

Nikotin Kullanım Bozukluğunun Neurexin 3 Gen Polimorfizmi ile İlişkisi



Gülcan GÜLEÇ¹, Didem TURGUT COŞAN², Fezan MUTLU ŞAHİN³, İbrahim Uğur ÇALIŞ⁴,
Melis DANIŞMAN SONKURT⁵, Ferdi KÖŞGER⁶, Altan EŞSİZOĞLU⁷

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Türk popülasyonunda nikotin kullanım bozukluğu (NUD) ile ilişkili olarak rs 221473, rs 221497, rs1004212 ve rs11624704 bölgelerindeki Neurexin 3 gen (NRXN3) polimorfizmlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Yapılan güç analizine göre nikotin kullanım bozukluğu ve kontrol grubunun 18-65 yaş arası 200'er kişiden oluşması kararlaştırıldı. Çalışma grubuna psikiyatrik bir birinci eksen bozukluğu, mental retardasyonu, geçirilmiş kafa travması veya herhangi bir nörolojik bozukluğu olmayan, en az 1 yıldır günde en az 10 sigara içen kişiler dahil edildi. Kontrol grubuna ise "hiç sigara içtiniz mi" sorusuna "hayır" cevabı veren ciddi kronik fiziksel bir hastalığı olmayan, daha önce geçirilmiş psikiyatrik bir bozukluğu ya da mental retardasyonu olmayan, sağlıklı gönüllü kişiler dâhil edildi. Tüm katılımcılara demografik verileri sorgulamayı içeren anket formu ve sigara kullananlara Fageström nikotin bağımlılık ölçeği uygulandı. Anketlerin uygulanmasını takiben DNA eldesi için katılımcılardan alınan venöz kan örneği, EDTA (etilen diamin tetra asetik asit) içeren tüplere alındı.

Bulgular: Çalışmamızda seçilen dört gen bölgesinden rs11624704 için AC aleli taşıyan bireylerin, rs1004212 için AG aleli taşıyan bireylerin sigara bağımlılığı olma riskinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamız Türk örneklem grubunda NRXN3 ve nikotin kullanım bozukluğu ilişkisini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızda Türk popülasyonunda nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma riski ile Neurexin geninin ilişkili olabileceği gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Nikotin, gen, polimorfizm, neurexin, bağımlılık

SUMMARY

Association of Nicotine Use Disorder with Neurexin 3 Gene Polymorphisms

Objective: In this study, we aimed to investigate the Neurexin 3 gene (NRXN3) polymorphisms in the rs 221473, rs 221497, rs1004212 and rs11624704 regions in relation to nicotine use disorder (NUD) in the Turkish population.

Method: Power analysis indicated that the NUD group and the control group of this study should each comprise 200 participants in the 18-65 year age range. The NUD group consisted of individuals without a psychiatric first axis disorder except for NUD, mental retardation, past head trauma or a neurological disorder, who had smoked minimally 10 cigarettes per day for at least 1 year. The control group included individuals without a serious chronic physical illness, a previous psychiatric disorder or mental retardation and who responded "no" to the question "have you ever smoked?" A sociodemographic questionnaire and the Fageström nicotine dependence scale (FNDS) for the NUD group were utilized. Venous blood samples of all participants were taken into tubes containing EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) for DNA extraction. Duplex fluorescence melting curve analysis was used for genotype detection and differentiation.

Results: The individuals carrying the AC allele and the AG allele at the rs11624704 and the rs1004212 regions respectively had a high risk of being addicted to cigarettes.

Conclusion: This is first study investigating the relationship of the NRXN3 gene and nicotine addiction in the Turkish population. It was observed that the risk of NUD in the Turkish population may be related to the Neurexin gene.

Keywords: Nicotine, gene, polymorphism, neurexin, addiction

Geliş Tarihi: 06.05.2020, **Kabul Tarihi:** 18.12.2020, **Çevrimiçi Yayın Tarihi:** 17.08.2021

¹Prof., ⁵Uzm., ⁶Doç., ESOGÜ Tıp Fak., Psikiyatri AD., ²Prof., ⁴PhD., ESOGÜ Tıp Fak., Tıbbi Biyoloji, ³Prof., ESOGÜ Tıp Fak., Biyoistatistik, ⁷Doç., Serbest Hekim, Psikiyatri, Eskişehir.

GG: <https://orcid.org/0000-0002-3159-5372>, **DTC:** <https://orcid.org/0000-0002-8488-6405>, **FMS:** <https://orcid.org/0000-0002-9339-4031>,

İÜÇ: <https://orcid.org/0000-0003-2907-2035>, **MDS:** <https://orcid.org/0000-0001-9818-1169>, **FK:** <https://orcid.org/0000-0002-6013-2457>, **AE:** <https://orcid.org/0000-0002-3088-7592>

Dr. Gülcan Güleç, e-posta: gulganculec@yahoo.com

GİRİŞ

Madde Kullanım Bozukluğu kompulsif madde arama davranışı, tolerans ve yoksunluktan kaynaklanan olumsuz sonuçların (anksiyete, disfori, diğer emosyonel, bilişsel ve somatik belirtiler) ortaya çıkması ve buna rağmen madde kullanımı üzerindeki kontrol kaybı ile karakterize kronik bir hastalıktır (Muskiewicz ve ark. 2018). Alkol ve nikotinin aşırı kullanımı batı toplumlarında önlenebilir morbidite ve mortalitenin başlıca nedenleri olarak bildirilmektedir (Jha 2009). Madde Kullanım Bozukluğu biyolojik, davranışsal ve sosyal etkenlerin birlikte rol oynadığı bir hastalıktır. Oluş nedenleri incelenirken genetik yatkınlık kadar tüm risk etkenleri de bilinmemlidir (Uluğ ve Öztürk 2015). Madde Kullanım Bozukluğunda alkol, nikotin veya yasadışı maddelere yatkınlık, aynı genetik arka plana sahip olup son derece heterojen ve poligeniktir (Muskiewicz ve ark. 2018, Jha ve Peto 2014).

