11 (%42,3)	0,207
	Yok		13 (%76,5)	4 (%23,5)	
Ailede psikiyatrik bozukluk	Var		16 (%61,5)	10 (%38,5)	0,462
	Yok		13 (%72,2)	5 (%32,7)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		19 (%65,5)	10 (%34,5)	0,939
	Aralıksız		10 (%66,7)	5 (%33,3)	
Madde Kullanma süresi	<10 yıl		11 (%55)	9 (%45)	0,163
	≥10 yıl		18 (%75)	6 (%25)	

4.3. COMT Geni Metilasyon Analizine Ait Veriler

COMT geni metilasyon analizine ait agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.2’de verilmiştir.

COMT geni MSP tekniğiyle gerçekleştirilen analiz sonuçlarında MKB bireylerin kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırmaları sonucunda istatistiksel olarak yüksek anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,001$). MKB bireylerin yoğun olarak kullandıkları maddelere göre kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmalarda ise yoğun kullandıkları

madde sentetik kannabinoid olan grubun kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak yüksek anlamlılık tespit edilirken, kannabinoid kullanıcılarında istatistiksel olarak anlam bulunamamıştır ($p>0,05$). MKB bireylerin kontrol grubuyla karşılaştırılmasından elde edilen bulgular Tablo 4.17’de, yoğun kullanılan maddeye göre kontrol grubuyla yapılan COMT metilasyon bulguları Tablo 4-18’de gösterilmiştir.



Şekil 4-2: COMT geni metilasyon analizi kısmi metile ve unmetile ürünler

NK:Negatif kontrol, PK:Pozitif Kontrol, 1,2 ve 3: Kısmi metile, 4,5 ve 6: Unmetile

Tablo 4-17: MKB grubu ve kontrol grubunun COMT geni metilasyon durumu karşılaştırılması

COMT Geni Metilasyon Durumu	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Kısmi Metile	148 (%67,9)	88 (%86,3)	<0,001
Unmetile	70 (%32,1)	14 (%13,7)	
Toplam	218 (%100)	102 (%100)	

Tablo 4-18: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT Geni Metilasyon durumu karşılaştırması

Yoğun Kullanılan Madde	COMT Geni Metilasyon Durumu	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Sentetik Kannabinoid	Kısmi Metile	115 (%66,1)	88 (%86,3)	<0,001
	Unmetile	59 (%33,9)	14 (%13,7)	
	Toplam	174 (%100)	102 (%100)	
Kannabinoid	Kısmi Metile	33 (%75)	88 (%86,3)	0,097
	Unmetile	11 (%25)	14 (%13,7)	
	Toplam	44 (%100)	102 (%100)	

4.3.1. COMT Geni Metilasyon Verilerinin Çeşitli Parametrelerle Karşılaştırılması

COMT geni metilasyon analizi sonuçları MKB grubunun sahip olduğu çeşitli parametrelerle karşılaştırıldığında alkol kullanımı ve madde kullanım sıklığıyla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). MKB grubunu yoğun olarak kullandıkları maddelere ayırarak çeşitli parametrelerle COMT metilasyon verileri karşılaştırıldığında yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan MKB kullanıcılarında alkol kullanımı ve madde kullanım sıklığıyla COMT metilasyon verileri arasında istatistiksel olarak anlam bulunurken ($p<0,05$), yoğun kullandıkları madde kannabinoid olan kullanıcılarda COMT metilasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir parametre tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Tüm MKB bireylerin COMT metilasyon sonuçları ile çeşitli parametrelerin karşılaştırması Tablo 4.19’ da, sentetik kannabinoid kullanıcılarının COMT metilasyon ve parametre karşılaştırmaları Tablo 4.20’de ve kannabinoid kullanıcılarının verileri 4.21’de yer almaktadır.

Tablo 4-19: MKB bireylerde COMT metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			COMT Metilasyonu		p
			N (%)	N (%)	
			Unmetile	Kısmi Metile	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		28 (%28,9)	69 (%71,1)	0,358
	Yok		42 (%34,7)	79 (%65,3)	
Alkol Kullanımı	Var		4 (%10,3)	35 (%89,7)	0,001
	Yok		66 (%36,9)	113 (%63,1)	
Sigara Kullanımı	Var		69 (%32,1)	146 (%67,9)	1,000
	Yok		1 (%33,3)	2 (%66,7)	
Psikotik Bulgu	Var		40 (%32,5)	83 (%67,5)	0,883
	Yok		30 (%31,6)	65 (%68,4)	
İntihar Girişimi	Var		21 (%32,3)	44 (%67,7)	0,992
	Yok		49 (%32,2)	103 (%67,8)	
Adli Öykü	Var		39 (%33,6)	77 (%66,4)	0,682
	Yok		31 (%31)	69 (%69)	
Ailede Psikiyatrik bozukluk	Var		36 (%36,4)	63 (%63,6)	0,220
	Yok		4 (%28,6)	85 (%71,4)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		40 (%40)	60 (%60)	0,022
	Aralıksız		30 (%25,4)	88 (%74,6)	
Madde Kullanım Süresi	<10 yıl		38 (%30,4)	87 (%69,6)	0,531
	≥10 yıl		32 (%34,4)	61 (%65,5)	

Tablo 4-20: Yaygın kullandığı madde Sentetik Kannabinoid olan bireylerde COMT metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			COMT Metilasyonu		p
			N (%)	N (%)	
			Unmetile	Kısmi Metile	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		21 (%30,9)	47 (%69,1)	0,500
	Yok		38 (%35,8)	68 (%64,2)	
Alkol Kullanımı	Var		4 (%11,1)	32 (%88,9)	0,001
	Yok		55 (%39,9)	83 (%60,1)	
Sigara Kullanımı	Var		58 (%33,9)	113 (%66,1)	1,000
	Yok		1 (%33,3)	2 (%66,7)	
Psikotik Bulgu	Var		36 (%36)	64 (%64)	0,498
	Yok		23 (%31,1)	51 (%68,9)	
İntihar Girişimi	Var		19 (%35,8)	34 (%64,2)	0,720
	Yok		40 (%33,1)	81 (%66,9)	
Adli Öykü	Var		32 (%35,6)	58 (%64,4)	0,675
	Yok		27 (%32,5)	56 (%67,5)	
Ailede Psikiyatrik bozukluk	Var		28 (%38,4)	45 (%61,6)	0,292
	Yok		31 (%30,7)	70 (%69,3)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		32 (%45,1)	39 (%54,9)	0,010
	Aralıksız		27 (%26,2)	76 (%73,8)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		31 (%29,5)	74 (%70,5)	0,132
	≥10 yıl		28 (%40,6)	41 (%59,4)	

Tablo 4-21: Yaygın Kullandığı madde Kannabinoid olan bireylerde COMT metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			COMT Metilasyonu		p
			N (%)	N (%)	
Çoklu Madde Kullanımı	Var	Yok	Unmetile	Kısmi Metile	0,854
			7 (%24,1)	22 (%75,9)	
Alkol Kullanımı	Var	Yok	4 (%26,7)	11 (%73,3)	0,561
			0 (%0)	3 (%100)	
Sigara Kullanımı	Var	Yok	11 (%25)	33 (%75)	*
			0 (%0)	0 (%0)	
Psikotik Bulgu	Var	Yok	4 (%17,4)	19 (%82,6)	0,223
			7 (%33,3)	14 (%66,7)	
İntihar Girişimi	Var	Yok	2 (%16,7)	10 (%83,3)	0,405
			9 (%29)	22 (%71)	
Adli Öykü	Var	Yok	7 (%26,9)	19 (%73,1)	0,803
			4 (%23,5)	13 (%76,5)	
Ailede Psikiyatrik bozukluk	Var	Yok	8 (%30,8)	18 (%69,2)	0,288
			3 (%16,7)	15 (%83,3)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı	Aralıksız	8 (%27,6)	21 (%72,4)	0,582
			3 (%20)	12 (%80)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl	≥10 yıl	7 (%35)	13 (%65)	0,162
			4 (%16,7)	20 (%83,3)	

*İstatistiksel koşullar sağlanamamıştır.

4.3.2. COMT Geni Metilasyon Verileri ile COMT Geni Val158Met Varyantı Verilerinin Karşılaştırılması

MKB bireylerin COMT geni metilasyon sonuçları ile COMT geni Val158Met varyantı genotip ve allel verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). MKB bireyler yoğun kullandıkları maddelere göre ayrılarak COMT geni Val158Met varyantı hem genotip hem de allel düzeyinde COMT metilasyon analizi sonuçları karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki

saptanmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.22 ve Tablo 4.23'te gösterilmiştir.

Tablo 4-22: MKB hasta grubunda COMT Val158Met varyantlarının genotip ve allel frekanslarının COMT metilasyon durumu ile karşılaştırılması

COMT Val158Met		COMT Metilasyon Durumu		p
		N (%)	N (%)	
Genotip	Met/Met	15 (%21,7)	37 (%25)	0,751
	Val/Met	34 (%49,3)	65 (%43,9)	
	Val/Val	20 (%29)	46 (%31,1)	
	Toplam	69 (%100)	148 (%100)	
Allel	Val	74 (%53,6)	157 (%53)	0,910
	Met	64 (%46,4)	139 (%47)	
	Toplam	138 (%100)	296 (%100)	

Tablo 4-23: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin COMT geni Val158Met genotip ve allel frekanslarının COMT geni metilasyon durumu ile karşılaştırması

		COMT Metilasyon Durumu		p
		N (%)	N (%)	
Yoğun Kullanılan Madde	COMT Val158Met	Unmetile	Kısmi Metile	0,682
	Genotip	Val/Val 15 (%25,9)	36 (%31,3)	
		Val/Met 29 (%50)	50 (%43,5)	
		Met/Met 14 (%24,1)	29 (%25,2)	
Sentetik Kannabinoid	Toplam	58 (%100)	115 (%100)	0,701
	Allel	Val 59 (%50,9)	122 (%53)	
		Met 57 (%49,1)	108 (%47)	
	Toplam	116 (%100)	230 (%100)	
Kannabinoid	Genotip	Val/Val 5 (%45,5)	10 (%30,3)	0,538
		Val/Met 5 (%45,5)	15 (%45,5)	
		Met/Met 1 (%9)	8 (%24,2)	
	Toplam	11 (%100)	33 (%100)	
	Allel	Val 15 (%68,2)	35 (%53)	0,214
		Met 7 (%31,8)	31 (%47)	
	Toplam	22 (%100)	66 (%100)	

4.3.3. COMT Geni Metilasyon Verileri ile COMT Geni Val158Met Varyantı Birleştirilmiş Genotip Verilerinin Karşılaştırılması

MKB grubunun COMT geni metilasyon sonuçları COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). MKB bireyler yoğun kullandıkları maddelere göre gruplandırılarak ayrıldığında da hem sentetik kannabinoid hem de kannabinoid kullanıcılarında COMT geni metilasyonu ve COMT geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip karşılaştırmalarında istatistiksel olarak bir anlam bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.24 ve Tablo 4.25'te yer almaktadır.

Tablo 4-24: COMT Geni Val158Met varyantı birleştirilmiş genotip dağılımlarının COMT geni metilasyon durumları ile karşılaştırılması

COMT Val158Met	COMT Metilasyon Durumu		P
	N (%)	N (%)	
	Unmetile	Kısmi Metile	
Met/Met+Val/met	49 (%71)	102 (%68,9)	0,755
Val/Val	20 (%29)	46 (%31,1)	
Toplam	69 (%100)	148 (%100)	

Tablo 4-25: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun COMT geni Val158Met birleştirilmiş genotip dağılımının COMT geni metilasyon durumu ile karşılaştırılması

	COMT Val158Met	COMT Metilasyon Durumu		p
		N (%)	N (%)	
Yoğun Kullanılan Madde				
Sentetik Kannabinoid	Met/Met+Val/Met	43 (%74,1)	79 (%68,7)	0,459
	Val/Val	15 (%25,9)	36 (%31,3)	
	Toplam	58 (%100)	115 (%100)	
Kannabinoid	Met/Met+Val/Met	6 (%54,5)	23 (%69,7)	0,468
	Val/Val	5 (%45,5)	10 (%30,3)	
	Toplam	11 (%100)	33 (%100)	

4.4. DRD2 Geni -141C Varyantına Ait Veriler

DRD2 Geni -141C bölgesinin PCR ürününe ve BstNI kesim enzimi uygulanan kesim ürünlerine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.3'te yer almaktadır.

DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantına ait genotip ve allel frekansları kontrol grubu ve MKB olan grup arasında karşılaştırıldığında ve bireyler yoğun olarak kullandıkları maddeye göre ayrılarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantının genotip ve allel dağılımlarında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. MKB ve Kontrol grubundan elde edilen DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantına ait veriler Tablo 4.26'da, kullandıkları maddeye göre COMT geni Val158Met varyantına ait veriler Tablo 4.27'de gösterilmiştir.



Şekil 4-3: -141C Ins/Del bölgesi PCR ve kesim ürünleri

1: Belirteç, 2: PCR ürünü, 3: Ins/Ins, 4: Ins/Del, 5: Del/Del

Tablo 4-26: DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip ve allel dağılımı

DRD2 -141C Ins/Del		MKB olan Grup N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Genotip	Ins/Ins	174 (%79,8)	84 (%84)	0,366
	Ins/Del	42 (%19,3)	14 (%14)	
	Del/Del	2 (%0,9)	2 (%2)	
	Toplam	218 (%100)	100 (%100)	
Allel	Ins	390 (%89,4)	182 (%91)	0,546
	Del	46 (%10,6)	18 (%9)	
	Toplam	436 (%100)	200 (%100)	

Tablo 4-27: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip ve allel dağılımı

Yoğun Kullanılan Madde	DRD2 Geni -141C Ins/Del	MKB Olan Grup N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Sentetik Kannabinoid	Genotip	Ins/Ins	137 (%78,7)	0,413
		Ins/Del	35 (%20,1)	
		Del/Del	2 (%1,1)	
		Toplam	174 (%100)	
	Allel	Ins	309 (%88,8)	0,415
		Del	39 (%11,2)	
		Toplam	348 (%100)	
Kannabinoid	Genotip	Ins/Ins	37 (84,1)	0,905
		Ins/Del	7 (%15,9)	
		Del/Del	0 (%0)	
		Toplam	44 (%100)	
	Allel	Ins	81 (%92)	0,772
		Del	7 (%8)	
		Toplam	88 (%100)	

4.4.1. DRD2 Geni -141C Ins/Del Varyantı Birleştirilmiş Genotip Sonuçları

DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantına ait birleştirilmiş genotip frekans dağılımları kontrol grubu ve MKB olan grup arasında karşılaştırıldığında ve bireyler yoğun olarak kullandıkları maddeye göre ayrılarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantının birleştirilmiş genotip dağılımlarında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. MKB ve Kontrol grubundan elde edilen DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantına ait birleştirilmiş genotip dağılımlarına ait veriler Tablo 4.28’de, kullandıkları maddeye göre DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantına ait birleştirilmiş genotip dağılımına ait veriler Tablo 4.29’da gösterilmiştir.

