

Türkiye’de Alkol Bağımlılığında μ -Opioid Reseptör Geni (*OPRM1*) A118G ve C17T Polimorfizmleri



Şeref Can GÜREL¹, Yavuz AYHAN², Çağatay KARAASLAN³,
Hayriye AKEL⁴, Ragıp Özgür KARACA⁵, Melih Önder BABAOĞLU⁶,
Ümit YAŞAR⁷, Atilla BOZKURT⁸, Nesrin DİLBAZ⁹,
Berna Diclener ULUĞ¹⁰, Başaran DEMİR¹¹

ÖZET

Amaç: Opiyaterjik sistem genetiği üzerine yürütülen çalışmalarda, μ -opioid reseptörlerini ifade eden *OPRM1* geni polimorfizmleri ve alkol bağımlılığının (AB) çeşitli özellikleri ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, Türkiye kökenli bir örneklemde, *OPRM1* A118G (rs1799971) ve C17T (rs1799972) tek nükleotid polimorfizmlerinin, AB tanısı, alkol kullanım şiddeti, kullanılan alkol miktarı, ailede AB öyküsü varlığı gibi özellikler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmaya AB tanısı konulan 121 hasta ve 117 sağlıklı erkek birey dâhil edilmiştir. *OPRM1* A118G (Asn40Asp) ve C17T (Arg6Val) polimorfizmleri PCR-RFLP (polimeraz zincir reaksiyonu – restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Tek nükleotid polimorfizmleri ile AB tanısı, AB aile öyküsü, Michigan Alkolizm Tarama Testi (MATT) kullanılarak değerlendirilen AB şiddeti, günlük tüketilen ortalama ve maksimum alkol miktarı arasındaki ilişki incelenmiştir.

Bulgular: AB ve kontrol grupları arasında *OPRM1* A118G genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. *OPRM1* C17T polimorfizminde T alel sıklığı tüm örneklem değerlendirildiğinde, çok düşük düzeyde (0,006) saptanmıştır. MATT ile değerlendirilen alkol bağımlılığı şiddeti ve G118 aleli varlığı arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir.

Sonuç: Türkiye kökenli bir örneklem üzerinde opiyaterjik sistem genetiği üzerine yürütülen bu çalışmada, *OPRM1* G118 alel varlığı daha şiddetli AB ile anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur. *OPRM1* C17T polimorfizmi T17 alel sıklığı diğer Avrupa toplumlarına benzer şekilde çok düşük düzeyde saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Alkolizm, *OPRM1*, Tek Nükleotid Polimorfizmleri, Genetik

SUMMARY

μ -Opioid Receptor Gene (*OPRM1*) Polymorphisms A118G and C17T in Alcohol Dependence: A Turkish Sample

Objectives: Previous investigations on opioid system genetics have identified polymorphisms of the *OPRM1* gene expressing μ -opioid receptors to be significantly associated with some features of alcohol dependence (AD). In the present study, we evaluated the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNP) in the *OPRM1* gene, A118G (rs1799971, Asn40Asp) and C17T (rs1799972, Arg6Val), and AD diagnosis, level of alcohol consumption, and AD severity in a Turkish sample.

Methods: 121 AD patients and 117 healthy male subjects were included in the study. *OPRM1* A118G (N40D) and C17T (A6V) polymorphisms were evaluated using PCR - RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism) method. We evaluated the association between the presence of SNPs and AD diagnosis, family history of AD, AD severity evaluated via the Michigan Alcoholism Screening Test (MAST), the daily average and maximum quantity of alcohol consumed.

Results: There was no significant difference in *OPRM1* A118G genotype frequencies between the AD and control groups. T allele frequency for the *OPRM1* C17T SNP was very low (0.006) in the sample population. *OPRM1* A118G SNP G118 allele carriers showed significantly higher levels of AD severity as indicated by the MAST.

Conclusion: The *OPRM1* G118 allele was significantly associated with more severe AD in the Turkish population. Similar to other European populations, the frequency of the *OPRM1* T17 allele was very low.

Keywords: Alcoholism, *OPRM1*, Single Nucleotide Polymorphisms, Genetics

Geliş Tarihi: 11.11.2014 - **Kabul Tarihi:** 20.10.2015

¹Uzm., ²Doç., ¹⁰Prof., ¹¹Prof., Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD., Hacettepe Üniv. Tıp Fak., Ankara. ³Doç., ⁴Doktora Öğr., Biyoloji Bl., Moleküler Biyoloji AD., Hacettepe Üniv. Fen Fak., ⁵Uzm., ⁶Prof., Farmakoloji AD., Hacettepe Üniv. Tıp Fak., Ankara. ⁸Prof., BAU International University, Tıp Fak., Batum, Gürcistan. ⁹Prof., Psikoloji Bl., Üsküdar Üniv. İnsan ve Toplum Bilimleri Fak., İstanbul.