Nikotin kullanım bozukluğu yaşam kalitesini düşüren ve hatta ölümcül olabilen bir bağımlılık türüdür. Dünyadaki her beş ölümden birinin arkasındaki nedenin sigara kullanmaya neden olan nikotin kullanım bozukluğu olduğu bildirilmektedir (Li ve ark. 2003). Sigara kullananların %10 ile %20'si kullanım bozukluğu geliştirmez (Perez Rubio ve Cordopa-Lanus 2019). Nikotin kullanım bozukluğunda genetik, ailesel, çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı; çevresel faktörlerin sigara kullanmaya başlamada genetik faktörlerin ise içicilikten kullanım bozukluğuna geçişte daha baskın rolü olduğu bildirilmektedir (Sullivan ve Kendler 1999, Bierut 2011, Akgün ve ark. 2011, Docampo ve ark. 2012, Şengül ve ark. 2016).

Nikotin kullanım bozukluğunun etiolojisinde genetik geçişin nasıl gerçekleştiği aile çalışmaları, ikiz çalışmaları ve moleküler genetik çalışmalar ile araştırılmıştır. İkiz ve aile çalışmaları genetik geçişi %30-72 arasında hesaplamaktadır (Docampo ve ark. 2012).

Moleküler genetik çalışmalar fonksiyonel aday gen yaklaşımı ile yapılmaktadır. Bu yöntem, belirli bir hastalıkta bilinen biyolojik yollarda yer alan proteinleri kodlayan genleri değerlendirir (Perez-Rubio ve Cordopa-Lanus 2019). Aday gen çalışmalarında, nörobiyolojik çalışmalara göre nikotinin vücuttaki etkileri ve nikotin kullanım bozukluğunun patofizyolojisinde rol oynayabileceği düşünülen; nikotinik asetil kolin reseptörünü kodlayan genler, nikotin metabolizmasını etkileyen genler, dopamin, serotonin ve noradrenalin sistemi ile ilişkili proteinleri kodlayan genlere odaklanılmıştır (Bierut 2011).

Bugüne kadar nikotin kullanım bozukluğu için en güçlü genetik bağlantı nikotin reseptörlerinin 2 gen sınıfı arasında saptanmıştır; 15. Kromozomda yer alan CHRNA3-CHRNA5- CHRNb4 gen sınıfı ve 8. Kromozomda yer alan CHRNA6- CHRNb3 gen sınıfı (Docampo ve ark. 2012). Kromozom 15'te bulunan CHRNA5 geni, topluluklar arasında çok farklı alel frekansları göstermektedir (Fang ve ark.

2017). Bildirilen güçlü ilişkiye rağmen nikotinik reseptör genlerinin katkısı nikotin kullanım bozukluğuna yatkınlığın sadece bir kısmını açıklayabilmektedir. Diğer genlerde bağımlılık yapıcı (addiktif) veya epistatik (maskeleyen) şekilde nikotin kullanım bozukluğuna katkıda bulunabilir (Docampo ve ark. 2012).