Tablo 4-28: DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı birleştirilmiş genotip dağılımı

DRD2 Geni	MKB Olan Grup	Kontrol Grubu	p
-141C	N (%)	N (%)	
Ins/Ins+Ins/Del	216 (%99,1)	98 (%98)	0,593
Del/Del	2 (%0,9)	2 (%2)	
Toplam	218 (%100)	100 (%100)	

Tablo 4-29: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı birleştirilmiş genotip dağılımı

Yoğun Kullanılan Madde	DRD2 Geni -141C	MKB Olan Grup N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Sentetik Kannabinoid	Ins/Ins+Ins/Del	172 (%98,9)	98 (%98)	0,624
	Del/Del	2 (%1,1)	2 (%2)	
	Toplam	174 (%100)	100 (%100)	
Kannabinoid	Ins/Ins+Ins/Del	44 (%100)	98 (%98)	1,000
	Del/Del	0 (%0)	2 (%2)	
	Toplam	44 (%100)	100 (%100)	

4.4.2. MKB Bireylerde DRD2 Geni -141C Ins/Del Varyantına Ait Verilerin Çeşitli Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

MKB tanısı konmuş bireylerin klinik parametreleri DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı genotip sonuçları ile karşılaştırıldığında hiçbir parametreyle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı allel frekans dağılımı sonuçlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması sonucunda alkol kullanımı, ailede psikiyatrik bozukluk ve maddeye başlama yaşı parametreleri ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı genotip ve klinik parametre karşılaştırması Tablo 4.30'da, allel ve klinik parametre karşılaştırması Tablo 4.31'de verilmiştir.

Tablo 4-30: MKB bireylerde DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip frekans dağılımlarının çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Geni -141C Ins/Del gen varyantları			p
			N (%)	N (%)	N (%)	
			Ins/Ins	Ins/Del	Del/Del	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		78 (%80,4)	19 (%19,6)	0 (%0)	0,445
	Yok		96 (%79,3)	23 (%19)	2 (%1,7)	
Alkol Kullanımı	Var		26 (%66,7)	12 (%30,8)	1 (%2,6)	0,058
	Yok		148 (%82,7)	30 (%16,8)	1 (%0,6)	
Sigara Kullanımı	Var		172 (%80)	41 (%19,1)	2 (%0,9)	0,816
	Yok		2 (%66,7)	1 (%33,3)	0 (%0)	
Psikotik Bulgu	Var		101 (%82,1)	21 (%17,1)	1 (%0,8)	0,630
	Yok		73 (%76,8)	21 (%22,1)	1 (%1,1)	
İntihar Girişimi	Var		53 (%81,5)	12 (%18,5)	0 (%0)	0,628
	Yok		120 (%78,9)	30 (%19,7)	2 (%1,3)	
Adli Öykü	Var		92 (%79,3)	23 (%19,8)	1 (%0,9)	0,984
	Yok		80 (%80)	19 (%19)	1 (%1)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		85 (%85,9)	14 (%14,1)	0 (%0)	0,084
	Yok		89 (%74,8)	28 (%23,5)	2 (%1,7)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		82 (%82)	18 (%18)	0 (%0)	0,376
	Aralıksız		92 (%78)	24 (%20,3)	2 (%1,7)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		98 (%78,4)	26 (%20,8)	1 (%0,8)	0,788
	≥10 yıl		76 (%81,7)	16 (%17,2)	1 (%1,1)	

Tablo 4-31: MKB bireylerde DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Geni -141C Ins/Del Allel		p
			N (%)	N (%)	
			Ins	Del	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		175 (%90,2)	19 (%9,8)	0,645
	Yok		215 (%88,8)	27 (%11,2)	
Alkol Kullanımı	Var		64 (%82,1)	14 (%17,9)	0,019
	Yok		326 (%91,1)	32 (%8,9)	
Sigara Kullanımı	Var		385 (%89,5)	45 (%10,5)	0,623
	Yok		5 (%83,3)	1 (%16,7)	
Psikotik Bulgu	Var		223 (%90,7)	23 (%9,3)	0,353
	Yok		167 (%87,9)	23 (%12,1)	
İntihar Girişimi	Var		118 (%90,8)	12 (%9,2)	0,545
	Yok		270 (%88,8)	34 (%11,2)	
Adli Öykü	Var		207 (%89,2)	25 (%10,8)	0,926
	Yok		179 (%89,5)	21 (%10,5)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		184 (%92,9)	14 (%7,1)	0,031
	Yok		206 (%86,6)	32 (%13,4)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		182 (%91)	18 (%9)	0,332
	Aralıksız		208 (%88,1)	28 (%11,9)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		222 (%88,8)	28 (%11,2)	0,609
	≥10 yıl		168 (%90,3)	18 (%9,7)	

DRD2 Geni -141C Ins/Del varyantı genotip sonuçları ile klinik parametrelerin karşılaştırılması MKB grubunda yoğun olarak sentetik kannabinoid kullanan bireylerde yapıldığında hiçbir parametreyle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamazken allel ve klinik parametre karşılaştırmalarında alkol kullanımı, ailede psikiyatrik bozukluk ve maddeye başlama yaşı parametreleri ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.32 ve Tablo 4.33'te gösterilmiştir.

Tablo 4-32: Yoğun kullandığı madde sentetik kannabinoid olan bireylerde DRD2 geni - 141C Ins/Del genotip frekanslarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Geni -141C Ins/Del gen varyantları			p
			N (%)	N (%)	N (%)	
			Ins/Ins	Ins/Del	Del/Del	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		53 (%77,9)	15 (%22,1)	0 (%0)	0,472
	Yok		84 (%79,2)	20 (%18,9)	2 (%1,9)	
Alkol Kullanımı	Var		24 (%66,7)	11 (%30,6)	1 (%2,8)	0,114
	Yok		113 (%81,9)	24 (%17,4)	1 (%0,7)	
Sigara Kullanımı	Var		135 (%80)	34 (%19,9)	2 (%1,2)	0,837
	Yok		2 (%66,7)	1 (%33,3)	0 (%0)	
Psikotik Bulgu	Var		82 (%82)	17 (%17)	1 (%1)	0,473
	Yok		55 (%74,3)	18 (%24,3)	1 (%1,4)	
İntihar Girişimi	Var		44 (%83)	9 (%17)	0 (%0)	0,490
	Yok		93 (%76,9)	26 (%21,5)	2 (%1,7)	
Adli Öykü	Var		70 (%77,8)	19 (%21,1)	1 (%1,1)	0,955
	Yok		66 (%79,5)	16 (%19,3)	1 (%1,2)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		63 (%86,3)	10 (%13,7)	0 (%0)	0,085
	Yok		74 (%73,3)	25 (%24,8)	2 (%2)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		58 (%81,7)	13 (%18,3)	0 (%0)	0,426
	Aralıksız		79 (%76,7)	22 (%21,4)	2 (%1,9)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		83 (%79)	21 (%20)	1 (%1)	0,954
	≥10 yıl		54 (%78,3)	14 (%20,3)	1 (%1,4)	

Tablo 4-33: yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan bireylerde DRD2 geni - 141C Ins/Del varyantı allel frekans dağılımlarının klinik parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Geni -141C Ins/Del Allel		p
			N (%)	N (%)	
			Ins	Del	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		121 (%89)	15 (%11)	0,933
	Yok		188 (%88,7)	24 (%11,3)	
Alkol Kullanımı	Var		59 (%81,9)	13 (%18,1)	0,039
	Yok		250 (%90,6)	26 (%9,4)	
Sigara Kullanımı	Var		304 (%88,9)	38 (%11,1)	0,669
	Yok		5 (%83,3)	1 (%16,7)	
Psikotik Bulgu	Var		181 (%90,5)	19 (%9,5)	0,241
	Yok		128 (%86,5)	20 (%13,5)	
İntihar Girişimi	Var		97 (%91,5)	9 (%8,5)	0,288
	Yok		212 (%87,6)	30 (%12,4)	
Adli Öykü	Var		159 (%88,3)	21 (%11,7)	0,809
	Yok		148 (%89,2)	18 (%10,8)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var		136 (%93,2)	10 (%6,8)	0,028
	Yok		173 (%85,6)	29 (%14,4)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		129 (%90,8)	13 (%9,2)	0,314
	Aralıksız		180 (%87,4)	26 (%12,6)	
Madde Kullanma Süresi	<10 yıl		187 (%89)	23 (%11)	0,853
	≥10 yıl		122 (%88,4)	16 (%11,6)	

4.5. DRD2 Geni Metilasyon Analizine Ait Veriler

DRD2 geni metilasyon analizine ait agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.4'te verilmiştir.

DRD2 geni MSP tekniğiyle gerçekleştirilen analiz sonuçlarında MKB bireylerin kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). MKB bireylerin yoğun olarak kullandıkları maddelere göre

kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmalarda da hem yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan grubun kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucunda hem de kannabinoid kullanıcılarında DRD2 metilasyonu verilerinde istatistiksel olarak anlam bulunamamıştır ($p>0,05$). MKB bireylerin kontrol grubuyla karşılaştırılmasından elde edilen bulgular Tablo 4.34'te, yoğun kullanılan maddeye göre kontrol grubuyla yapılan DRD2 metilasyon bulguları Tablo 4-35'Te gösterilmiştir.



Şekil 4-4: DRD2 geni metilasyon analizi kısmi metile ve unmetile ürünler

NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif Kontrol, 1 ve 2: Kısmi metile, 3,4 ve 5: Unmetile

Tablo 4-34: MKB grubu ve kontrol grubunun DRD2 geni metilasyon durumu karşılaştırması

DRD2 Geni Metilasyon Durumu	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Kısmi Metile	132 (%60,6)	59 (%57,8)	0,645
Unmetile	86 (%39,4)	43 (%42,2)	
Toplam	218 (%100)	102 (%100)	

Tablo 4-35: Yoğun kullanılan maddeye göre MKB bireylerin ve kontrol grubunun DRD2 geni metilasyon durumu karşılaştırması

Yoğun Kullanılan Madde	DRD2 Geni Metilasyon Durumu	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu N (%)	p
Sentetik Kannabinoid	Kısmi Metile	108 (%62,1)	59 (%57,8)	0,488
	Unmetile	66 (%37,9)	43 (%42,2)	
	Toplam	174 (%100)	102 (%100)	
Kannabinoid	Kısmi Metile	24 (%54,5)	59 (%57,8)	0,712
	Unmetile	20 (%45,5)	43 (%42,2)	
	Toplam	44 (%100)	102 (%100)	

4.5.1. DRD2 Geni Metilasyon Verilerinin Çeşitli Parametrelerle Karşılaştırılması

DRD2 geni metilasyon analizi sonuçları MKB grubunun sahip olduğu çeşitli parametrelerle karşılaştırıldığında ailede psikiyatrik bozukluk parametresiyle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). MKB grubunu yoğun olarak kullandıkları maddelere ayırarak çeşitli parametrelerle DRD2 metilasyon verileri karşılaştırıldığında yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan MKB kullanıcılarında psikiyatrik bozukluk parametresiyle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunurken ($p<0,05$), yoğun kullandıkları madde kannabinoid olan kullanıcılarda DRD2 metilasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir parametre tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Tüm MKB bireylerin DRD2 metilasyon sonuçları ile çeşitli parametrelerin karşılaştırması Tablo 4.36’da, sentetik kannabinoid kullanıcılarının DRD2 metilasyon ve parametre karşılaştırmaları Tablo 4.37’de ve kannabinoid kullanıcılarının DRD2 metilasyon parametre karşılaştırmaları 4.38’de yer almaktadır.

Tablo 4-36: MKB bireylerde DRD2 metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Metilasyonu		p
			N (%)	N (%)	
			Unmetile	Kısmi Metile	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		36 (%37,1)	61 (%62,9)	0,578
	Yok		50 (%41,3)	71 (%58,7)	
Alkol Kullanımı	Var		17 (%43,6)	22 (%56,4)	0,590
	Yok		69 (%38,5)	110 (%61,5)	
Sigara Kullanımı	Var		84 (%39,1)	131 (%60,9)	0,563
	Yok		2 (%66,7)	1 (%33,3)	
Psikotik Bulgu	Var		53 (%43,1)	70 (%56,9)	0,264
	Yok		33 (%34,7)	62 (%65,3)	
İntihar Girişimi	Var		30 (%46,2)	35 (%63,8)	0,175
	Yok		55 (%36,2)	97 (%63,8)	
Adli Öykü	Var		52 (%44,8)	64 (%55,2)	0,094
	Yok		33 (%33)	67 (%67)	
Ailede Psikiyatrik bozukluk	Var		50 (%50,5)	49 (%49,5)	0,002
	Yok		36 (%30,3)	83 (%69,7)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		42 (%42)	58 (%58)	0,490
	Aralıksız		44 (%37,3)	74 (%62,7)	
Madde Kullanım Süresi	<10 yıl		51 (%40,8)	74 (%59,2)	0,676
	≥10 yıl		35 (%37,6)	58 (%62,4)	

Tablo 4-37: Yoğun kullandıkları madde sentetik kannabinoid olan bireylerde DRD2 metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Metilasyonu		p
			N (%)	N (%)	
			Unmetile	Kısmi Metile	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		22 (%32,4)	46 (%67,6)	0,264
	Yok		44 (%41,5)	62 (%58,5)	
Alkol Kullanımı	Var		14 (%38,9)	22 (%61,1)	1,000
	Yok		52 (%37,7)	86 (%62,3)	
Sigara Kullanımı	Var		64 (%37,4)	107 (%62,6)	0,558
	Yok		2 (%66,7)	1 (%33,3)	
Psikotik Bulgu	Var		42 (%42)	58 (%58)	0,198
	Yok		24 (%32,4)	50 (%67,6)	
İntihar Girişimi	Var		24 (%45,3)	29 (%54,7)	0,235
	Yok		42 (%34,7)	79 (%65,3)	
Adli Öykü	Var		39 (%43,3)	51 (%56,7)	0,161
	Yok		27 (%32,5)	56 (%67,5)	
Ailede Psikiyatrik bozukluk	Var		36 (%49,3)	37 (%50,7)	0,011
	Yok		30 (%29,7)	71 (%70,3)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		31 (%43,7)	40 (%56,3)	0,207
	Aralıksız		35 (%34)	68 (%66)	
Madde Kullanım Süresi	<10 yıl		41 (%39)	64 (%61)	0,751
	≥10 yıl		25 (%36,2)	44 (%63,8)	

Tablo 4-38: Yoğun kullandıkları madde kannabinoid olan bireylerde DRD2 metilasyon durumunun çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

			DRD2 Metilasyonu		p
			N (%)	N (%)	
			Unmetile	Kısmi Metile	
Çoklu Madde Kullanımı	Var		14 (%48,3)	15 (%51,7)	0,601
	Yok		6 (%40,0)	9 (%60)	
Alkol Kullanımı	Var		3 (%100)	0 (%0)	0,086
	Yok		17 (%41,5)	24 (%58,5)	
Sigara Kullanımı	Var		14 (%48,5)	15 (%51,7)	0,752
	Yok		6 (%40)	9 (%60)	
Psikotik Bulgu	Var		11 (%47,8)	12 (%52,2)	0,771
	Yok		9 (%42,9)	12 (%57,1)	
İntihar Girişimi	Var		6 (%50)	6 (%50)	0,738
	Yok		13 (%41,9)	18 (%58,1)	
Adli Öykü	Var		13 (%50)	13 (%50)	0,369
	Yok		6 (%35,3)	11 (%64,7)	
Ailede Psikiyatrik bozukluk	Var		14 (%53,8)	12 (%46,2)	0,227
	Yok		6 (%33,3)	12 (%66,7)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı		11 (%37,9)	18 (%62,1)	0,210
	Aralıksız		9 (%60)	6 (%40)	
Madde Kullanım Süresi	<10 yıl		10 (%50)	10 (%50)	0,762
	≥10 yıl		10 (%41,7)	14 (%58,3)	

4.5.2. DRD2 Geni Metilasyon Verileri İle DRD2 Geni -141C Ins/Del Varyantı Verilerinin Karşılaştırılması

MKB bireylerin DRD2 geni metilasyon sonuçları ile DRD2 geni -141C Ins/Del varyantı genotip ve allel verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.39’da verilmiştir.