Dr. Şeref Can Gürel, e-posta: scgurel@hacettepe.edu.tr

doi: 10.5080/u12336

GİRİŞ

Alkol bağımlılığının (AB) gelişiminde çevresel etkiler kadar genetik etmenlerin de etkili olduğu düşünülmektedir (Thome ve ark. 2000). İkiz ve evlat edinme çalışmalarından elde edilen verilere göre AB'nin kalıtılabilirliği %50-60 gibi yüksek bir düzeydedir (Kendler ve ark. 1997, Prescott ve Kendler 1999). Ara fenotiplerden yararlanarak, AB gelişiminin genetik yönlerini inceleyen çalışmalarda, bozukluğun kalıtsal kökenlerinin aydınlatılmasında ilerleme kaydedilmiştir (Ducci ve Goldman 2008, Hines ve ark. 2005, Ray ve ark. 2010a).

AB'nin kalıtsal özellikleri açısından opiyaterjik sisteme ait genlerin incelenmesi önem taşımaktadır. Opioid reseptörleri beyinde, ödül sistemi açısından önemli olan amigdala, ventral tegmental alan ve nükleus akumbens gibi yapılarda yaygın olarak ifade edilmektedirler (Minami ve Satoh 1995). Opiyatların etkilerini inceleyen farmakolojik çalışmalarda μ -opioid reseptörlerinin (MOR) morfinin ödüllendirici ve bağımlılık yapıcı etkilerinden sorumlu olduğu saptanmıştır (Kieffer ve Gaveriaux-Ruff 2002). Sonraki çalışmalarda, opioid reseptörlerinin bu etkilerinin sadece morfin veya türevlerine özgü olmadığı, alkol ve diğer bağımlılık yapıcı maddelerin etkilerinde de bu reseptörlerin rol oynadıkları gösterilmiştir (Shippenberg ve ark. 2008). Alkolün özellikle olumlu pekiştirici etkilerinin en azından bir bölümünün opiyaterjik sistem ile sağlandığı, hayvan modellerinde MOR etkinliği engellendiğinde istemli alkol alımının azaldığı gösterilmiştir (Gilpin ve Koob 2008, Robert ve ark. 2000). Alkolün pekiştirici etkilerinde, ventral tegmental alan ve nükleus akumbens, endojen ligand olan β -endorfin artışı ve MOR aktifleşmesi sonucunda mezolimbik yolakta dopamin artışının önemli rolü olduğu düşünülmektedir (Gianoulakis 2009, Koob ve Kreek 2007). Uzun süreli kullanımdan sonra alkol alımının kesilmesiyle birlikte ortaya çıkan göreceli endojen opiyaterjik aktivite azalması da olumsuz pekiştirici etki göstererek, bağımlılığın sürmesine katkı sağlamaktadır (Oswald ve Wand 2004).

Opiyaterjik sistem içerisinde yer alan peptit ve reseptörlerin polimorfizmlerini bağımlılık ile ilişkili bozukluklarda inceleyen çalışmalar arasında, özellikle *OPRM1* geninde yer alan, 118. pozisyonda adenin-guanin değişikliğine sebep olan (A118G, Asn40Asp, N40D, rs1799971) tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ile ilgili çalışmalar ön plana çıkmaktadır. Bu polimorfizmin görülme sıklığı farklı etnik gruplarda yürütülen çalışmalarda %10-50 arasında saptanmıştır (Mura ve ark. 2013). Reseptörün hücre dışı bölümünde, N terminalinde asparajin yerine aspartik asit gelmesi ile birlikte asparajin bağlantılı glikolizasyon bölgelerinin ortadan kalkmasına neden olan missens (yanlış anlamalı ya da sinonim olmayan) bir polimorfizmdir (Singh ve ark. 1997). Aspartik asit taşıyan Asp40 (G118) *OPRM1* β -endorfin'e Asn40 (A118) izotipine göre 3 kat daha fazla afinite göstermektedir (Bond ve ark. 1998). Ayrıca, *OPRM1* Asn40 (A118) mRNA ile reseptör sentezinin,

Asp40 (G118)'e göre 10 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark. 2005).