Neurexin gen ailesi, esas olarak nöronlarda eksprese edilen bir grup hücre yüzeyi proteinini (hücre adezyon molekülleri) kodlar; nörotransmitter salınımı için gereklidir ve sinaps oluşumunda anahtar bir faktördür (Perez-Rubio ve Cordoba-Lanus 2019). Hücre adezyon moleküllerinin sadece nöral gelişimde değil, aynı zamanda yaşam süresi boyunca meydana gelen nöroplastisitede rolü olduğu ileri sürülmektedir (Moskiewicz ve ark. 2018). NRX ailesinin nikotin kullanım bozukluğu ile ilişkili iki üyesi bulunmaktadır; NRX 1 ve NRX 3 (Şengül ve ark. 2016). NRXN3 14. Kromozom üzerinde bulunur ve mevcut iki promoter, α ve β izoformlarının ekspresyonunu yürütür. Alternatif bağlantıların beş kanonik bölgesi ile birlikte 1000'den fazla izoformu oluşur. NRXN3, prefrontal korteksten striatuma ve GABAerjik nöronlara uzanan glutamaterjik nöronlar dâhil olmak üzere madde kullanım bozukluğunda rol oynayan kilit devrelerde eksprese edilir. Bu nedenle, NRXN3 madde kullanım bozukluğu duyarlılığı için güçlü bir adaydır (Docampo ve ark. 2012). NRXN3 son zamanlarda opioid gibi yasadışı madde, nikotin, alkol kullanım bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (Moskiewicz ve ark. 2018, Wolock ve ark. 2013). Hishimoto ve arkadaşları (2007) NRX3 izoformlarından rs 8019381, rs 760288 ile alkol kullanım bozukluğu, Stoltenberg ve arkadaşları (2011) rs11624704 ile dikkat-impulsivite, rs 1004212 ile alkol sorunları arasında ilişki saptamışlardır. Şengül ve arkadaşları (2016) da ülkemizde yapılan bir çalışmada rs760288 ile alkol kullanım bozukluğu arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Novak ve arkadaşları (2009) şizofreni hastalarında NRX 3 rs 1004212 polimorfizmi ile sigara içme davranışı arasında ilişki saptamışlardır. Stoltenberg ve arkadaşları (2011) şizofreni hastalarında NRX3 rs1004212 polimorfizmi ile ağır sigara içiciliği arasında ilişki olduğunu ileri sürmüştür. Docampo ve arkadaşları (2012) İspanyol toplumunda yürüttükleri çalışmalarında ise NRX3 rs221473 ve NRX3 rs221497 ile sigara içme davranışı arasında ilişki saptamışlar ve farklı topluluklarda daha geniş örneklem grupları ile çalışmanın tekrarlanması gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Farklı toplum ve hasta gruplarında yapılan çalışmalarda nikotin kullanım bozukluğu ile ilişkili bulunan NRX3 gen rs221473, rs221497, rs1004212, rs11624704 polimorfizmlerinin Türk toplumunda nikotin kullanım bozukluğu gelişimi veya tedavisindeki etkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada yukarıda tanımlanan NRX3 gen polimorfizmlerinin nikotin kullanım bozukluğu ile ilişkisini doğrulamak ve Türk toplumunda nikotin kullanım bozukluğu gelişimi ve tedavisinde genetik varyantların etkisinin olup olmadığını analiz etmek amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Çalışma grubuna 18-65 yaş arası, psikiyatrik bir birinci eksen bozukluğu, mental retardasyonu, geçirilmiş kafa travması veya herhangi bir nörolojik bozukluğu olmayan ve en az 1 yıldır günde en az 10 sigara içen çalışmaya katılmaya gönüllü kişiler; kontrol grubuna ise “hiç sigara içtiniz mi” sorusuna “hayır” cevabı veren ciddi kronik fiziksel bir hastalığı olmayan, daha önce geçirilmiş psikiyatrik bir bozukluğu ya da mental retardasyonu olmayan ve çalışma grubu ile kan bağı bulunmayan kişiler dâhil edildi. Şengül ve arkadaşlarının (2016) çalışması referans alınarak yapılan güç analizine göre örneklem hacminin en az 123 hasta ve 132 kontrol kişiden oluşturulması gerektiği hesaplandı. Çalışmanın ilerleyen döneminde anketlerde ya da DNA eldesi gibi bazı alanlarda olası veri kaybına karşı her bir grubun 200 kişiden oluşması kararlaştırıldı. Çalışma ve kontrol grubu hastanede çalışan ve onların çevrelerinde yaşayan çalışmaya katılmak isteyen gönüllülerden oluşturuldu. Gönüllüler DSM-IV Eksen I Bozuklukları için yapılandırılmış klinik görüşme (SCID-I) ile değerlendirilip “Nikotin Bağımlılığı” dışında birinci eksen tanısı olmayanlar çalışmaya alındı. Çalışmaya katılanlar çalışma hakkında bilgilendirildi ve çalışmaya katılmaya gönüllü olduklarına dair yazılı onam alındı. Daha sonra tüm katılımcılara demografik verileri sorgulamayı içeren anket formu, sigara kullananlara Fagerström nikotin bağımlılık ölçeği uygulandı. Anketlerin uygulanmasını takiben DNA eldesi için katılımcılardan 10 cc kadar venöz kan örneği, EDTA (etilendiamin tetra asetik asit) içeren tüplere alındı. Tüplerdeki 5-10 mikrolitre (ul) kan üzerine (Thermo Scientific Gene JET Genomic DNA Purification, ABD) kit prosedürüne uygun olarak DNA izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonu kit protokolüne göre: 20 µl proteinaz K 1.5 ml’lik eppendorf tüpünün dip kısmına konuldu ve tüpe 200 µl örnek (periferik kan) ve 200 µl extraction buffer konularak 15 sn vorteksledi. Örnekler 10 dakika 560 °C’de su banyosunda bekletildi. Kapaktaki damlaları uzaklaştırmak için kısa santrifüj edildi. Karışıma 200 µl binding buffer eklendi, 15 saniye vorteksledi. Kapaktaki damlaları uzaklaştırmak için kısa santrifüj edildi. Karışım QIAamp Mini spin kolona tüpün kenarlarına bulaştırılmadan aktarıldı ve 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpün altındaki sıvı döküldü. Spin kolona 500 µl Washbuffer I eklendi ve 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpün altındaki sıvı döküldü. Spin kolona 500 µl Washbuffer II eklendi ve 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpün altındaki sıvı döküldü, 14000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi. Spin kolon, temiz bir 1.5 ml’lik eppendorff tüpüne alındı ve filtratı içeren toplama tüpü atıldı. Spin kolona 200 µl Elutionbuffer eklenip oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilip 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Elde edilen DNA’lar -20 °C’de muhafaza edildi. Neurexin gen polimorfizmleri rs221473, rs 221497, rs1004212, rs11624704 PCR ile çoğaltıldı. Referans dizi: Homo sapiens NRXN3