Tablo 4-39: MKB hasta grubunda DRD2 geni -141C Ins/Del varyantlarının genotip ve allel frekanslarının DRD2 metilasyon durumuyla karşılaştırılması

DRD2 geni -141C Ins/Del		DRD2 Metilasyon Durumu		p
		N (%)	N (%)	
Genotip	Ins/Ins	71 (%82,6)	103 (%78)	0,431
	Ins/Del	15 (%17,4)	27 (%20,5)	
	Del/Del	0 (%0,0)	2 (%1,5)	
	Toplam	86 (%100)	132 (%100)	
Allel	Ins	157 (%91,3)	233 (%88,3)	0,343
	Del	15 (%8,7)	31 (%11,7)	
	Toplam	172 (%100)	264 (%100)	

4.6. Madde Başlama Yaşının Gen Varyantları, Gen Metilasyonları Ve Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

MKB tanısı almış grup maddeye başlama yaşları bakımından değerlendirildiğinde, çok erken başlama yaşı olarak tanımlanan 15 yaş ve altında 80 (%36,5), 15 yaş üstünde 139 (%63,5) birey, maddeye erken başlama yaşı olarak tanımlanmış olan 18 yaş ve altında 163 (%74,4), 18 yaş üstü 56 (%25,6) birey iki gruba ayrılarak incelenmiştir. Maddeye başlama 15 yaş ve altı olanlar ile 18 yaş altı hem gen varyantları ve gen metilasyonları hem de çeşitli parametreler bakımından karşılaştırılmıştır.

4.6.1. Madde Başlama Yaşının Gen Varyantları Bakımından Karşılaştırılması

Madde başlama yaşı çalışılan gen varyantları ile karşılaştırıldığında genotip dağılımlarıyla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen veriler Tablo 4.40'da gösterilmiştir. Madde başlama yaşı ile allel frekans dağılımları karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlam bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.41'da gösterilmiştir.

Tablo 4-40: Maddeye başlama yaşının genotip dağılımı ile karşılaştırılması

		MKB Grubu Maddeye			MKB Grubu Maddeye		
Genotip		Başlama Yaşı		p	Başlama Yaşı		p
		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
		≤15	>15		≤18	>18	
COMT Val158Met	Met/Met	16 (%30,8)	36 (%69,2)	0,568	36 (%69,2)	16 (%30,8)	0,581
	Val/Met	39 (%39,4)	60 (%60,6)		76 (%76,8)	23 (%23,2)	
	Val/Val	25 (%37,9)	41 (%62,1)		50 (%75,8)	16 (%24,2)	
DRD2 -141C	Ins/Ins	70 (%40,2)	104 (%59,8)	0,071	135 (%77,6)	39 (%22,4)	0,147
	Ins/Del	9 (%21,4)	33 (%78,6)		27 (%64,3)	15 (%35,7)	
	Del/Del	1 (%50)	1 (%50)		1 (%50)	1 (%50)	

Tablo 4-41: Madde başlama yaşının allel dağılımı ile karşılaştırılması

		MKB Grubu Maddeye			MKB Grubu Maddeye		
		Başlama Yaşı			Başlama Yaşı		
	Allel	N (%)	N (%)	p	N (%)	N (%)	p
		≤15	>15		≤18	>18	
COMT	Met	71 (%44,4)	132 (%48,2)	0,486	148 (%45,7)	55 (%50)	0,441
Val158Met	Val	89 (%55,6)	142 (%51,8)		176 (%54,3)	55 (%50)	
DRD2	Ins	149 (%93,1)	241 (%87,3)	0,074	297 (%91,1)	93 (%84,5)	0,071
-141C	Del	11 (%6,9)	35 (%12,7)		29 (%8,9)	17 (%15,5)	

4.6.2. Madde Başlama Yaşının Gen Metilasyonları İle Karşılaştırılması

Madde başlama yaşı çalışılan gen metilasyonları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen veriler Tablo 4.42’de gösterilmiştir.

Tablo 4-42: Maddeye başlama yaşının çalışılan gen metilasyonları ile karşılaştırılması

		MKB Grubu Maddeye			MKB Grubu Maddeye		
Gen		Başlama Yaşı		P	Başlama Yaşı		P
		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
		≤15	>15		≤18	>18	
COMT	Unmetile	30 (%42,9)	40(%57,1)	0,229	52 (%74,3)	18 (%25,7)	1,000
	Kısmi Metile	50 (%33,9)	98 (%66,2)		111 (%75)	37 (%25)	
DRD2	Unmetile	30 (%34,9)	56 (%65,1)	0,669	66 (%76,7)	20 (%23,3)	0,635
	Kısmi Metile	50 (%37,9)	82 (%62,1)		97 (%73,5)	35 (%26,5)	

4.6.3. Madde Başlama Yaşının Çeşitli Parametrelerle Karşılaştırılması

Madde başlama yaşı ile çeşitli parametrelerin karşılaştırılması sonucunda her iki yaş grubunda da madde kullanım sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 15 yaş altı ve üstü grubunda ayrıca çoklu madde kullanımı ve intihar girişimi parametreleri de istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.43'te gösterilmiştir.

Tablo 4-43: Madde başlama yaşının çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

		MKB Grubu Maddeye			MKB Grubu Maddeye		
		Başlama Yaşı			Başlama Yaşı		
		N (%)	N (%)	p	N (%)	N (%)	p
		≤15	>15		≤18	>18	
Çoklu Madde Kullanımı	Var	43 (%44,3)	54 (%55,7)	0,048	86 (%71,1)	20 (%20,6)	0,209
	Yok	37 (%30,6)	84 (%69,4)		77 (%79,4)	35 (%28,9)	
Madde Kullanım Sıklığı	Aralıklı	29 (%29)	71 (%71)	0,035	66 (%66)	34 (%34)	0,008
	Aralıksız	51 (%43,2)	67 (%56,8)		97 (%82,2)	21 (%17,8)	
Psikotik Bulgu	Var	47 (%38,2)	76 (%61,8)	0,671	89 (%72,4)	34 (%27,6)	0,432
	Yok	33 (%34,7)	62 (%65,3)		74 (%77,9)	21 (%22,1)	
İntihar Girişimi	Var	33 (%50,8)	32 (%49,2)	0,009	50 (%76,9)	15 (%23,1)	0,735
	Yok	47 (%30,9)	105 (%69,1)		113 (%74,3)	39 (%25,7)	
Adli Öykü	Var	47 (%40,5)	69 (%59,5)	0,262	87 (%75)	29 (%25)	0,876
	Yok	33 (%33)	67 (%67)		76 (%76)	24 (%24)	
Yatarak Tedavi	Var	62 (%38)	101 (%62)	0,521	121 (%74,2)	42 (%25,8)	0,858
	Yok	18 (%32,7)	37 (%67,3)		42 8%76,4)	13 (%23,6)	

4.7. Psikotik Bozukluk Ek Tanısı Almış Ve Almamış MKB Bireylerin Çeşitli Parametrelerle Karşılaştırılması

MKB tanısına ek olarak psikotik bozukluk tanısı almış ve almamış hastalar çeşitli parametrelerle karşılaştırıldığında adli öykü ve ailede psikiyatrik bozukluk parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p<0,05$) ve yatarak tedavi parametresinde ise istatistiksel olarak yüksek anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,001$). Psikotik bozukluk ek tanısı almış ve almamış bireylerin intihar girişimi parametreleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen sonuçlar Tablo 4.44’de verilmiştir.

Tablo 4-44: Psikotik bozukluk ek tanısı almış ve almamış grupların çeşitli parametrelerle karşılaştırılması

		Psikotik Bulgu Ek Tanısı Almış N (%)	Psikotik Bulgu Ek Tanısı Almamış N (%)	p
Adli Öykü	Var	74 (%63,8)	42 (%36,2)	0,014
	Yok	47 (%47)	53 (%53)	
Ailede Psikiyatrik Bozukluk	Var	67 (%67,7)	32 (%32,3)	0,003
	Yok	56 (%47,1)	63 (%52,9)	
Yatarak Tedavi	Var	104 (%63,8)	59 (%36,2)	<0,001
	Yok	19 (%34,5)	36 (%65,5)	
İntihar Girişimi	Var	39 (%60)	26 (%40)	0,550
	Yok	83 (%54,6)	69 (%45,4)	

4.8. Kontrol Grubu Erkek Bireyler İle MKB Bireylerin Çalışılan Gen Varyantları Ve Metilasyon Analizleri Bakımından Karşılaştırılması

MKB bireyler ile kontrol grubundaki erkek bireyler çalışılan gen varyantları ve metilasyon durumları açısından karşılaştırıldı. COMT geni Val158Met ve DRD2 geni -141C fonksiyonel varyantlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). MKB grubu ve erkek kontrol grubu MB-COMT geni metilasyon durumu bakımında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek anlamlı bir ilişki saptanırken ($p\leq 0,001$, DRD2 geninde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen bulgular Tablo 4.45 ve Tablo 4.46’da verilmiştir.

Tablo 4-45: Kontrol grubundaki erkek bireyler ile MKB grubunun genotip dağılımları bakımından karşılaştırılması

Gen Varyantı	Genotip	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu Erkek N (%)	p
COMT Val158Met	Met/Met	52 (%24)	12 (%30,8)	0,355
	Val/Met	99 (%45,6)	13 (%33,3)	
	Val/Val	66 (%30,4)	14 (%35,9)	
DRD2 -141C	Ins/Ins	174 (79,8)	45 (%83,3)	0,166
	Ins/Del	42 (%19,3)	7 (%13)	
	Del/Del	2 (%0,9)	2 (%3,7)	

Tablo 4-46: Kontrol grubundaki erkek bireyler ile MKB grubunun metilasyon durumları bakımından karşılaştırılması

Gen	Metilasyon Durumu	MKB Grubu N (%)	Kontrol Grubu Erkek N (%)	p
MB-COMT	Kısmi Metile	148 (%67,9)	50 (%92,6)	<0,001
	Unmetile	70 (%32,1)	4 (%7,4)	
DRD2	Kısmi Metile	132 (%60,6)	35 (%64,8)	0,564
	Unmetile	86 (%39,4)	19 (%35,2)	

5. TARTIŞMA

Birleşmiş Milletler'in 2019 yılında yayınladığı Dünya Uyuşturucu Raporu'na göre 271 milyon kişinin (15-64 yaşları arasındaki küresel nüfusun yüzde 5,5'i) bağımlılık yapıcı madde kullandığı ve 35 milyon kişinin de madde kullanım bozuklukluğuna sahip olduğu tahmin edilmektedir. Bu dönemde dünya genelinde madde kullanımına bağlı 585.000 ölümün gerçekleştiği de raporda bildirilmiştir (150). Dünya genelinde bir halk sağlığı sorunu olan madde bağımlılığı Türkiye'de de oldukça ciddi bir problem haline gelmiştir. Hem EMCDDA hem de TUBİM raporlarına bakıldığında Türkiye'de madde kullanımı son 30 yıldır artmış ve bu artış son 10 yılda fazlasıyla hızlanmıştır. Türkiye'nin uyuşturucu madde taşımacılığında kritik rotalar üzerinde olması da ülkemizdeki kullanıcı sayısını arttırmış ve maddeye olan ulaşımı kolaylaştırmıştır (146,147).

Hem ülkeler bazında hem de dünya genelinde mücadele gerektiren ve nüks eğilimi yüksek bir hastalık olan madde kullanım bozukluklarında sosyolojik ve psikolojik önleyici çalışmaların yanında tedaviye yönelik stratejiler geliştirmek amacıyla genetik ve epigenetik çalışmalar da son yıllarda hız kazanmıştır. Madde kullanımıyla ilişkili olarak belirlenen genlerin fonksiyonel varyant çalışmaları ile epigenetik mekanizmaların madde kullanımıyla ilişkisi ve tedaviye yapabilecekleri katkılar da araştırılmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada MKB bireylerin yaş ortalaması $28,63 \pm 6,70$ olarak, kontrol grubunun yaş ortalaması da $30,94 \pm 10,56$ olarak ve MKB bireylerin maddeye başlama yaş ortalamaları $16,99 \pm 2,75$ olarak belirlenmiştir. Çalışma grubundaki hastaların yaygın olarak kullandıkları madde kannabinoid veya sentetik kannabinoidlerdir. Bu maddenin kullanıcı grubunda maddeye başlama yaş ortalaması EMCDDA 2019 raporuna göre 17 olarak belirtilmiştir ve çalışma grubumuzla tutarlılık göstermektedir. TUBİM 2019 raporunda tüm madde kullanıcılarının maddeye başlama yaş ortalaması 19 olarak bildirilmiştir. Kannabinoid kullanıcılarının yaş ortalamaları genel madde kullanımı yaş ortalamasına göre düşüktür. Ülkemizde tütün kullanımına başlama yaş ortalamasının 15,5 olması kannabinoid kullanım yaşını düşürebileceği gibi kannabinoid türevlerinin kullanımının tütün kullanım şekliyle benzerlik taşıması ve özellikle son yıllarda ciddi

seviyede kullanıma sahip sentetik kannabinoidlerin oldukça ucuza satılıyor olması düşük yaş grubunu bu maddelere yönlendirmektedir (146,147).