Bazı araştırmalar, A118G SNP'nin AB gelişimi riski ile ilişkili olduğunu (Bart ve ark. 2005, Kim ve ark. 2004b, Miranda ve ark. 2010, Nishizawa ve ark. 2006, Rommelspacher ve ark. 2001) göstermiş olsa da diğer bazı araştırmalarda bu polimorfizm ile AB arasında bir ilişki gösterilmemiştir (Bergen ve ark. 1997, Gscheidel ve ark. 2000, Kim ve ark. 2004a, Loh ve ark. 2004, Sander ve ark. 1998). G118 alelinin AB gelişimine karşı koruyucu olduğunu saptayan çalışmalar da mevcuttur (Du ve Wan 2009, Town ve ark. 1999). Yakın zamanda büyük bir örneklem üzerinde yürütülen bir çalışmada *OPRM1* A118G polimorfizmi ile AB tanısı arasında anlamlı bir ilişki gösterilmemiştir (Rouvinen-Lagerstrom ve ark. 2013). Alkolle ilişkili uyarılma, sedasyon ve olumlu duygudurumun G118 alelini taşıyan bireylerde daha yüksek oranda olduğu ve bu bireylerde, doğal aleli taşıyan bireylerle karşılaştırıldığında AB aile öyküsünün 3 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Ray ve Hutchison 2004, Ray ve ark. 2010b). G118 aleli ile homolog aleli taşıyan primatlarda alkole bağlı uyarılmada artış, daha yüksek miktarda alkol tüketimi ve taşıyıcı solüsyona göre artmış alkol tercihi gözlenmiştir (Barr ve ark. 2007). G118 aleli taşıyan bireylerin strese daha düşük düzeyli bir kortizol yanıtı verdikleri, daha yüksek miktarda alkol tükettikleri ve de stres ile birlikte daha fazla alkol alma isteklerinin olduğu saptanmıştır (Pratt ve Davidson 2009). Ayrıca yoğun alkol tüketimi olan bireyleri içeren bir örneklemde yürütülen bir çalışmada, G118 aleli taşıyan kişiler, alkol ile ilgili uyarılara daha fazla yönelme gösterirken, genel anlamda olumlu veya olumsuz uyarılarla ilgili tepkilerinde azalma gözlenmiştir (Wiers ve ark. 2009). G118 aleli bulunan kişilerde, fonksiyonel manyetik rezonans görüntülemeye, alkol ve alkol ile ilişkili uyarılara artmış orbitofrontal korteks, ventromediyal prefrontal korteks ve striatum aktivitesinin eşlik ettiği gösterilmiştir (Filbey ve ark. 2008). Pozitron emisyon tomografisi ile yürütülen bir çalışmada, G118 alel taşıyıcılarında, plaseboya göre etanol ile daha güçlü bir striatal dopamin yanıtı saptanmıştır (Ramchandani ve ark. 2011). Tüm bu araştırmalardan elde edilen veriler, bu polimorfizm ve alkolün ödül etkisi arasındaki olası ilişkiyi desteklemektedir.

OPRM1 geninin 1. ekzonunda yer alan, A118G polimorfizmi gibi reseptörün hücre dışı N terminalinde yer alan, alanin-valin değişimine neden olan C17T (Ala6Val, rs1799972) tek nükleotid polimorfizmi, daha çok diğer maddelere bağımlılıkla ilgili olarak çalışılmış ve çeşitli popülasyonlarda değişken sıklıkta saptanmıştır (Knapman ve Connor 2015). 17T aleli, Hindistan kökenli (Kapur ve ark. 2007) ve Afrikalı-Amerikalı gruplarda (Crowley ve ark. 2003) %15-20 sıklığında, Almanya kökenli (Rommelspacher ve ark. 2001) ve Doğu Asya kökenli gruplarda (Tan ve ark. 2003) %1 sıklığında saptanmıştır. TT genotipi kokain veya opiyat bağımlılığı ile ilişkilendirilmiştir (Hoehe ve ark. 2000, Kapur ve ark. 2007). T17 aleli taşıma

sıklığı AB tanısı ile ilişkili bulunmuştur (Rommelspacher ve ark. 2001). Bir başka çalışmada, Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda, TT genotipinin miktar, sıklık ve süre bir arada değerlendirildiğinde, alkol ve madde kullanımının anlamlı ölçüde yüksek olmasıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (Crystal ve ark. 2012).