geni bölgesi. PCR Amplifikasyon Karışımı 10 µl Master MixTaqProb 2x (Abmgood, Kanada), 1µl probe (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific , ABD), 5 µl d H2O ve 4 µl DNA örneği konularak toplam hacim 20 µl tamamlandı. PCR karışımı, Amplifikasyon Programı Otomatik ısı döngü cihazı (Step One Plus, Applied biosystems, Thermo Fisher Scientific, ABD) aşağıda belirtilen programa ayarlanarak PCR uygulandı. 95°C’de 10 dk 1 döngü, 95°C’de 3 s, 60°C’de 30 s, 40 döngü ve son olarak 25°C’de 30 s tutularak program sonunda PCR ürünleri amplifiye edilmiş oldu. PCR’da DNA amplifikasyonun tamamlanmasından sonra, sıcaklık çok yavaş bir şekilde yükseltilerek her bir örnek için erime eğrisi oluşturuldu. Sıcaklık yükseltilmesi sırasında normal dizi ile polimorfizm içeren dizinin ayırımı gerçekleştirilerek, gen polimorfizmleri belirlendi.

Çalışmanın sonunda tüm anket formları değerlendirildiğinde sigara kullanmayan grubundaki 5 kişinin geçmişte bir dönem sigara kullandığı sigara kullananlara yönelik sorulara cevap vermeleri ile fark edildi. Bunun üzerine Bu 5 kişinin verileri sigara kullananlar grubuna ilave edilerek istatistiksel analizler sigara kullanmayan grupta 195 sigara kullanan grupta 205 kişi üzerinden yapıldı. Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulu tarafından onaylandı ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Komisyonu tarafından desteklendi.

DSM-IV Eksen- I Bozuklukları için Yapılandırılmış Klinik Görüşme Ölçeği (SCID-I): DSM-IV’e göre birinci eksen de yer alan ruhsal bozuklukların tanısını araştırmak için First ve arkadaşları (1997) tarafından geliştirilmiştir. Türkçeye uyarlanması ve güvenilirlik çalışması yapılmıştır (Özkürkçügil ve ark. 1999).

Fagerström Nikotin Bağımlılık Testi (FNBT): Fagerström ve arkadaşları (1992) tarafından geliştirilen bir testtir. Türkçe geçerlilik ve güvenilirlik çalışması Uysal ve arkadaşları tarafından yapılmış olup Cronbach alfa katsayısı 0,56 olarak bildirilmiştir (Uysal ve ark. 2004).

İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada yaş ve eğitim sürelerinin karşılaştırılmasında t testi uygulandı ve ortalama ± standart sapma (ss) olarak gösterildi. Alel frekansları, genotip frekansları Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) kıkare testi ile analiz edildi, frekans ve yüzde şeklinde gösterildi. Genotip karşılaştırmaları için odds oranı ve anlamlı çıkan genotipler için lojistik regresyon analizi uygulandı ve OR (%95 Güven Aralığı) olarak gösterildi. İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) ve Medcalc 11.5.1 (OstendBelgium) programları kullanıldı. İstatistik anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Sigara kullanan gruptaki 205 kişinin 90'ı (%43,9) kadın, 115'i (%56,1) erkekti; 63'ü bekar (%30,7), 128'i evli/birlikte (%62,4) 14 kişi ayrı/duldu (%6,8); 7 (%3,4) kişi köy/kasabada yaşarken 198 kişi (%96,6) şehirde yaşıyordu; 51'i (%24,9) çalışmıyor, 133'ü (%64,9) düzenli işte çalışıyor, 5 kişi (%2,4) düzensiz çalışıyor, 16 kişi (%7,8) kişi emekliydi. Sigara kullanan grubun yaş ortalaması 37,31±6.05 olup ortalama 12,04±4,44 yıl eğitim süresine sahipti. Sigara kullanmayı ilk denedikleri yaş 17,13±3,92; düzenli kullanmaya başladıkları yaş 19,03±3,96 Fagestrom Nikotin bağımlılık ölçek ortalama puanları 4,67±2,81 idi.

Sigara kullanmayan gruptaki 195 kişinin 129'u (%66,2) kadın, 66'sı (%33,8) erkekti; 77'si bekar (%39,5), 109'u evli/birlikte (%55,9), 9 kişi (%4,6) ayrı/duldu; 3 (%1,5) kişi köy/kasabada yaşarken 192 kişi (%98,5) şehirde yaşıyordu; 48'i (%24,6) çalışmıyor, 143'ü (%73,3) düzenli işte çalışıyor, 2 (%1,0) kişi düzensiz çalışıyor, 2 (%1,0) kişi emekliydi. Sigara kullanmayan grubun yaş ortalaması 36,17±6,21 olup ortalama 12,57±4,20 yıl eğitim süresine sahipti.

İki grup karşılaştırıldığında yaş, eğitim, medeni durum, yaşadıkları yer açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlılık düzeyinde farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Sigara kullanmayan grupta kadın cinsiyet sigara kullanan gruba göre daha yüksekti ($\chi^2=19,97$, $p<0,001$). Ayrıca sigara kullanmayan grupta düzenli bir işte çalışma oranları daha yüksekken buna karşılık sigara kullanmayan grupta emekli oranı daha yüksekti ($\chi^2=12,39$, $p<0,01$). Grupların sosyodemografik verilerinin karşılaştırılması Tablo 1'de gösterilmektedir.