Çalışmamızdaki Kontrol grubu ve MKB grupları cinsiyet olarak karşılaştırıldığında MKB grubu bireylerin tamamı, kontrol grubunun ise %52.9'u erkektir (Tablo 4.1). Avrupa Uyuşturucu raporunda kannabinoid kullanan 15-34 yaş arası gençler arasında erkeklerin sayısı kadın kullanıcıların iki katıdır. Türkiye TUBİM verilerine baktığımızda ise hayatında en az bir kere madde kullananların %94'ü erkekken sadece %6'sı kadındır. En az bir kere madde kullanımında bile Avrupa ülkelerinden oldukça farklı bir cinsiyet prevalansına sahip Türkiye'de madde kullanım bozukluğu tanısı almış ve yatarak tedavi gören kadın bireylere baktığımızda bu oran %4,5'a düşmektedir. Çalışmamızdaki MKB bireyler cinsiyet oranı bakımından Türkiye istatistiklerini doğrulamaktadır. Kontrol grubundaki erkek bireylerle MKB grubu bireyler tüm analizler yönünden karşılaştırılmış, sonuçlar birbirine benzer olarak bulunmuş ve istatistiksel olarak anlam değişikliği saptanmamıştır (Tablo 4.45 ve 4.46).

MKB grubu ve kontrol grubu bireylerini eğitim durumları bakımından karşılaştırdığımızda da birbirlerinden oldukça farklı bir tablo ortaya çıkmaktadır. MKB bireylerin %76,1 en fazla ortaokul mezunu iken kontrol grubundaki bireylerin %84,9'u üniversite mezunudur (Tablo 4.1). 2019 TUBİM raporundaki Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün verilerine göre 2018 yılında tedavi amaçlı hastaneye yatan madde kullanıcılarının %86,9'u en fazla 1-8 yıl eğitim almıştır (147). Türkiye'de ve yurtdışında yapılan çalışmalarda da madde kullanıcılarının eğitim düzeylerinin çalışmamızdaki verilerle tutarlı olduğu görülmektedir (151-153). Dünya genelinde kullanıcı grubunda yüksek eğitilmiş bireyler olmasına rağmen madde kullanımını devam ettirmede eğitim seviyesinin düşük olmasının risk taşıdığı düşünülebilir. Yapılan bazı çalışmalarda eğitim seviyesinin maddeye bağımlılıkta koruyucu faktör olabileceği belirtilmektedir (154,155).

Tedavi gören madde kullanıcılarının eğitim seviyelerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda ise eğitim seviyesi yüksek bireylerin tedaviyi kabul etme, tedaviyi devam ettirme ve başarıyla tamamlama konularında düşük eğitim seviyesindeki kullanıcılara oranla daha başarılı oldukları gösterilmiştir (156-158). Madde kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerin maddeye başlamada ve kullanımı devam ettirmede farklı sebepler göstermeleri nedeniyle eğitim düzeyinin madde kullanımına başlamada diğer etkenlerle birlikte değerlendirilmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır.

Çalışma durumları bakımından incelediğimiz grupları karşılaştırdığımızda kontrol grubunun sadece %10,1'lik kısmı herhangi bir işte çalışmazken, bu oran MKB grubunda %70,2 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). Maddeye başlama nedeni olarak gösterilen durumlardan biri de ekonomik yetersizliktir. Düşük gelir düzeyinin sebep olduğu kaygı durumunun bireyleri madde kullanımına ittiği düşünülebilir. Ayrıca madde kullanımından kaynaklı olarak sorumluluklarını yerine getiremeyen bireylerin işsiz kalmış olmaları da mümkündür. Yapılan çalışmalarda bir işte çalışmanın madde bağımlılığının tedavisinde önemli bir pozitif faktör olduğu belirtilmiştir. İşsiz olan bireyler, düzenli olarak istihdam edilenlerden daha yüksek madde bağımlılığı oranlarına sahiptir ve tedavi sürecinde de çalışan bireylerin tedavide başarılı olma şansı yüksek iken, işsiz bireylerde daha düşük tedavi başarı oranı ve daha fazla oranda nüks görülmektedir (159-163).

MKB grubu bireylerin medeni durumlarına baktığımızda sadece %21,1 oranında evli birey olduğu görülmektedir (Tablo 4.1). Ülkemizde yapılan diğer madde bağımlılığı araştırmalarında da madde kullanıcılarında bekar madde kullanıcısı yüzdesinin daha fazla olduğu görülmektedir (150,164). Hastalarımız tedavi gerektiren bir madde kullanım bozukluğuna sahip olduklarından bu durumun sosyal çevrelerini ve medeni durumlarını etkilediği düşünülebileceği gibi MKB grubumuzun yaş ortalamasının erkeklerde evlilik yaşı için günümüz koşullarına göre erken olduğu varsayılabilirdiğinden medeni durum yüzdesinin rastlantısal olduğu da düşünülebilir.

Çalışmamızdaki MKB grubu bireylerin %53,7'sinin adli öyküsü bulunmaktadır (Tablo 4.3). Adalet Bakanlığı verilerine göre 2018 yılında madde kullanımıyla bağlantılı suçlardan dolayı cezaevinde bulunanların sayısı 57.674'tür ve bu oran tüm hükümlülerin %21,78'ine tekabül etmektedir (147). Madde bağımlılığı ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda da madde kullanıcılarının cezaevi öyküleri yüksek oranlarda bulunmaktadır (151). İstatistiklere ve çalışma gruplarındaki sayılara bakıldığında suç işleme durumuyla madde kullanımının ilişkili olduğu söylenebilir.

MKB çalışma grubumuzun psikotik bozukluk ek tanısı almış hasta oranı %56,4 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3). Literatürde de kannabinoid kullanıcılarında ek tanı olarak psikotik bozukluk bildirilen ve kannabinoid kullanımı ile psikotik bozuklukların ilişkili olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (165,166). Ek tanı olarak psikotik bozukluk almış olan madde kullanım bozukluğu hasta grubunda psikotik bozukluk tanısı almamış gruba göre ailede psikiyatrik bozukluk, adli öykü ve yatarak tedavi yüzdeleri

istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.44). Kannabinoid kullanıcıları ile yapılan çalışmalarda ailede şizofreni gibi psikiyatrik hastalıkların madde kullanımına bağlı psikiyatrik rahatsızlıkları tetiklemede etkili olduğu bildirilmiştir (167,168). Bir çok çalışma psikotik bozukluk ek tanısı almış MKB hastalarının tedavi süreçlerinin ek psikotik tanısı olmayanlara göre daha zor geçtiği, madde kullanımıyla beraber sık geçirilen psikotik atakların sık sık hastaneye yatışla sonuçlandığı bildirilmiştir (169,170).

Bağımlılık yapıcı maddeler birbirlerinden farklı etki seviyelerinde dopaminerjik sistemi etkileyerek dopamin salınımını arttırmaktadırlar. MKB çalışma grubumuzun yaygın kullandığı maddeler olan kannabinoid ve sentetik kannabinoidlerin düzenli kullanımı dopaminerjik yollar aracılığıyla beyin ödül sistemini etkiler ve madde kullanım bozukluğuna neden olurlar (171). Dopamin parçalanmasından sorumlu COMT geninin fonksiyonel varyantları daha önceki çalışmalarda madde kullanım bozukluklarıyla ilişkilendirilmiştir (172,173). Çalışmamızda Val158Met polimorfizmi incelenmiş ve kontrol grubuyla MKB grubu karşılaştırıldığında ve MKB grubu kannabinoid ve sentetik kannabinoid kullanıcıları olarak değerlendirildiğinde hem genotip hem allel hem de birleştirilmiş genotip dağılımları düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7). Val158Met polimorfizmi etnik grup çalışmalarının sonuçlarına bakıldığında beyaz ırkta Met ve Val allellerinin yaklaşık aynı frekanslara sahip olduğu ancak Asya ırkında Val allel frekansının daha yüksek olduğu belirlenmiştir (174). Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda Val alleli %51,3, Met alleli %48,7, MKB grubunda Val alleli %53,2 ve Met alleli %46,8 oranlarıyla etnik farklılık sonuçlarını desteklemektedir. Etnik farklılıkların yanı sıra COMT enzim aktivitesinin kadınlarda erkeklerden daha yüksek olduğu COMT'un östrojenler ve diğer mekanizmalar tarafından transkripsiyonel düzenleme yoluyla cinsiyete özgü etkilere sahip olduğu da düşünülmektedir (175,175). MKB çalışma grubumuzun tamamının erkeklerden oluşması cinsiyete bağlı bir karşılaştırma yapmamıza imkan vermemiştir. Farklı etnik gruplardaki kokain kullanım bozukluğuna sahip bireylerle yapılan bir çalışmada Val158Met polimorfizminin yanında diğer COMT geni fonksiyonel varyantlarının da madde kullanımında önemli olduğu ve farklı ırklarda aynı sonuçları vermediği belirtilmiştir (177). Alkol kullanım bozukluğu olan bireylerle yapılan çalışmalarda da istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmayan Val158Met varyant dağılımları bildirilmiştir (178-180).

Çalışmamızda Val158Met genotipleri ve allel dağılımları klinik parametrelerle karşılaştırıldığında Met/Met genotipine sahip MKB bireylerde Val/Met ve Val/Val genotipine sahip bireylere göre çoklu madde kullanımının anlamlı derecede düşük olduğu görülmüş, allel dağılımı karşılaştırmasında da Val alleli taşıyıcılarında çoklu madde kullanımı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 4.8 ve 4.9). Vandenbergh ve arkadaşları da çalışmalarında yüksek aktiviteli Val allelinin çoklu madde kullanımı görülen bireylerde anlamlı olarak yüksek olduğunu bulmuşlardır (181).

Val158Met biyolojik olarak aktif, fonksiyonel bir polimorfizmdir ve yaygın psikiyatrik bozuklukların genetik temelini anlamak için umut verici bir aday olarak kabul edilmektedir (182-184). Çalışmamızda Val/Met genotipi taşıyan MKB bireylerde psikotik bulguların istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 4.8). Ergenlikte kannabinoid kullanımı sonrası psikotik bozukluk tanısı alan bireylerle yapılan bir çalışmada bu ek tanıyı geliştiren MKB hastalarındaki Met/Met genotip frekansının Val/Met ve Val/Val genotiplerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır (185). Çalışmamızdaki Val158Met birleştirilmiş genotip dağılımlarımız bu bulguyu desteklemektedir (Tablo 4.14).

Val158Met polimorfizmi COMT aktivitesini ve dolayısıyla dopamin seviyelerini modüle eder. Yapılan çalışmalarla da madde kullanımıyla ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda COMT gen metilasyonu da gen ekspresyonunu ve dolaylı olarak COMT aktivitesini etkileyebilir. Çalışmamızda MB-COMT metilasyon analizi yapılmış ve MKB tanısı almış grupla kontrol grubu arasında ve MKB grubu yoğun kullandıkları maddelere göre ayrılıp kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında da sentetik kannabinoid kullanıcılarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 4.17 ve 4.18). MKB bireylerin kontrol grubuna göre daha düşük metilasyon frekansına sahip olduğu saptanmıştır. Metamfetamin kullanım bozukluğuna sahip bireylerle yapılan bir çalışmada da madde kullanıcılarında istatistiksel olarak anlamlı MB-COMT hipometilasyonu gözlenmiştir (186). COMT enzimi spesifik olarak MB-COMT sinaptik yarıқта dopamini parçalamaktadır. Böylece, artan gen ekspresyonuna yol açan MB-COMT gen promotörünün hipometilasyonunun, sinaptik yarıқта dopamin bozulmasını arttırdığı düşünülmektedir (187). Striatumdaki düşük ekspresyon seviyelerinin aksine, COMT prefrontal kortekste yüksek ekspresyon seviyelerine sahiptir. Prefrontal

korteksin dopaminerjik aktivitesinin düşmesi, frontal lobun aktivitesinin de düşmesine neden olur; bu da dikkat, çalışma belleği, yanıt inhibisyonu ve yürütücü işlevlerde bozulmalara neden olur (188). Bazı bağımlılık yapıcı maddeler hemen kullanımından, bazıları ise düzenli kullanımları sonucunda kullanıcılarında bu işlevsel bozulma belirtilerini göstermektedirler. Çalışmamızda MB-COMT metilasyonu ile klinik parametreleri karşılaştırdığımızda alkol kullanan MKB bireylerde kullanmayan MKB bireylere göre MB-COMT metilasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 4.19). Şizofreni hastalarında alkol kullanımı ve COMT metilasyonu ilişkisini araştıran bir çalışma da sonuçlarımızı desteklemektedir (189). Çalışmamızda MB-COMT metilasyonu alkol kullanan bireylerde olduğu gibi aralıksız madde kullanımı bulunan MKB bireylerde de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek metilasyon oranları saptanmıştır. Sentetik kannabinoid kullanıcılarında hem alkol kullanımındaki hem de aralıksız madde kullanımındaki yüksek MB-COMT metilasyon oranları kannabinoid kullanıcılarında saptanmamıştır. (Tablo 4.20 ve 4.21). Ancak yaygın kullandıkları madde kannabinoid olan kullanıcı grubunun düşük sayıda olması nedeniyle iki grup arasında bu parametreleri karşılaştırmak doğru bir yaklaşım olmayacaktır.

Yapılan çalışmalar MB-COMT hipometilasyonunun şizofreni ve bipolar bozukluklar gibi psikiyatrik hastalıklarda yüksek risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir (189,190). Ancak çalışmamızdaki MKB grupta psikotik bulgu ek tanısı almış ve/veya ailede psikiyatrik geçmişi bulunan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir metilasyon durumu saptanmamıştır.

Dopaminerjik sistemde oldukça önemli rolleri olan COMT geninin madde kullanım bozuklukları ile ilişkisini anlamak için hem genetik hem de epigenetik faktörlerin birlikte değerlendirilmesi doğru bir yaklaşımdır. Çalışmamızda Val158Met fonksiyonel varyantının genotip, birleştirilmiş genotip ve allel dağılımları ile MB-COMT metilasyon frekanslarını birlikte değerlendirdiğimizde ve MKB bireyleri yoğun kullandıkları maddeye göre ayırarak karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4.22, 4.23, 4.24, ve 4.25). Knaap ve arkadaşları ise çalışmalarında MB-COMT metilasyonu ile kannabinoid kullanımı açısından spesifik bir ilişki bulmazken, Met/Met genotipine sahip ergenlerde, daha az kannabinoid kullanımında yüksek metilasyon oranı ile ilişki olduğunu belirtmişlerdir (140).

Çalışmamızda incelediğimiz bir diğer gen ise DRD2 genidir. DRD2 geni de dopaminerjik nöronlarda bulunan ve dopamin salınmasının düzenlenmesinden sorumlu bir gendir (191). Çalışmamızda DRD2 geninin -141C Ins/del fonksiyonel varyantı incelenmiştir. Kontrol grubu ve MKB tanısı almış grup ve MKB bireyler yaygın kullandıkları maddeye göre ayrılıp kontrol grubuyla -141C Ins/del varyantı genotip, birleştirilmiş genotip ve allel dağılımları bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4.26, 4.27, 4.28 ve 4.29). Jönsson ve arkadaşları -141 C Ins allelinin, del allelinden daha yüksek aktivite gösterdiğini ve striatumda daha yüksek yoğunlukta D2 reseptörlerinden sorumlu olduğunu belirtirken Pohjalainen ve arkadaşları bu sonuçlara katılmamaktadır (192,193).

DRD2 geni -141C Ins/Del fonksiyonel varyant dağılımlarını klinik parametrelerle karşılaştırdığımızda ise genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4.30). Allel düzeyinde klinik parametrelerle karşılaştırma yapıldığında ise alkol kullanmayan bireylerde kullananlara göre Ins allelinin Del alleleline göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 4.31). Grzywacz ve arkadaşları alkol kullanım bozukluğu olan hastalarda Ins/Del genotipi taşıyıcılarının erken başlangıçlı alkol bağımlılığına yatkın olabileceklerini belirtmişler ancak Ins/Ins genotip taşıyıcılarının da yüksek bir yüzdesinin erken başlangıçlı alkol kullanım bozukluğuna sahip olduğunu saptamışlardır (194). Gelernter ve arkadaşları ise -141 C Ins/Del alleli ve alkol bağımlılığı arasında istatistiksel olarak herhangi bir ilişki bulmamışlardır (195).

Literatürde -141 C Ins/Del varyantının, DRD2 gen ekspresyonunu modüle ettiği bildirilmiş ve yapılan in vitro çalışmalarda Del alleli varlığının, DRD2 ekspresyonunu ~% 68 oranında azalttığı, Ins alleli varlığının ise dopaminerjik hiperaktiviteye neden olabileceği belirtilmiştir (144,196). Bir teoriye göre de, DRD2 ekspresyonunu arttıran Ins/Ins genotipinin, tüm reseptörleri doyurmak için daha fazla dopamin üretmeye zorladığı ve bu durumun da özellikle gecikmiş tatmin mekanizmasını henüz geliştirmemiş ergenlerde, madde bağımlılığı ve riskli davranışlara önemli bir katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (197). Ancak yapılan çalışmalarda ve bizim de çalışmamızdaki genotip dağılımlarına baktığımızda Ins/Ins genotipinin yüksek bir yüzdeye, Del/Del genotipinin de çok düşük bir yüzdeye sahip olduğu görülmektedir. Del/Del varyantının nadir olmasının analizi bozabilecek bir faktör olduğu

düşünülmektedir (194,198). -141C Ins/Del varyantı ile bağımlılık çalışmalarında birbirlerini doğrulamayan sonuçlar nedeniyle, bu polimorfizmin madde kullanımındaki etkisi hala tartışılmaktadır.

Literatürde -141C Ins/Del polimorfizminin en çok çalışıldığı alanlardan biri de psikiyatrik hastalıklardır. Özellikle şizofreni tanısı almış bireylerde bu polimorfizmin etkileri bir çok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Zhao ve arkadaşlarının yaptığı etnik gruplara özgün bir meta-analiz derlemesinde -141C Ins/Del polimorfizminin şizofreni ile ilişkisinin etnik gruplara göre farklılıklar gösterdiği, aynı etnik grupla çalışan farklı çalışmaların da farklı sonuçlara ulaştığı belirtilmiştir (199). Beyaz ırkla yapılan çalışmalarda -141C Ins/Del varyantı ve şizofreni arasında anlamlı bir ilişki bulmayan çalışmalar (200-206) olduğu gibi, Del allelinin şizofreniyle bağlantılı olduğunu belirten çalışmalar (207,208) ve Del allelinin şizofreniye karşı koruyucu etkisinin olduğunu saptayan çalışmalar da mevcuttur (192,208,209). Çalışmamızda -141C Ins/Del varyantının allel dağılımı klinik parametrelerle karşılaştırıldığında Ins allelinin ailede psikiyatrik bozukluk olan bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 4.31). Literatürdeki farklı sonuçlar bu polimorfizmin psikiyatrik hastalıkların mekanizmasına doğrudan dahil olmayabileceği, bazı semptomların veya psikiyatrik hastalıkların seyrinde rol alabileceğini düşündürmektedir (210).

Yapılan araştırmalarda, D2 reseptör bağlanma potansiyeli ile ödüllendirici uyarılara ve madde kullanımına verilen nöral tepkiler arasında güçlü ilişkiler olduğunu göstermiştir (211,212). DRD2 geninin D2 reseptörünün işleyişini düzenlediği gösterilmiş ve bu nedenle de DRD2 gen ekspresyonunu değiştiren mekanizmaların D2 reseptörlerinin yürütücü fonksiyonlarının düzenlenmesine etki etmesi beklenmektedir (213). DNA metilasyonu gen ekspresyonunu etkilediğinden dopamin reseptörleri ve madde bağımlılığı çalışmalarında DRD2 geninin metilasyon çalışmaları da önem kazanmıştır. Literatürdeki hayvan çalışmaları, etanolün dopaminerjik nöronları uyardığını, kronik içmenin ise D2 reseptörlerinin uzun süreli aşağı regülasyonuna neden olduğunu göstermiştir (214,215). Ayrıca pozitron emisyon tomografisi (PET) çalışmaları, azaltılmış D2 reseptör bağlanma potansiyeli ile madde kötüye kullanımı ve ödüllendirici uyarılara fonksiyonel beyin tepkileri arasında güçlü ilişkiler olduğunu belirlemiştir (216-220). Çalışmamızda MKB grubu ve kontrol grubunu ve MKB grubunu yoğun

kullandıkları maddelere göre, kannabinoid ve sentetik kannabinoid kullanıcıları olarak ayırıp kontrol grubu ile DRD2 metilasyonu dağılımları yönünden karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4.34 ve 4.35). Elde ettiğimiz DRD2 metilasyon dağılımları tüm promotör bölgesini kapsayan kalitatif sonuçları temsil etmektedir. Kannabinoid kullanıcıları ile DRD2 metilasyonu ilişkisini inceleyen çok az çalışma bulunmaktadır. Gerra ve arkadaşları çalışmalarında kannabinoid kullanıcılarındaki DRD2 geninin sadece ekzon 8’inde kontrol grubuna göre anlamlı bir hipermetilasyon bildirmişlerdir (221). Ancak DNA metilasyonunun intron, ekzon ve intragenik aralıklardaki fonksiyonel önemi hala net olarak anlaşılamamıştır (222).

Psikiyatrik hastalıklarda DRD2 fonksiyonel varyantlarının yanında DRD2 metilasyon çalışmaları da literatürde incelenmiştir. Funahashi ve arkadaşları DRD2 -141C Ins/del fonksiyonel varyantı ile 7 CpG bölgesinde de DRD2 metilasyonunu incelemişler ve şizofreni hastalarında DRD2 metilasyonunun kontrol grubuna göre belli CpG bölgelerinde anlamlı derecede düşük olduğunu ancak tüm promotör bölgede metilasyon oranlarının anlamlı olmayabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca Del alleli taşıyan hastaların sadece bazı CpG bölgelerinde yüksek metilasyon gösterdiklerini belirtmişlerdir (145). Çalışmamızda DRD2 -141C Ins/Del varyant dağılımlarıyla DRD2 metilasyon oranları karşılaştırılmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 4.39). Çalışmamızdaki MKB grubundaki Ins alleli taşıyıcılarının ailede psikiyatrik bozukluk olan bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ve DRD2 metilasyon oranları klinik parametrelerle karşılaştırıldığında da ailede psikiyatrik bozukluk olmayan bireylerde DRD2 metilasyonunun anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4.36).

Literatürdeki DRD2 metilasyon çalışmaları CpG bölgelerine spesifik olarak değerlendirilmiş, bazı CpG bölgelerinde yüksek metilasyon oranları saptanırken bazı bölgelerde ve tüm promotörde anlamlı bir metilasyon oranından bahsedilmemiştir. Ayrıca DRD2 metilasyon çalışmaları özellikle alkol kullanım bozukluğu tanısı almış gruplarla yapılmış kannabinoid ve sentetik kannabinoid kullanıcıları için DRD2 metilasyon oranları ile ilgili mevcut veri bulunmamaktadır.

Madde kullanım bozukluklarında değerlendirilmesi gereken en önemli kriterlerden biri de maddeye başlama yaşıdır. Çalışmamızda maddeye çok erken başlama yaşı olarak kabul edilen 15 yaş altı ve üstü ile erken başlama yaşı kabul edilen 18 yaş altı ve üstü kullanıcılar COMT geni Val158Met ve DRD2 geni -141C Ins/Del varyantları genotip

ve allel dağılımları ve MB-COMT ve DRD2 metilasyon durumları bakımında karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.40, 4.41 ve 4.42). Maddeye başlama yaşı klinik parametrelerle karşılaştırıldığında ise 15 yaş ve üstü grupta çoklu madde kullanımının ve intihar girişiminin daha az ve madde kullanımının aralıklı olduğu görülmüştür. Karşılaştırma 18 yaş altı ve üstü için yapıldığında 18 yaş ve altının madde kullanımının anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.43). 15 yaş ve altı bireylerin fiziksel ve ruhsal gelişimlerini henüz tamamlayamamış olmaları, çevreden etkilenmelerinin daha kolay olması, ergenlik çağıının getirdiği duygusal ve hormonal değişimler bu farklılıklara sebebiyet vermiş olabilir.

Sonuç olarak MKB tanısı almış bireyler ve kontrol grubu COMT Val158Met varyantı ve DRD2 -141C Ins/Del varyantı genotip, birleştirilmiş genotip ve allel dağılımları bakımından karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir. Val158Met varyantının genotip ve allel dağılımları klinik parametrelerle karşılaştırıldığında çoklu madde kullanımı ve psikotik bulgu gelişiminde etkili olduğu saptanmıştır. DRD2 -141C varyantının genotip ve allel dağılımları klinik parametrelerle karşılaştırıldığında genotip düzeyinde bir ilişki saptanmazken allel düzeyinde alkol kullanımı ve ailede psikiyatrik bozukluk parametreleriyle anlamlı bir ilişki saptanmıştır. MB-COMT ve DRD2 metilasyon oranları MKB grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında DRD2 metilasyonunda anlamlı bir fark gözlenmezken, MB-COMT metilasyonunda kontrol grubunda MKB grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek metilasyon gözlenmiştir. MB-COMT metilasyon dağılımları demografik parametrelerle karşılaştırıldığında ise alkol kullanımı ve madde kullanım sıklığının istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yüksek MB-COMT metilasyonunun düzenli madde kullanımıyla ilişkisi MKB ve MB-COMT çalışmaları için önemli bir bulgudur. DRD2 metilasyon oranları klinik parametrelerle karşılaştırıldığında ise ailede psikiyatrik bozuklukla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmiştir.

Çalışmalardaki farklı etnik grupların farklı genetik özellikler taşımaları polimorfizm analizlerinde farklı sonuçlar elde edilmesinde oldukça önemli bir role sahiptir. Metilasyon çalışmalarında da gen ve çevre etkileşimleri sonuçlara etki etmektedir. Yaş ve cinsiyet gibi faktörler hem genetik hem de epigenetik süreçleri etkilerken çalışma grubumuzdaki MKB bireylerin yoğun kullandıkları kannabinoid ve sentetik

kannabinoid yanında sigara, alkol ve farklı bağımlılık yapıcı maddeler kullanmaları da özellikle metilasyon mekanizmasına kannabinoid ve sentetik kannabinoidin spesifik etkisini görmemizi engellemektedir ancak MKB tanısı almış bireylerin madde kullanımlarının değişkenliği ve çeşitliliği düşünüldüğünde bu durum bütün çalışmalar için geçerlidir. Madde kullanım bozukluğunun genetik ve özellikle epigenetik düzeyde mekanizmalarının anlaşılması bu bozuklukların tedavisi için de önemlidir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların ileride yapılacak araştırmalara kaynak olmasını ve hem genetik hem de epigenetik mekanizmaların MKB tanısı almış hastalarda daha fazla incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Yüksel N. editör. Psikofarmakoloji. İçinde Uzbay İT., Yüksel N. *Madde kötüye kullanımı ve bağımlılığı*. s.485-520, Ankara: Çizgi Tıp Kitabevi; 2003.
2. Koob GF, Le Moal M. (2008). Addiction and the brain antireward system. *Annu Rev Psychol*; **59**(1): 29-53.
3. Paul S. Editor. (2019). *Application of Biomedical Engineering in Neuroscience*. Springer;2019. pp101-125.
4. Alegría-Torres JA, Baccarelli A, Bollati V (2011) Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics* **3**(3):267–277.
5. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edn. Text revision, American Psychiatric Press: Washington, DC, 2000.
6. Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2001; **2**: 119–128.
7. Gardner EL. Addiction and brain reward and antireward pathways. **Adv Psychosom Med** 2011, **30**: 22-60.
8. Levenson J. M, Sweatt JD. Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nat Rev Neurosci* 2005, **6**:108–18.
9. APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 2nd edition (DSM-II). Washington, DC, American Psychiatric Association; 1968.
10. APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 3rd edition (DSM-III). Washington, DC, American Psychiatric Association; 1980.
11. APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, revised 3rd edition (DSM-III-R). Washington, DC, American Psychiatric Association; 1987.
12. APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edition (DSM-IV). Washington, DC, American Psychiatric Association; 1994.
13. APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th edition (DSM 5). Washington, DC, American Psychiatric Association; 2013.

14. Bennett C. Early/ancient history. İçinde Holland J, editor. *The Pot Book: A Complete Guide to Cannabis*. Rochester, Vermont: Park Street Press; 2010.
15. Zias J, Stark H, Sellgman J, et al. Early medical use of cannabis. *Nature*. 1993; **363(6426)**:215.
16. Drummer O, Odell M. *The Forensic Pharmacology of Drugs of Abuse*, London, İngiltere: Arnold; 2001.
17. Zuardi AW. History of cannabis as a medicine: a review. *Rev Bras Psiquiatr*. 2006 ;**28(2)**:153–7.
18. Kayaalp SO, Uzbay İT. Santral sinir sistemini etkileyen ilaçlar ve anesteziyolojide kullanılan diğer bazı ilaçlar. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 13. Baskı, Ankara, Türkiye: Pelikan Yayıncılık; 2012.
19. Zimmermann US, Winkelmann PR., Pilhatsch M, Nees JA, Spanagel R, Schulz K. Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of “spice gold”. *Dtsch Arztebl Int*. 2009; **106**:464-467.
20. Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P. Kaplan & Sadock Psikiyatri Davranış Bilimleri/Klinik Psikiyatri. 11. Baskı. Bozkurt A. (Çeviri), editor. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2016. s. 644-647.
21. Stella N. Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia*. 2010; **58**:1017–1030.
22. Di Marzo V, Stella N, Zimmer A. Endocannabinoid Signalling and the deteriorating brain *Nature Reviews Neuroscience*. 2015; **16**:30–42.
23. https://www.researchgate.net/figure/Proposed-mechanism-for-THC-influence-on-reward-versus-aversion-wwwgooglecom_fig67_333680881. Erişim Tarihi: 09.07.2020.
24. Huffman JW, Dai D, Martin BR, Compton DR. Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1994; **4**:563-566.
25. Musselman ME, Hampton JP. Not for human consumption: a review of emerging designer drugs. *Pharmacotherapy* 2014; **34**:745-8.