Neurexin 3 gen rs11624704 için, AA aleli taşıyan bireylerin bireylerin AC aleli taşıyan bireylere göre nikotin kullanım

Tablo 1. Grupların Sosyodemografik Verilerinin Karşılaştırılması

Değişkenler	Sigara+(n=205) n (%)	Sigara-(n=195) n (%)	χ^2	P
Cinsiyet				
Kadın	90 (43,90)	129 (66,15)	19,97	<0,001
Erkek	115 (56,10)	66 (33,85)		
Medeni Durum				
Bekar	63 (30,73)	77 (39,49)	3,76	0,150
Evli/Birlikte	128 (62,43)	109 (55,90)		
Boşanmış/Dul	14 (6,84)	9 (4,61)		
Yaşadığı Yer				
Köy/Kasaba	7 (3,41)	3 (1,53)	3,62	0,160
Şehir	198 (96,69)	192 (98,57)		
Çalışma Durumu				
Çalışmıyor	51(24,87)	48(24,61)	12,39	<0,001
Düzenli çalışıyor	133(64,87)	143(73,33)		
Düzensiz çalışıyor	5(2,43)	2(1,03)		
Emekli	16(7,80)	2(1,03)		
	ortalama ±ss	ortalama ±ss	t	P
Yaş	37,31 ± 6,05	36,17 ± 6,21	-1,31	0,190
Eğitim Süresi (yıl)	12,04 ± 4,44	12,57 ± 4,20	-1,22	0,220

Tablo 2. Sigara Kullanan ve Kullanmayan Kontrol Grubunun Genotiplerinin Odds Oranlarının Karşılaştırma Sonuçları

SNP	Genotipler	Odds Oranı (OR)	%95 CI	P
NRX3 rs11624704	AA/AC	0,43	0,28–0,67	<0,001
	AC/CC	7,42	2,80–19,68	<0,001
	AA/CC	3,19	1,25–8,14	0,015
NRX3 rs1004212	AA/AG	0,44	0,29–0,67	<0,001
	AG/GG	2,27	1,0-5,12	0,050
	AA/GG	1,01	0,45-2,23	0,989
NRX3 rs221497	CC/CT	2,47	0,75-8,17	0,137
	CT/TT	0,98	0,66-1,46	0,925
	CC/TT	2,43	0,74-7,99	0,145
NRX3 rs221473	AA/AT	0,69	0,46-1,05	0,008
	AT/TT	4,08	0,79-20,72	0,093
	AA/TT	2,81	0,56-14,18	0,211

bozukluğuna sahip olma olasılığı 2,33 kat azdır (OR=0,43 95%CI 0,275, 0,672 $p=0,0002$). AC aleli taşıyan bireylerin CC taşıyan bireylere göre nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı 7,42 kat fazladır (OR=7,42 95%CI 2,80, 19,68 $p=0,0001$). AA aleli taşıyan bireylerin CC taşıyan bireylere göre nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı 3,19 kat fazladır (OR=3,19 95%CI 1,25, 8,14 $p=0,0152$). Buna göre; AC aleli taşıyan bireylerin nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı neurexin 3 rs1004212 için, AA aleli taşıyan bireylerin AG aleli taşıyan bireylere göre nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı 2,28 kat azdır. AG aleli taşıyan bireylerin GG taşıyan bireylere göre nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı 2,27 kat fazladır. AA aleli taşıyan bireylerin GG taşıyan bireylere göre nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı birbirinden farklılık göstermemektedir. Buna göre; AG aleli taşıyan bireylerin nikotin kullanım bozukluğuna sahip olma olasılığı yüksektir. Neurexin 3 rs221497 genotipleri ve ($P=0,667$) Neurexin 3 rs221473 genotipleri ile sigara kullanma durumları arasında ilişki yoktur ($p>0,05$). RX3 rs11624704 genotipleri ve NRX3 rs1004212 genotipleri Hardy-Weinberg eşitliği dağılımına uygundur ($P=0,14$, $P=0,31$). NRX3 rs11624704 için posterior güç analizi sonucu %99,61; NRX3 rs 1004212 için posterior güç analizi sonucu %95,19 olarak hesaplanmıştır. Sigara kullanan ve kullanmayan kontrol grubunun genotiplerinin odds oranlarının karşılaştırma sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Gruplar arasında anlamlı farklılık gösteren cinsiyet ve çalışma durumu değişkeni ile rs11624704 ve rs1004212 için lojistik regreyon analizi uygulandığında; erkeklerde hastalığın görülme olasılığı kadınlara göre hastalığın görülme olasılığından 2,49 kat fazladır ($p<0,001$). Çalışma durumu için ise bir olasılık artışı saptanmadı.