26. Ashton JC. Synthetic cannabinoids as drugs of abuse. *Curr Drug Abuse Rev* 2012; **5**:158-62.
27. Yaluğ İ, Özdemir S. ve Aker AT. Travma sonrası stres bozukluğu ve kronik ağrı birlikteliği zemininde opioid bağımlılığı. *New/Yeni Symposium Journal* 2008; **46:4**:200-5.
28. Dhawan BN, Cesselin F, Raghubir R, Reisine T, Bradley PB, Portoghesi PS, Hamon M. International Union of Pharmacology XII: Classification of opioid receptors. *Pharmacol Rev* 1996; **48**:567–92
29. Kaplan & Sadock's *Concise Textbook of Clinical Psychiatry* Sadock BJ, Sadock VA, editors. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
30. Knapp CM, Ciraulo DA. ve Jaffe J. Opiates: Clinical Aspects. Lowinson JH, Ruiz P, Millman RB, Langrod JG, editors. *Substance Abuse - A Comprehensive Textbook*. 4. Edition. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. pp.180–195.
31. Thoumi FE. *Illegal drugs, economy, and society in the Andes*. Washington, D.C: Woodrow Wilson Center Press; 2003.
32. Spillane JF. *Cocaine: from medical marvel to modern menace in the United States, 1884–1920*. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 2000.
33. El-Mallakh RS. An open study of methylphenidate in bipolar depression. *Bipolar Disord* 2000; **2**:56-59.
34. Trivedi MH, Cutler AJ, Richards C, Lasser R, Geibel BB, Gao J ve ark. A randomized controlled trial of the efficacy and safety of lisdexamfetamine dimesylate as augmentation therapy in adults with residual symptoms of major depressive disorder after treatment with escitalopram. *J Clin Psychiatry* 2013; **74**:802-809.
35. Scott JC, Woods SP, Matt GE, Meyer RA, Heaton RK, Atkinson JH, ve ark. Neurocognitive effects of methamphetamine: a critical review and metaanalysis. *Neuropsychol. Rev.* 2007; **17**:275–297.
36. Yu Q, Larson DF, Watson RR. Heart disease, methamphetamine and AIDS. *Life Sci.* 2003; **73**:129–140.

37. Shrem MT, Halkitis PN. Methamphetamine abuse in the United States: contextual, psychological and sociological considerations. *J. Health Psychol.* 2008; **13**:669–679.
38. Nichols DE. Hallucinogens. *Pharmacology & therapeutics.* 2004;**101**(2):131–181.
39. Colace C. Drug dreams in mescaline and LSD addiction. *Am J Addict.* 2010;**19**(2):192.
40. Kawasaki A, Purvin V. Persistent palinopsia following ingestion of lysergic acid diethylamide (LSD). *Arch Ophthalmol.* 1996; **114**:47-49.
41. Lieberman AN, Bloom W, Kishore PS, et al. Carotid artery occlusion following ingestion of LSD. *Stroke* 1974; **5**:213-215.
42. De la Torre R, Farré M, Roset PN, Pizarro N, Abanades S, Segura M, Camí J. Human pharmacology of MDMA: pharmacokinetics, metabolism, and disposition. *Therapeutic drug monitoring.* 2004;**26**(2):137–144.
43. Nichols DE, Oberlender R. Structure-activity relationships of MDMA-like substances. *NIDA Res Monogr.* 1989; **94**:1–29.
44. Nichols DE. Medical chemistry and structure-activity relationships. In: Cho AK, Segal DS, editors. *Amphetamine and its analogs.* Pharmacology, toxicology and abuse. Academic Press; San Diego, CA: 1994. pp. 3–41.
45. Chadwick IS, Curry PD, Linsley A, Freemont AJ, Doran B. Ecstasy, 3-4 methylenedioxymethamphetamine (MDMA), a fatality associated with coagulopathy and hyperthermia. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 1991;**84**(6):371.
46. Williams JF, Storck M and the Committee on Substance Abuse and Committee on Native American Child Health. Inhalant abuse. *Pediatrics* 2007; **119**:1009-1017.
47. Ives R. In New Oxford Textbook of Psychiatry. İçinde Gelder MG, Lopez Ibor JJ, Andreasen NC, editors. *Disorders relating to the use of volatile substance.* Oxford University Press, New York; 2000. pp.546- 550.

48. Vural M, Ögel K. Uçucu maddelerin kalp üzerine etkileri. *Bağımlılık Dergisi* 2005; **6**:142-146.
49. Lader M. Benzodiazepines revisited--will we ever learn? *Addiction* 2011; **106**:2086-2094.
50. Kaplan & Sadock S. *Klinik Psikiyatri El Kitabı* 2009. pp.78-116.
51. Childress AR, Mozley PD, McElgin W, Fitzgerald J, Reivich M, O'Brien CP. Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry*. 1999; **156**:11–8
52. Due DL, Huettel SA, Hall WG, Rubin DC. Activation in mesolimbic and visuospatial neural circuits elicited by smoking cues: evidence from functional magnetic resonance imaging. *Am J Psychiatry*. 2002; **159**:954–60.
53. Allman JM, Hakeem A, Erwin JM, Nimchinsky E, Hof P. The anterior cingulate cortex. The evolution of an interface between emotion and cognition. *Ann N Y Acad Sci*. 2001; **935**:107–17.
54. Braver TS, Barch DM, Gray JR, Molfese DL, Snyder A. Anterior cingulate cortex and response conflict: effects of frequency, inhibition and errors. *Cereb Cortex*. 2001; **11**:825–36.
55. Kaufman JN, Ross TJ, Stein EA, Caravan H. Cingulate hypoactivity in cocaine users during a GO-NOGO task as revealed by event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci*. 2003; **23**:7839–43.
56. Adinoff B, Devous MD, Best SE, ve ark. Regional cerebral blood flow in female cocaine-addicted subjects following limbic activation. *Drug Alcohol Depend*. 2003; **71**:255–68.
57. London ED, Ernst M, Grant S, Bonson K, Weinstein A. Orbitofrontal cortex and human drug abuse: functional imaging. *Cereb Cortex*. 2000; **10**:334–42.
58. Volkow ND, Fowler JS. Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2001; **10**:318–25.
59. Erb S, Stewart J. A role for the bed nucleus of the stria terminalis, but not the amygdala, in the effects of corticotropin-releasing factor on stress-induced reinstatement of cocaine seeking. *J Neurosci*. 1999; **19**:RC35.

60. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, et al. Association of methylphenidate-induced craving with changes in right striato-orbitofrontal metabolism in cocaine abusers: implications in addiction. *Am J Psychiatry*. 1999; **156**:19–26.
61. Maas LC, Lukas SE, Kaufman MJ, et al. Functional magnetic resonance imaging of human brain activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry*. 1998; **155**:124–6.
62. Kalivas PW, Volkow ND, Seamans J Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 2005; **45**:647-650.
63. Cisler JM, Elton A, Kennedy AP, Young J, Smitherman S, James GA, Kilts CD. Altered functional connectivity of the insular cortex across prefrontal networks in cocaine addiction. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 2013;**213**(1):39-46.
64. Elliott R, Dolan RJ, Frith CD. Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb Cortex*. 2000; **10**:308–17.
65. Wang GJ, Volkow ND, Fowler JS, et al. Regional brain metabolic activation during craving elicited by recall of previous drug experiences. *Life Sci*. 1999; **64**:775–84.
66. Adinoff B, Devous MDS, Best SM, George MS, Alexander D, Payne K. Limbic responsiveness to procaine in cocaine-addicted subjects. *Am J Psychiatry*. 2001; **158**:390–8.
67. Ma H, Zhu G. The dopamine system and alcohol dependence. *Shanghai Arch Psych*. 2014; **26**:61-68.
68. <https://inside-the-brain.com/2019/03/>. Erişim Tarihi: 02.07.2020.
69. Gardner EL. Brain reward mechanisms. In: Lowinson JH, Ruiz P, Millman RB, Langrod JG, editors. *Substance abuse: a comprehensive textbook*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1997.
70. Carlezon WA, Jr, Wise RA. Rewarding actions of phencyclidine and related drugs in nucleus accumbens shell and frontal cortex. *J Neurosci*. 1996; **16**:3112–22.

71. Jentsch JD, Taylor JR. Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; **146**:373–90.
72. Gardner EL, Ashby CR., Jr Heterogeneity of the mesotelencephalic dopamine fibers: physiology and pharmacology. *Neurosci Biobehav Rev.* 2000; **24**:115–8.
73. Hornung JP., The Neuronatomy of the Serotonergic System. *Handbook of Behavioral Neuroscience* 2010; **21**:51-64
74. <https://awakealivemind.com/2019/06/what-brain-structures-are-required-for-consciousness/>. Erişim Tarihi: 02.07.2020
75. Marcinkiewicz CA. Serotonergic systems in the pathophysiology of ethanol dependence: relevance to clinical alcoholism. *ACS Chem Neurosci* 2015; **6**:1026–1039.
76. Sari Y, Johnson VR, Weedman JM. Role of the serotonergic system in alcohol dependence: from animal models to clinics. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2011; **98**:401-443.
77. Anton RF. Pharmacologic approaches to the management of alcoholism. *J Clin Psychiatry*, 2001; **62(20)**:11-17.
78. Enoch M. The role of GABA(A) receptors in the development of alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav.* 2008; **90**:95–104.
79. Pitman KA, Puil E, Borgland SL. GABA(B) modulation of dopamine release in the nucleus accumbens core. *Eur J Neurosci.* 2014; **40**:3472–3480.
80. Hoerbelt P, Lindsley TA, Fleck MW. Dopamine directly modulates GABAA receptors. *J Neurosci.* 2015; **35**:3525–3536.
81. Kalivas PW. Glutamate systems in cocaine addiction. *Curr Opin Pharmacol.* 2004; **4**:23–9.
82. Kalivas PW, Duffy P. Repeated cocaine administration alters extracellular glutamate in the ventral tegmental area. *J Neurochem.* 1998; **70**:1497–502.
83. Carlezon WA, Jr, Nestler EJ. Elevated levels of GluR1 in the midbrain: a trigger for sensitization to drugs of abuse? *Trends Neurosci.* 2002; **25**:610–5.

84. Kalivas PW, Volkow ND, Seamans J. Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 2005; **45**:647-650.
85. Stahl MS. Essential Psychopharmacology, second edition, Cambridge, Cambridge University Press; 2001. pp.157-186.
86. Leonard BE. Noradrenaline in basic models of depression. *Eur Neuropsychopharmacol*, 1997; **7(1)**:11-16.
87. Parale MP, Kulkarni SK. Studies with α -2 adrenoceptor agonists and alcohol abstinence syndrome in rats. *Psychopharmacology* 1986; **88**:237-239,
88. Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W., Gilman, A.G. (Editors) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. İçinde O'Brien CP. *Drug addiction and abuse*. 1996. pp.557-577.
89.] Adams ML, Kalicki JM, Meyer ER, Cicero TJ. Inhibition of morphine withdrawal syndrome by a nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine methyl ester. *Life Sci* 1993;**52**:PL245-9.
90. Kimes AS, Vaupel DB, London ED. Attenuation of some signs of opioid withdrawal by inhibitors of nitric oxide synthase. *Psychopharmacology* 1993; **112**:521-4
91. Pudiak CM, Bozarth MA. L-NAME and MK-801 attenuate sensitization to locomotor-stimulating effect of cocaine. *Life Sci* 1993; **53**:1517-24.
92. Stewart J, Deschamps S-E, Amir S. Inhibition of nitric oxide synthase does not block the development of sensitization to the behavioral effects of amphetamine. *Brain Res* 1994; **641**:141-4.
93. Ohno M, Watanabe S. Nitric oxide synthase inhibitors block behavioral sensitization to metamphetamine in mice. *Eur J Pharmacol* 1995; **275**:39-44.
94. Breivogel CS, Childers SR. The functional neuroanatomy of brain cannabinoid receptors. *Neurobiol Dis* 1998; **5**:417-431.
95. Cheer JF, Wassum KM, Heien ML, Phillips PE, Wightman RM. Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurosci* 2004; **24**:4393-4400.

96. Brust JCM. Neurobiological Aspects of Substance Abuse. Second Edition, Elsevier Butterworth Heinemann, Philadelphia; 2004.
97. Volkow ND, Baler RD, Compton WM, Weiss SRB. Adverse health effects of marijuana use. *N Engl J Med*. 2014; **370(23)**:2219–27.
98. Castle D, Murray R, D’Souza D, editors. Marijuana and madness. İçinde Iversen L. *How cannabis works in the human brain*. Cambridge: Cambridge University Press; 2012. pp. 1–11.
99. Weinberg NZ. Risk factors for adolescent substance abuse. *J Learn Disabil* 2001; **34(4)**:343-51.
100. Cadoret RJ, Troughton E, O’Gorman TW, Heywood E. An adoption study of genetic and environmental factors in drug abuse. *Arch Gen Psychiatry* 1986; **43**: 1131-6.
101. Kendler KS, Karkowski LM, Neale MC, Prescott CA. Illicit psychoactive substance use, heavy use, abuse, and dependence in a US population-based sample of male twins. *Arch Gen Psychiatry* 2000; **57(3)**: 261-9.
102. Kwon JM, Goate AM. The candidate gene approach. *Alcohol Res Health*. 2000; **24**:164–168.
103. Rebbeck TR, Spitz M, Wu X. Assessing the function of genetic variants in candidate gene association studies. *Nat Rev Genet*. 2004; **5**:589–597.
104. Dudbridge F. Power and predictive accuracy of polygenic risk scores. *PLoS Genet*. 2013; **9**:e1003348.
105. Ferreira MAR, Hottenga JJ, Warrington NM, Medland SE, Willemsen G, Lawrence RW, Gordon S, de Geus EJC, Henders AK, Smit JH. Sequence variants in three loci influence monocyte counts and erythrocyte volume. *American journal of human genetics*. 2009; **85**:745.
106. Cui R, Kamatani Y, Takahashi A, Usami M, Hosono N, Kawaguchi T, Tsunoda T, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Functional Variants in ADH1B and ALDH2 Coupled With Alcohol and Smoking Synergistically Enhance Esophageal Cancer Risk. *Gastroenterology*. 2009; **137**:1768–1775.