Tablo 3. Gruplar Arasında Farklılık Saptanan Değişkenlerin Logistik Regresyon Analizi Sonuçları

Resesif Model	n	OR(%95CI)	P değeri
AA+CC	272	1 (referans)	P<0,001
AC	128	2,50 (1,61- 3.88)	
AA+GG	234	1 (referans)	P<0,01
AG	166	2,21(1,47- 3.32)	
Kadın	219	1 (referans)	P <0,001
Erkek	181	2,49(1.67- 3.74)	

Tablo 4. Genotiplere Göre Sigara Kullanma Durumları Arasındaki Karşılaştırma Sonuçları

Gruplar	NRX3 rs1162470 Genotipleri						χ^2 ; P
	AA		AC		CC		
	n	%	n	%	n	%	
Sigara+(n=205)	114	55,6	85	41,5	6	2,9	24,64; <0,001
Sigara-(n=195)	131	67,2	42	21,5	22	11,3	
Gruplar	NRX3 rs1004212 Genotipleri						χ^2 ; P
	AA		AG		GG		
	n	%	n	%	n	%	
Sigara+(n=205)	89	43,4	104	50,7	12	5,9	15,60; <0,001
Sigara-(n=195)	118	60,5	61	31,3	16	8,2	
Gruplar	NRX3 rs221497 Genotipleri						χ^2 ; P
	CC		CT		TT		
	n	%	n	%	n	%	
Sigara+(n=205)	10	4,9	93	45,4	102	49,8	2,37; 0,667
Sigara -(n=195)	4	28,6	92	47,2	99	50,8	
Gruplar	NRX3 rs221473 Genotipleri						χ^2 ; P
	AA		AT		TT		
	n	%	n	%	n	%	
Sigara+(n=205)	118	57,6	85	41,5	2	1,0	5,28; 0,259
Sigara-(n=195)	126	64,6	63	32,3	6	3,1	

Tablo 5. Tablo 5. NRX3 için Çalışılan Tek Gen Polimorfizmlerinin Alel Frekansları.

SNP-Alel	Sigara+(n=205) n(%)	Sigara-(n=195) n(%)	OR(%95 CI)	P Değerleri
rs11624704				
A	313(76,34)	304(77,94)	1,079(0,776-1,501)	0,650
C	97(23,66)	86(22,06)		
rs1004212				
A	282(68,78)	297(76,15)	1,066(0,793-1,434)	0,672
G	128(31,22)	93(23,85)		
rs221497				
C	113(27,56)	100(25,64)	1,186(0,868-1,620)	0,284
T	297(72,44)	290(74,36)		
rs221473				
A	321(78,29)	315(80,77)	1,165(0,825-1,643)	0,386
T	89(21,71)	75(19,23)		

NRX3 rs1162470 genotiplerinde; AC olanlarda hastalığın görülme olasılığı AA+CC olanlara göre hastalığın görülme olasılığından 2,50 kat fazladır (P<0,001). NRX3 rs1004212 genotiplerinde; AG olanlarda hastalığın görülme olasılığı AA+GG olanlara göre hastalığın görülme olasılığından 2,21 kat fazladır (p<0,001). Gruplar arasında farklılık saptanan değişkenlerin logistik regresyon analizi sonuçları Tablo 3'de gösterilmektedir. Ayrıca genotiplere göre sigara kullanma durumları arasındaki karşılaştırma sonuçları Tablo 4'de, NRX3 için çalışılan tek nükleotid polimorfizmlerin alel frekansları Tablo 5'de gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonuçlarına göre Neurexin 3 geni (NRXN3) rs11624704 için AC, rs1004212 için AG aleli taşıyan bireylerin diğer bireylere göre daha fazla sigara kullanım bozukluğu tanısına sahip olduğu saptanmıştır. Stoltenberg ve arkadaşları (2011) NRXN3 rs11624704 polimorfizmi ile erkeklerde dürtüsellik arasında orta düzeyde ilişki saptarken kadınlarda aynı ilişkiyi saptamamıştır. NRXN3 rs1004212 T aleline sahip erkeklerde C/C aleli olanlara göre alkol kullanım bozukluğu riski 2.54 kez artarken kadınlarda NRXN3 rs1004212 T aleline sahip kişilerde madde kullanım bozukluğu riskinin azaldığını bildirdi. NRXN3'ün impulsivite ve madde kullanım bozukluğu için önemli bir risk etkeni olduğunu bildiren yazarlar, madde kullanım bozukluğunda cinsiyete bağlı bir ilişki olabileceğini ileri sürmüş vedeliller çoğaldıkça NRXN3 ile kullanım bozukluğuna yatkınlık ilişkisinin daha net olarak tanımlanacağını bildirmişlerdir (Stoltenberg ve ark. 2011). Novak ve arkadaşları (2009) şizofreni hastaları ile yaptıkları çalışmada NRXN3 rs1004212 C/C genotipine sahip kişilerin C/T genotipine sahip kişilerden daha fazla miktarda sigara kullandıklarını bildirmişlerdir. Ancak her iki çalışmada da NRXN3 rs1004212 polimorfizmi sigara kullanımı için bir risk etkeni olarak tanımlanmamıştır. Ayrıca NRX3 rs760288

polimorfizmi (Şengül ve ark. 2016) vers 8019381 polimorfizminin (Hishimoto ve ark. 2007) alkol kullanım bozukluğu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Biz çalışmamızda nikotin kullanım bozukluğu olan kişilerde NRXN3 gen polimorfizm araştırmakla birlikte dürtüsellğe yönelik bir değerlendirme yapmadık. Bu nedenle çalışmamız NRXN3 rs11624704 ve rs 1004212 polimorfizmi ve nikotin kullanım bozukluğu ilişkisini desteklemekle birlikte bu ilişkide cinsiyet değişkenine yönelik bilgi sunmamaktadır. Ayrıca çalışmamızda sigara kullanım bozukluğu olan grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde erkek cinsiyeti fazlaydı. Türkiye İstatistik Kurumunun 2019 verilerine göre de erkeklerin %41,3'ü kadınların %14,9'u sigara kullanmaktadır. Aynı zamanda lojistik regresyon analizi sonuçlarına göre erkek cinsiyette sigara kullanım bozukluğu olasılığı kadınlara göre 2.49 kat fazla saptanmıştır. Çalışmamızda gruplar arasında farklılık gösteren çalışma durumu farklılığı ise logistik regresyon analizi sonucunda nikotin kullanım bozukluğu gelişimi için olasılık artışına neden olmamıştır.