107. Macgregor S, Lind PA, Bucholz KK, Hansell NK, Madden PA, Richter MM, Montgomery GW, Martin NG, Heath AC, Whitfield JB. Associations of ADH and ALDH2 gene variation with self report alcohol reactions, consumption and dependence: an integrated analysis. *Human molecular genetics*. 2009; **18**:580–593.
108. Lobo MK, Nestler EJ. The striatal balancing act in drug addiction: distinct roles of direct and indirect pathway medium spiny neurons. *Front Neuroanat*. 2011; **5**:41.
109. Melroy-Greif WE, Simonson MA, Corley RP, Lutz SM, Hokanson JE, Ehringer MA. Examination of the Involvement of Cholinergic-Associated Genes in Nicotine Behaviors in European and African Americans. *Nicotine Tob Res*. 2017; **19**:417–425.
110. Thanos PK, Volkow ND, Freimuth P, Umegaki H, Ikari H, Roth G, Ingram DK, Hitzemann R. Overexpression of dopamine D2 receptors reduces alcohol self-administration. *J Neurochem*. 2001; **78**:1094–1103.
111. Harari O, Wang JC, Bucholz K, Edenberg HJ, Heath A, Martin NG, Pergadia ML, Montgomery G, Schrage A, Bierut LJ, Madden PF, Goate AM. Pathway analysis of smoking quantity in multiple GWAS identifies cholinergic and sensory pathways. *PLoS One* 2012;**7**:e50913.
112. Haughey HM, Marshall E, Schacht JP, Louis A, Hutchison KE. Marijuana withdrawal and craving: influence of the cannabinoid receptor 1 (CNR1) and fatty acid amide hydrolase (FAAH) genes. *Addiction*. 2008;**103**:1678–1686.
113. Lind PA, Macgregor S, Agrawal A, Montgomery GW, Heath AC, Martin NG, Whitfield JB. The role of GABRA2 in alcohol dependence, smoking, and illicit drug use in an Australian population sample. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2008;**32**:1721–1731.
114. Vanyukov MM, Maher BS, Devlin B, Kirillova GP, Kirisci L, Yu LM, Ferrell RE. The MAOA promoter polymorphism, disruptive behavior disorders, and early onset substance use disorder: gene-environment interaction. *Psychiatr Genet*. 2007;**17**:323–332.

115. Kenny PJ. Epigenetics, microRNA, and addiction. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2014;**16**:335–344.
116. Zhou Z, Enoch MA, Goldman D. Gene expression in the addicted brain. *Int Rev Neurobiol*. 2014;**116**:251–273.
117. Lehrmann E, Freed WJ. Transcriptional correlates of human substance use. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;**1139**:34–42.
118. Marie-Claire C, Salzmann J, David A, Courtin C, Canestrelli C, Noble F. Rnd family genes are differentially regulated by 3,4-methylenedioxymethamphetamine and cocaine acute treatment in mice brain. *Brain research*. 2007;**1134**:12–17.
119. Zhou Z, Yuan Q, Mash DC, Goldman D. Substance-specific and shared transcription and epigenetic changes in the human hippocampus chronically exposed to cocaine and alcohol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;**108**:6626–6631.
120. Kerns RT, Ravindranathan A, Hassan S, Cage MP, York T, Sikela JM, Williams RW, Miles MF (2005) Ethanol-responsive brain region expression networks: implications for behavioral responses to acute ethanol in DBA/2J versus C57BL/6J mice. *J Neurosci* **25(9)**: 2255–2266.
121. Rodd ZA, Kimpel MW, Edenberg HJ, Bell RL, Strother WN, McClintick JN, Carr LG, Liang T, McBride WJ Differential gene expression in the nucleus accumbens with ethanol self-administration in inbred alcohol-preferring rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; **89(4)**:481–498.
122. Hillemacher T, Frieling H, Hartl T, Wilhelm J, Kornhuber J, Bleich S. Promoterspecific methylation of the dopamine transporter gene is altered in alcohol dependence and associated with craving. *J Psychiatr Res* 2009; **43(4)**:388–392.
123. Philibert RA, Beach SR, Gunter TD, Brody GH, Madan A, Gerrard M. The effect of smoking on MAOA promoter methylation in DNA prepared from lymphoblasts and whole blood. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2009; **153B**: 619–28. 72.

124. Launay J. M., Del Pino M., Chironi G., Callebert J., Peoc'h K., Mégnien J. L. et al. Smoking induces long-lasting effects through a monoamine-oxidase epigenetic regulation. *PloS One* 2009; **4**:182–95.
125. Nielsen DA, Yuferov V, Hamon S, Jackson C, Ho A, Ott J. Ve ark. Increased OPRM1 DNA methylation in lymphocytes of methadone-maintained former heroin addicts. *Neuropsychopharmacology* 2008; **34**: 867–73.
126. Siegel G, Saba R, Schratt G. microRNAs in neurons: manifold regulatory roles at the synapse. *Current opinion in genetics & development*. 2011;**21**:491–497.
127. Schratt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, Greenberg ME. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*. 2006;**439**:283–289.
128. Bali P, Kenny PJ. MicroRNAs and Drug Addiction. *Front Genet*. 2013;**4**:43.
129. Mains RE, Kiraly DD, Eipper-Mains JE, Ma XM, Eipper BA. Kalrn promoter usage and isoform expression respond to chronic cocaine exposure. *BMC neuroscience*. 2011;**12**:1.
130. Lehrmann E, Oyler J, Vawter MP, Hyde TM, Kolachana B, Kleinman JE, Huestis MA, Becker KG, Freed WJ. Transcriptional profiling in the human prefrontal cortex: evidence for two activational states associated with cocaine abuse. *The pharmacogenomics journal*. 2003;**3**:27–40.
131. Mons N, Beracochea D. Behavioral Neuroadaptation to Alcohol: From Glucocorticoids to Histone Acetylation. *Frontiers in Psychiatry*. 2016;**7**:165.
132. Renthall W, Kumar A, Xiao G, Wilkinson M, Covington HE, Maze I, Sikder D, Robison AJ, LaPlant Q, Dietz DM. Genome-wide analysis of chromatin regulation by cocaine reveals a role for sirtuins. *Neuron*. 2009;**62**:335–348.
133. Tenhunen J, Salminen M, Lundstrom K, Kiviluoto, T, Savolainen R. Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem* 1994; **223**:1049–1059.
134. Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, ve ark. Functional analysis of genetic variation in Catechol-O-Methyltransferase

- (COMT): Effects on mRNA, protein, and enzyme activity in posmortem human brain. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;**75**:807-821.
135. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melen K, Julkunen I, et al. Kinetics of human soluble and membran-bound catechol-O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry.* 1995;**34**:4202-4210.
 136. Matsumoto M, Weickert CS, Beltaifa S, Kolachana B, Chen J, Hyde T.M, et al. Catechol-O-methyltransferase (COMT) mRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2003;**28**:1521-1530.
 137. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics.* 1996;**6**(3):243-50.
 138. Bacig MO, Predicala RZ, Mapua CA, Lozano-Kühne JP, Daroy M, Natividad FF, et al. Allelic and genotype frequencies of catechol-O-methyltransferase (Val158Met) and CYP2D6* 10 (Pro34Ser) single nucleotide polymorphisms in the Philippines. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2012; **3**:115-121.
 139. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience* 2006;**7**:818-827.
 140. Van der Knaap LJ, Schaefer JM, Franken IH, Verhulst FC, Van Oort FV, Riese H. Catechol-O-methyltransferase gene methylation and substance use in adolescents: the TRAILS study. *Genes, Brain and Behavior* 2014; **13**(7):618-625.
 141. Jackson DJ, Westlind-Danielsson A. Dopamine receptors: Molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. *Pharmacol Ther.* 1994; **64**:291-369.
 142. Bonci A, Hopf FW (2005) The dopamine D2 receptor: new surprises from an old friend. *Neuron* **47**: 335-338.

143. Zahari Z, Salleh MR, Zahri MK, Musa N, İsmail RA. Nested Allele-Specific Multiplex Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of DRD2 Polymorphisms. *Malaysian J Med Sci.* 2011; **18(4)**:44-57.
144. Arinami T, Gao M, Hamaguchi H, Toru M. A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 1997; **6(4)**:577-582.
145. Funahashi Y, Yoshino Y, Yamazaki K, Ozaki Y, Mori Y, Mori T, Ochi S, Iga J, Ueno S. Analysis of methylation and -141C Ins/Del polymorphisms of the dopamine receptor D2 gene in patients with schizophrenia. *Psychiatry Research* 2019; **278**:135-140.
146. EMCDDA. *2019 Avrupa Uyuşturucu Raporu*, Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (İnternette) 2020. Erişim 04.07.2020, https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/11364/20191724_TDA-T19001TRN_PDF.pdf.
147. TUBİM. *2019 Türkiye Uyuşturucu Raporu*, Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (İnternette) 2020. Erişim 04.07.2020, <http://www.narkotik.pol.tr/kurumlar/narkotik.pol.tr/TUB%C4%B0M/Ulusal%20Yay%C4%B1nlar/2019-TURKIYE-UYUSTURUCU-RAPORU.pdf>.
148. <https://www.drozdogan.com/polimeraz-zincir-reaksiyonu-nedir-pcr-tarihcesi-nasil-yapilir/> Erişim Tarihi: 05.07.2020.
149. <https://gmocrl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20TR/bolum6.pdf>. Erişim Tarihi: 05.07.2020.
150. BM. *Dünya Uyuşturucu Raporu*, Birleşmiş Milletler (İnternette) 2019. Erişim 05.07.2020, <https://wdr.unodc.org/wdr2019/en/exsum.html>.
151. Bilici R, Karakaş UG, Tufan E, Güven T, Uğurlu M. Bir bağımlılık merkezinde yatarak tedavi gören hastaların sosyo demografik özellikleri. *Fırat Tıp Dergisi.* 2012, **17**: 223-227.
152. Mutlu EA, Sarıkaya ÖÖ. Bir AMATEM kliniğinde tedavi gören hastaların sosyodemografik verilerinin incelenmesi. *Klinik Psikiyatri Dergisi* 2019;**22**:276-285.

153. Bryan A, Moran R, Farrell E, O'Brien M. Drug-Related Knowledge, Attitudes and Beliefs in Ireland: Report of a Nation-Wide Survey. Dublin: *The Health Research Board*. 2000: 19-40.
154. Sahker E, Acion L, Arndt S. National analysis of differences among substance abuse treatment outcomes: college student and nonstudent emerging adults. *J Am Coll Health*. 2015; 63:118–124.
155. Harford TC, Yi HY, Hilton ME. Alcohol abuse and dependence in college and noncollege samples: a ten-year prospective follow-up in a national survey. *J Studies Alcohol*. 2006;67:803– 809.
156. Barnett NP, Monti PM, Spirito A, et al. Alcohol use and related harm among older adolescents treated in an emergency department: the importance of alcohol status and college status. *J Stud Alcohol*. 2003;64:342–349.
157. Arria AM, Goldkang S, Rusinko W, et al. Drug treatment completion and post-discharge employment in the TOPPS-II Interstate Cooperative Study. *J Subst Abuse Treat*. 2003;25:9–18.
158. Evans E, Li L, Hser Y-I. Client and program factors associated with dropout from court mandated drug treatment. *Eval Prog Plan*. 2009;32:204–212
159. Zarkin GA, Dunlap LJ, Bray JW, Wechsberg WM. The effect of treatment completion and length of stay on employment and crime in outpatient drug-free treatment. *J Subst Abuse Treat*. 2002;23:261–271.
160. Ginexi EM, Foss MA, Scott CK. Transitions from treatment to work: Employment patterns following publicly funded substance abuse treatment. *Journal of Drug Issues*, 2003; 33:497-518.
161. Kidorf, M., Stitzer, M. L., Brooner, R. K., & Goldberg, J. Contingent methadone take-home doses reinforce adjunct therapy attendance of methadone maintenance patients. *Drug and Alcohol Dependence*, 1994;36:221-226.
162. Platt JJ. Vocational rehabilitation of drug abusers. *Psychological Bulletin* 1995;117:416.

163. Sterling RC, Gottheil E, Glassman SD, Weinstein SP, Serota RD, Lundy A. Correlates of employment: A cohort study. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 2001; **27**: 137-146.
164. Avşar G, Koç F, Aslan G. Madde Bağımlısı Hastalarda Sosyal Destek ve Benlik Saygısı. *ACU Sağlık Bil Derg* 2016;**1**: 44-49.
165. Radhakrishnan R, Wilkinson ST, D'Souza DC. Gone to Pot - A Review of the Association between Cannabis and Psychosis. *Front psychiatry*. 2014;**5**:54.
166. Gage SH, Hickman M, Zammit S. Association Between Cannabis and Psychosis: Epidemiologic Evidence. *Biol Psychiatry*. 2016 ;**79(7)**: 549–562.
167. McGuire PK, Jones P, Harvey I, Williams M, McGuffin P, Murray RM. Morbid risk of schizophrenia for relatives of patients with cannabis-associated psychosis. *Schizophr Res*. 1995;**15(3)**: 277–81.
168. Arendt M, Mortensen PB, Rosenberg R, Pedersen CB, Waltoft BL. Familial predisposition for psychiatric disorder: comparison of subjects treated for cannabis induced psychosis and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;**65(11)**: 1269– 74.
169. Tarricone I, Boydell J, Panigada S, Allegri F, Marcacci T, et al. The impact of substance use at psychosis onset on First Episode Psychosis course: results from a 1 year follow-up study in Bologna. *Schizophr Res*. 2014; **153**: 60-63.
170. Gouzoulis-Mayfrank E. Dual diagnosis of psychosis and addiction. From principles to practice. *Nervenarzt* 2004; **75**: 642-650.
171. Gessa GL, Melis M, Muntoni AL, Diana M. Cannabinoids activate mesolimbic dopamine neurons by an action on cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol*.1998; **341(1)**: 39–44.
172. Horowitz R, Kotler M, Shufman E, Aharoni S, Kremer I, Cohen H, et al. Confirmation of an excess of the high enzyme activity COMTval allele in heroin addicts in a familybased haplotype relative risk study. *Am J Med Genet*. 2000; **96**: 599–603.
173. Li T, Chen CK, Hu X, Ball D, Lin SK, Chen W, Sham PC, Loh el W, Murray RM, Collier DA. Association analysis of the DRD4 and COMT genes in

- methamphetamine abuse. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004; **129B**:120–124.
174. Palmatier MA, Kang AM, Kidd KK. Global variation in the frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. *Biological Psychiatry*, 1999; **46**: 557–567.
 175. Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, Weinberger, DR. Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): Effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *American Journal of Human Genetics*, 2004; **75**: 807–821.
 176. Harrison PJ, Tunbridge EM. Catechol-O-methyltransferase (COMT): A gene contributing to sex differences in brain function, and to sexual dimorphism in the predisposition to psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology* 2008; **33**, 3037–3045.
 177. Ittiwut R, Listman JB, Ittiwut C, Cubells JF, Weiss RD, Brady K, Oslin D, Farrer LA, Kranzler HR, Gelernter J. Association Between Polymorphisms in Catechol-O- methyltransferase (COMT) and Cocaine-Induced Paranoia in European-American and African-American Populations. *Am J Med Genet* 2011; **PartB 156**: 651–660.
 178. Ishiguro H, Haruo Shibuya T, Toru M, Saito T, Arinami T. Association study between high and low activity polymorphism of catechol-Omethyltransferase gene and alcoholism. *Psychiatr Genet*. 1999; **9**: 135–138.
 179. Wang T, Franke P, Neidt H. Association study of the low-activity allele of catechol-O-methyltransferase and alcoholism using a familybased approach. *Mol Psychiatry*. 2001; **6**:109 –111.
 180. Tiitonen J, Hallikainen T, Lachman H, Saito T, Volavka J, Kauhanen J, et al. Association between the functional variant of the catechol-Omethyltransferase (COMT) gene and type 1 alcoholism. *Mol Psychiatry*. 1999; **4**: 286 –289.
 181. Vandenberg DJ, Rodriguez LA, Miller IT, Uhl GR, Lachman HM. High-activity catechol-O-methyltransferase allele is more prevalent in polysubstance abusers. *Am J Med Genet*. 1997; **74(4)**: 439–42.