Stoltenberg ve arkadaşlarının (2011) çalışmasında örneklem grubu farklı madde kullanan kişilerden oluşurken biz çalışmamızda sadece nikotin kullanım bozukluğuna odaklandık. Novak ve arkadaşlarının (2009) örneklem grubu ise şizofreni hastalarından oluşmaktaydı. Bizim çalışmamızda karıştırıcı olmaması için nikotin kullanım bozukluğu dışında hiçbir birinci eksen bozukluğu olmayan kişileri çalışmaya dahil ettik. Dolayısı ile çalışmamız sadece NRXN3 gen polimorfizm ile nikotin kullanım bozukluğu ilişkisine odaklanmıştır.

Docampo ve arkadaşları (2012) İspanyol toplumunda yürüttükleri çalışmalarında ise NRX3 rs221473 ve NRX3 rs 221497 ile sigara içme davranışı arasında daha düşük risk ile ilişki saptamışlar ve farklı toplumlarda daha geniş örneklem grupları ile çalışmanın tekrarlanması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda Neurexin 3 geninin (NRXN3) iki tek nükleotid polimorfizm bölgesi (rs 221497 ve rs 221473) ile nikotin kullanım bozukluğu arasında bir ilişki bulunmadı.

Yakınlarda ülkemizde nikotin bağımlılığı ve tek nükleotid polimorfizm ilişkisini araştıran 3 çalışma bulunmuştur. Yükseloğlu ve arkadaşlarının (2019) çalışmasında Anadolu nüfusunda nikotin bağımlılığı riskini etkileyen 10 aday gen tek nükleotid polimorfizm (SNP) için bukkal sürüntü örnekleri incelenmiştir. Çalışmada seçilen 10 lokus ve nikotin bağımlılığı arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ilişki saptanmamıştır. Yazarlar beş tek nükleotid polimorfizm lokusunda (rs16969968, rs806380, rs3733829, rs6474412, rs1329650) varyasyonlar saptadıklarını, daha büyük örneklem grubunda bu varyasyonların araştırılması gerektiğini bildirmişlerdir. Müderrisoğlu'nun (2019) çalışmasında CHRNA4 rs1044396 AA genotipi (p=0,02), CHRNA5 rs16969968 A aleli (p=0,003), MDR1 rs1128503 T aleli (p=0,01) ve MDR1 rs2032582 T/A aleli (p=0,018), MDR1 TT-TT-TT haplotipi (p=0,047) nikotin bağımlılığının orta ve hafif olması ile ilişkili

bulundu. CHRNA3 rs578776 T aleli bupropion+NRT tedavisinde bırakma oranının azalması ile, nNOSekzon 29 TT genotipi bupropion tedavisinde sigara bırakma oranının yüksek olması ile ilişkili bulundu. Yazarlar CHRNA3 rs578776, CHRNA4 rs1044396, CHRNA5 rs16969968, MDR1 rs1128503, MDR1 rs2032582, nNOSekzon 29 polimorfizmlerinin sigara bağımlılığı tedavisinin farmakogenomik optimizasyonunda yeni biyobelirteçler olarak katkı sağlayabileceğini ileri sürmüştür. Uysal ve arkadaşları (2019) sigara kullanan ve kullanmayan gruplar arasında DRD4 gen genotip ve alel dağılımı açısından anlamlı fark saptamıştır. Kırk sekiz baz çiftlik tekrar aleleri altı tekrar veya daha kısa (K) ve 7 tekrar veya daha uzun (U) olarak kabul edildiğinde, DRD4 VNTR ekzon 3 K/U genotipi taşıyan kişiler sigara içme açısından sigara içmeyenlere göre 2,25 kat yüksek riske sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yazında ülkemizde yapılan az sayıdaki çalışmanın farklı genler üzerine olduğu görülmektedir.

Nikotin kullanım bozukluğunun etiolojisinde biyolojik, psikolojik, sosyal pek çok etken rol oynamakla birlikte biz bu çalışmada genetik yatkınlık konusunda NRXN3 tek gen polimorfizmlerine odaklandık. Sonuçlarımız Neurexin 3 geni rs11624704 ve rs1004212 tek gen polimorfizmleri ile nikotin kullanım bozukluğu geliştirme olasılığının artışına işaret etmekte ve bu sonuçlarımızın gücü de oldukça yüksektir. Çalışmamız Türk örneklem grubunda NRXN3 ve nikotin bağımlılığı araştıran ilk çalışma olup daha önce çeşitli çalışmalarda bağımlılık davranışları ile ilişkisi saptanmış gen bölgeleri üzerinde yürütülmüştür. Ülkemiz dışında da pek çok aday gen çalışması yapılmaktadır. Bağımlılıkta kalıtsallığın güçlü bir şekilde gösterilmesine rağmen aday gen lokusları için bağlantı ve ilişki çalışmalarının replike edilmemesi bağımlılık genetiğinin heterojenitesinden kaynaklanmaktadır (Moskiewicz ve ark. 2018). Bu nedenle ülkemizde yapılan çalışmalardan elde edilen bulguların toplanarak daha geniş örneklem grubunda birlikte araştırılmasının Türkiyede nikotin kullanım bozukluğunda genetik yatkınlığın anlaşılmasında faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Akgün GA, Tufan AE, Yurteri N ve ark. (2011) Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunun genetik boyutu. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar* 3:15-48.
- Bierut LJ (2011) Genetic vulnerability and susceptibility to substance dependence. *Neuron* 69:618-27.
- Docampo E, Ribasés M, Gratacòs M ve ark. (2012) Association of neurexin 3 polymorphisms with smoking behavior. *Genes Brain Behav* 6:704-11.
- Fagerstrom KO, Heatherton TF, Kozlowski LT (1992) Nicotine addiction and its assessment. *Ear Nose Throat J* 69:763-7.
- Fang Z, Yang Y, Hu Y ve ark. (2017) GRONS: a comprehensive genetic resource of nicotine and smoking Database, Vol. 2017, Article ID bax097. 09.04.2021 tarihinde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5750854/pdf/bax097.pdf> adresinden indirildi.
- First MB, Spitzer RL, Gibbon M ve ark. (1997) Structured Clinical Interview for DSM-IV Clinical Version (SCID-I/CV). Washington DC: American Psychiatric Press.

- Hishimoto A, Liu QR, Drgon T ve ark. (2007) Neurexin 3 polymorphisms are associated with alcohol dependence and altered expression of specific isoforms. *Hum Mol Genet* 23:2880-91.
- Jha P (2009) Avoidable global cancer deaths and total deaths from smoking. *Nat Rev Cancer* 9:655-64.
- Jha P and Peto R (2014) Global effects of smoking, of quitting, and of taxing tobacco. *N Engl J Med* 370:60-8.
- Li MD, Cheng R, Ma J Z ve ark. (2003) A meta-analysis of estimated genetic and environmental effects on smoking behavior in male and female adult twins. *Addiction* 98:23-31.
- Muskiewicz DE, Uhl GR, Hall FS (2018) The Role of Cell Adhesion Molecule Genes Regulating Neuroplasticity in Addiction. *Neural Plasticity Article ID 9803764*, 17 pages 09.04.2021 tarihinde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5838467/> adresinden indirildi.
- Müderrişoğlu A (2019) Sigara bağımlılığında nikotinic kolinergic reseptörler ve CYP2A6, CYP2B6, ilaç taşıyıcı proteini MDR1, nöronal nitric oksit sentaz genetik polimorfizmlerinin etkileri. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Doktora tezi.
- Novak G, Boukhadra J, Shaikh SA ve ark. (2009) Association of a polymorphism in the NRXN3 gene with the degree of smoking in schizophrenia: A preliminary study. *The World Journal of Biological Psychiatry* 4:929-35.
- Özkürküđil A, Aydemir Ö, Yıldız M (1999) DSM-IV Eksen I bozuklukları için yapılandırılmış klinik görüşmenin Türkçe'ye uyarlanması ve güvenilirlik alışması. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 12:233-6.
- Pérez-Rubio G, Córdoba-Lanús E (2019) Role of Genetic Susceptibility in Nicotine Addiction and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Rev Invest Clin* 71:36-54.
- Stoltenberg SF, Lehmann MK, Christ CC ve ark. (2011) Associations among types of impulsivity, substance use problems and Neurexin-3 polymorphisms. *Drug Alcohol Depend* 119:31-8.
- Sullivan PF, Kendler KS (1999) The genetic epidemiology of smoking. *Nicotine Tob Res* 1:51-7.
- řengul C, Erdal ME, Sengul BC ve ark. (2016) Association of the Neuropeptide Y LEU7PRO rs16139 and NEUREXIN 3 rs760288 polymorphisms with alcohol dependence. *Klinik Psikofarmakoloji Bulteni* 26:15-20.
- Türkiye İstatistik Kurumu (2019) 09.04.2021 tarihinde <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Türkiye-Saglik-Arastirmasi-2019-33661> adresinden indirilmiştir.
- Uluğ B, Öztürk O (2015) Psikoaktif madde kullanımına bağlı ruhsal bozukluklar. *Ruh sağlığı ve bozuklukları*, 13. Baskı, Öztürk O ve Uluřahin A (ed), Ankara, Nobel Kitapevi, s. 511-54.
- Uysal MA, Kadakal F, Karřıdađ  ve ark. (2004) Fagerstrom test for nicotine dependence: Reliability in a Turkish sample and factor analysis. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 52:115-21.
- Uysal MA, Sever Ü, Nursal AF (2019) Dopamine D4 Receptor Gene Exon III VNTR Variant Influences Smoking Status in Turkish Population. *Noro Psikiyatı Ars* 56: 248-52.
- Wolock SL, Yates A, Petrill SA ve ark. (2013) Gene X smoking interactions on human brain gene expression: finding common mechanisms in adolescents and adults. *J Child Psychol Psychiatry* 54:1109-19.
- Yükseloğlu EH, Ortug A, Rayimođlu G (2019) Association of 10 single nucleotide polymorphism loci with nicotine addiction in the Anatolian population? *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 33:1011-7.