182. González-Castro TB, Hernández-Díaz Y, Juárez-Rojop IE, LópezNarváez ML, Tovilla-Zárate CA, Fresan A. The role of a catechol-O-methyltransferase (COMT) Val158Met genetic polymorphism in schizophrenia: A systematic review and updated meta-analysis on 32,816 subjects. *Neuromolecular Medicine*, 2016;**18**: 216–231.
183. Zumárraga M, Arrúe A, Basterreche N, Macías I, Catalán A, Madrazo A, González-Torres MA. COMT haplotypes, catecholamine metabolites in plasma and clinical response in schizophrenic and bipolar patients. *Pharmacogenomics* 2016; **17**: 837–851.
184. Klein M, Schmoeger M, Kasper S, Schosser A. Meta-analysis of the COMT Val158Met polymorphism in major depressive disorder: The role of gender world. *Journal of Biological Psychiatry*, 2016; **17**: 147–158.
185. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. *Biol Psychiatry*. 2005; **57(10)**: 1117–27.
186. Nohesara S, Ghadirivasfi M, Barati M, Ghasemzadeh M, Narimani S, Mousavi-Behbahani Z, Joghataei M, Soleimani M, Taban M, Mehrabi S, Thiagalingam S, Abdolmaleky HM, Methamphetamine-Induced Psychosis Is Associated With DNA Hypomethylation and Increased Expression of AKT1 and Key Dopaminergic Genes. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2016; **171(8)**: 1180–1189.
187. Sagud M, Mück-Seler D, Mihaljević c-Peles A, Vuksan-Cusa B, Zivković M, Jakovljević M, Pivac N. Catechol-O-methyl transferase and schizophrenia. *Psychiatr Danub* 2010; **22**: 270–274.
188. Apud JA, Weinberger DR. Pharmacogenetic tools for the development of target-oriented cognitive enhancing drugs. *Neuro* 2006; **Rx3**:106–116.
189. Abdolmaleky HM, Cheng KH, Faraone SV, Wilcox M, Glatt SJ, Gao F, Smith, CL, Shafa R, Aeali B, Carnevale J, Pan H, Papageorgis P, Ponte JF, Sivaraman V, Tsuang MT, Thiagalingam S. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a

- major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Hum Mol Genet* 2006; **15**: 3132–3145.
190. Nohesara S, Ghadirivasfi M, Mostafavi S, Eskandari MR, Ahmadkhaniha H, Thiagalingam S, Abdolmaleky HM. DNA hypomethylation of MB-COMT promoter in the DNA derived from saliva in schizophrenia and bipolar disorder. *J Psychiatr Res* 2011; **45**:1432–1438.
 191. L'hirondel M, Cheramy A, Godeheu G, Artaud F, Saiardi A, Borrelli E et al. Lack of autoreceptor-mediated inhibitory control of dopamine release in striatal synaptosomes of D2 receptor-deficient mice. *Brain Res.* 1998; **792(2)**:253-262.
 192. Jönsson EG, Nöthen MM, Grünhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P, Sedvall GC: Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 1999; **4**: 290–296.
 193. Pohjalainen T, Rinne JO, Nagren K, Lehtikainen P, Anttila K, Syvalahti EK, Hietala J: The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Mol Psychiatry*, 1998; **3**:256–260.
 194. Grzywacz A, Jasiewicz A, Malecka I, Suchancka A, Grochans E, Karakiewicz B, Samochowiec A, Bieńkowski P, Samochowiec J. Influence of DRD2 and ANKK1 polymorphisms on the manifestation of withdrawal syndrome symptoms in alcohol addiction. *Pharmacological Reports* 2012; **64**: 1126-1134.
 195. Gelernter J, Kranzler H: D2 Dopamine receptor gene (DRD2) allele and haplotype frequencies in alcohol dependent and control subjects: no association with phenotype or severity of phenotype. *Neuropsychopharmacology*, 1999; **20**: 640–649.
 196. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*, 2005; **10**: 40–68.
 197. Beauregard M, Levesque J, Bourgoin P. Neural correlates of conscious self-regulation of emotion. *J Neurosci*, 2001; **21RC**: 165.

198. Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, van Daal A, Noble EP, Lawford BR, ve ark. A DRD2 and ANKK1 haplotype is associated with nicotine dependence. *Psychiat Res.* 2012; **196(2)**: 285-289.
199. Zhao X, Huang Y, Chen K, Li D, Han C, Kan Q. -141C insertion/deletion polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia in Chinese Han population: Evidence from an ethnic group-specific meta-analysis. *Asia-Pacific Psychiatry.* 2016; **8(3)** :189-98.
200. Li T, Arranz M, Aitchison KJ, ve ark. Case-control, haplotype relative risk and transmission disequilibrium analysis of a dopamine D2 receptor functional promoter polymorphism in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1998; **32**: 87–92.
201. Stöber G, Jatzke S, Heils A, ve ark. Insertion/deletion variant (-141C Ins/Del) in the 5' regulatory region of the dopamine D2 receptor gene: lack of association with schizophrenia and bipolar affective disorder. Short communication. *J Neural Transm* 1998; **105**: 101–109.
202. Talerico T, Ulpian C, Liu IS. Dopamine D2 receptor promoter polymorphism: no association with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 1999; **85**: 215–219.
203. Parsons MJ, Mata I, Beperet M. A dopamine D2 receptor gene-related polymorphism is associated with schizophrenia in a Spanish population isolate. *Psychiatr Genet.* 2007; **17**: 159–163.
204. Sanders AR, Duan J, Levinson DF, ve ark. No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *Am J Psychiatry.* 2008; **165**: 497–506.
205. Dubertret C, Bardel C, Ramoz N, ve ark. A genetic schizophrenia-susceptibility region located between the ANKK1 and DRD2 genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010; **34**: 492–499.
206. Kurt H, Dikmen M, Basaran A, ve ark. Dopamine D2 receptor gene -141C Insertion/ Deletion polymorphism in Turkish schizophrenic patients. *Mol Biol Rep.* 2011; **38**: 1407–1411.

207. Breen G, Brown J, Maude S, ve ark. -141 C del/ins polymorphism of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population. *Am J Med Genet.* 1999; **88**: 407–410.
208. Sáiz PA, García-Portilla MP, Arango C, ve ark. Genetic polymorphisms in the dopamine-2 receptor (DRD2), dopamine-3 receptor (DRD3), and dopamine transporter (SLC6A3) genes in schizophrenia: data from an association study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010; **34**: 26–31.
209. Kampman O, Anttila S, Illi A, ve ark. Dopamine receptor D2 -141C Insertion/Deletion polymorphism in a Finnish population with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2003; **121**: 89–92.
210. Lafuente A, Bernardo M, Mas S, ve ark. -141C Ins/Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia in a Spanish population. *Psychiatr Genet.* 2008; **18**: 122–127.
211. Tzang RF, Hong CJ, Liou YJ, Yu YW, Chen TJ, Tsai SJ. Association study of p11 gene with major depressive disorder, suicidal behaviors and treatment response. *Neurosci Lett.* 2008; **447**: 92–95.
212. Everitt BJ, Robbins TW. From the ventral to the dorsal striatum: devolving views of their roles in drug addiction. *Neuroscience and biobehavioral reviews.* 2013; **37**: 1946–1954.
213. Collins AG, Frank MJ. Opponent actor learning (OpAL): modeling interactive effects of striatal dopamine on reinforcement learning and choice incentive. *Psychological review.* 2014; **121**: 337–366.
214. Hirvonen MM, Laakso A, Någren K, Rinne JO, Pohjalainen T, Hietala J. C957T polymorphism of dopamine D2 receptor gene affects striatal DRD2 in vivo availability by changing the receptor affinity. *Synapse.* 2009; **63(10)**: 907–912.
215. Imperato A, Di Chiara G. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 1986; **239**: 219–228.

216. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Hitzemann R, Ding YS, Pappas N, Shea C, Piscani K. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 1996; **20**: 1594–1598.
217. Volkow ND, Wang GJ, Newcorn JH, Kollins SH, Wigal TL, Telang F, Fowler JS, Goldstein RZ, Klein N, Logan J, Wong C, Swanson JM. Motivation deficit in ADHD is associated with dysfunction of the dopamine reward pathway. *Molecular psychiatry*. 2011; **16**: 1147–1154.
218. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Baler R, Telang F. Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*. 2009;**56**(Suppl 1):3–8.
219. Volkow ND, Tomasi D, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Logan J, Maynard LJ, Wong CT. Predominance of D2 receptors in mediating dopamine's effects in brain metabolism: effects of alcoholism. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2013; **33**: 4527–4535.
220. Heinz A, Siessmeier T, Wrase J, Hermann D, Klein S, Grusser SM, Flor H, Braus DF, Buchholz HG, Grunder G, Schreckenberger M, Smolka MN, Rosch F, Mann K, Bartenstein P. Correlation between dopamine D(2) receptors in the ventral striatum and central processing of alcohol cues and craving. *The American journal of psychiatry*. 2004; **161**: 1783–1789.
221. Gerra MC, Jayanthi S, Manfredini M, Walther D, Schroeder J, Philips KA, Cadet JL, Donnini C. Gene variants and educational attainment in cannabis use: mediating role of DNA methylation. *Translational Psychiatry* 2018, **8**:23.
222. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat. Rev. Genet*. 2012; **13**:484–492.

FORMLAR

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın,

Madde kullanım bozukluğu dünyada ve ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Madde kullanımı özellikle sentetik madde kullanımı bizim gibi gelişmekte olan ülkelerde her yıl artış göstermektedir. Bireyler madde kullanmaya daha çok çocukluk ve gençlik dönemlerinde çevresel etkenler dolayısıyla başlamaktadır, ancak bireylerin bağımlı hale gelmesinde genetik özellikleri de etkili olmaktadır. Bireylerin genetik özellikleri anne ve babadan gelen, gen adı verilen yapılar ile belirlenmektedir. Genler bireye ait tüm özelliklerin bilgisini taşır. Madde kullanım bozukluğu olan hastaların genetik açıdan incelenmesi, tedavinin yönlendirilmesinde büyük öneme sahiptir. Bu araştırmada amaç; madde kullanımı olan bireylerin, madde kullanımı ile ilişkili genlerdeki metilasyon analizi verileriyle hastalarda tedavi başarısını öngörmek ve uygun tedavi seçeneklerine katkısını belirlemektir.

Sizlerden madde bağımlılığında rolü olduğu bildirilen genleri araştırmak üzere bir tüp kan örneği alıp “Madde Kullanım Bozukluğu Olan Hastalarda Epigenetik Farklılıkların Araştırılması ve Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması” başlıklı çalışmamız için kullanacağız. Bildiğiniz gibi böylesi az miktarda kan vermenin neredeyse hiçbir yan etkisi yoktur. Olası yan etkiler arasında baş dönmesi ve tansiyon düşmesine bağlı hafif baygınlık hissi sayılabilir. Böyle durumlarda kişi düz bir zeminde birkaç dakika uzanarak, gerekirse ayakları havaya kaldırılarak bu hali atlatabilir. Alınan kan ile yapılacak genetik araştırmalar İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilecektir. Yer aldığınız bu araştırmada öngörülen süre 12 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 150’dir.

Bu çalışmanın sizin için herhangi bir masrafı yoktur. Verdiğiniz kan bağış olup, kan veren ve çalışmayı yapanın ticari bir kazanç beklentisi yoktur. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Ayrıca size ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, başka merkezlere yollanması ve işlenmesi konusunda bu çalışmayı yapan kişilere yetki veriyorsunuz.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı gerekli gördüğü durumlarda sizi araştırmadan çıkarabilir.

Yürütmekte olduğumuz bu çalışma ve sonuçları hakkında Doç. Dr. Pınar Çetinay Aydın’dan (0505 236 30 82) bilgi alabilirsiniz.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Doç. Dr. Pınar Çetinay Aydın tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim. Eğer araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (BU tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Araştırma konusu hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel- Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 140
Konu: Prof. Dr. Sacide PEHLİVAN hk.

Tarih : 04.02.2019

Sayın Prof. Dr. Sacide PEHLİVAN
Tıbbi Biyoloji

İlgi: Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının 22/01/2019 tarihli 16278 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yasemin OYACI' nın yürüteceği 2019/87 dosya numaralı "Madde Kullanım Bozukluğu Olan Hastalarda Epigenetik Farklılıkların Araştırılması ve Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 25/01/2019 tarih ve 02 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Madde Kullanım Bozukluğu Olan Hastalarda Epigenetik Farklılıkların Araştırılması Ve Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

ORJİNALLIK RAPORU

% 16	% 9	% 4	% 13
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 5
2	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
3	www.gecitder.org İnternet Kaynağı	% 1
4	www.emcdda.europa.eu İnternet Kaynağı	<% 1
5	Submitted to Haliç Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
6	acikerisim.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
8	sbk2017.org	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Yasemin	Soyadı	Oyacı
Doğ. Yeri	Eskişehir	Doğ. Tar.	03.06.1988
Email	yaseminf@hotmail.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Teknik Üniversitesi	2017
Lise	Eskişehir Fatih Fen Lisesi	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Moleküler Biyolog	İTF Tıbbi Biyoloji AD. Alp Şen Vakfı Doku Tipleme ve Genetik Araştırma Laboratuvarı	2016-
2.	Matematik Öğretmeni	Eğitim Bilimleri	2014-2016
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	orta	iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

1. Pehlivan, S., Işıksağan, N., Pehlivan, M., Günaldı, M., **Oyacı, Y.**, Nursal, A, F. The MIF rs755622 Variant may Increase Susceptibility of Breast Cancer but not Gastrointestinal Cancer in a TurkishPopulation, Turkish Journal of Oncology, 2020. (ESCI), 35(3), 283-288, DOI : 10.5505/tjo.2020.2186.
2. Nursal, A, F., Aydın P.Ç., Uysal, M.A., Pehlivan, M., **Oyacı, Y.**, Pehlivan, S. PER3 VNTR variant and susceptibility to smoking status/substance use disorder in a Turkish population. Arch Clin Psychiatry. 2020;47(3), DOI: 10.1590/0101-608300000000235.
3. Aytaç, H.M., **Oyacı, Y.**, Yazar, M.S., Erol, A., Pehlivan, S. Association of mif and mbl2 gene polymorphisms with attempted suicide in patients diagnosed with schizophrenia or bipolar disorder. journal of clinical neuroscience, doi: 10.1016/j.jocn.2020.04.001.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Edebiyat, Sinema