Ödül yollarındaki rolü belirgin olan μ -opioid reseptörlerine ait polimorfizmlerin sıklık ve fenotipler açısından araştırılması, alkol bağımlılığının kalıtsal yönlerinin aydınlatılması açısından önemlidir. Bu amaçla, AB tanısı, alkol kullanım şiddeti, ailede AB öyküsü varlığı gibi parametreler ve üzerinde 300'e yakın SNP tanımlanmış olan *OPRM1* geninin, daha önce klinik açıdan önemleri gösterilmiş A118G ve C17T tek nükleotid polimorfizmleri seçilerek (Sherry ve ark. 2001), Türkiye kökenli bir örnekleme ilk kez araştırılmıştır.

YÖNTEM

Katılımcı özellikleri ve veri toplanması

Araştırmaya, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (HÜTF) Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Ankara Alkol Madde Bağımlılığı Tedavi ve Eğitim Merkezi'ne (AMATEM) alkol bağımlılığı tedavisi için ardışık olarak başvuran 124 erkek hasta (HÜTF'ne başvuran n=27; AMATEM'e başvuran n=97) ve psikiyatrik bozukluğu olmayan 118 sağlıklı erkek kontrol birey dahil edilmiştir. Araştırmaya katılım öncesinde aydınlatılmış onam alınmıştır. Araştırmaya dahil edilen katılımcıların etnik özelliklerini belirleyebilmek için katılımcıların anadilleri ve ebeveyn anadilleri sorulmuş, anadili Türkçe olanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Anadili Türkçe olmadığı için çalışma dışı bırakılan katılımcı olmamıştır. Her iki grup için de okuma-yazma bilmemek, bilişsel işlevleri etkileyebilecek ek bir bozukluğun varlığı dışlama ölçütü olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu sözel duyuru ile HÜTF'de çalışan sağlık personelinin oluşturulmuştur. Kontrol grubuna alınması planlanan katılımcılardan, Michigan Alkolizm Tarama Testi (MATT) puanı ≥ 5 olan bireyler (n=12) araştırma dışı bırakılmıştır. Hasta grubu ile, alkolden arındırma amaçlı olarak hastaneye yatışlarının 1. haftasından sonra, çekilme belirtilerinin yatışmasının ardından görüşülmüştür. Araştırma Hacettepe Üniversitesi Klinik ve İlaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun onayı (FON 09/18) ile yürütülmüş, araştırmaya katılmadan önce tüm katılımcılardan aydınlatılmış onam alınmıştır.

Katılımcıların değerlendirilmesi

Katılımcıların DSM-IV'e göre alkol ve madde bağımlılığı tanıları, DSM-IV Eksen I Bozuklukları için Yapılandırılmış Klinik Görüşme (SCID-I) ile değerlendirilmiştir. SCID-I, DSM-IV'e göre birinci eksen de yer alan psikiyatrik bozuklukların tanısını belirlemek amacıyla geliştirilmiş, Türkçe'ye

uyarlanmış, yapılandırılmış bir klinik görüşmedir (First ve ark. 1996, Özkürkçügil ve ark. 1999). Araştırmada, SCID-I klinik versiyonun duygudurum bozuklukları, psikotik belirtiler ve ilişkili bozuklukları değerlendiren B, C, D modülleri ile, alkol ve diğer madde kullanımı ile ilişkili tanıları değerlendiren E modülü kullanılmıştır. Yaşam boyu şizofreni spektrum bozuklukları, bipolar duygudurum bozukluğu, alkol dışı madde bağımlılığı veya madde kötüye kullanımı tanısı olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Alkol dışı madde bağımlılığı veya kötüye kullanımı tanı ölçütlerini karşılayamayan ancak madde kullanım öyküsü bulunan hastalar çalışma örnekleme dahil edilmiştir.

AB şiddetinin belirlenmesi ve kontrol grubunda alkol kullanımı bozukluğu açısından risk altında olan bireylerin dışlanabilmesi için MATT'nin Türkçe'ye uyarlanmış formu kullanılmıştır (Selzer 1971, Coşkunol ve ark. 1995). MATT, 25 adet sorudan oluşan bir öz değerlendirme ölçeğidir. Sorular evet-hayır şeklinde işaretlenirler. Her ne kadar bir tarama testi olarak tasarlanmış olsa da, daha yüksek puanlar daha şiddetli bağımlılık ile ilişkilendirilmiştir (Ögel ve ark. 2012).

Çalışmada sorunlu alkol kullanımının başladığı yaşı belirlemek için alkol kullanımı ile ilgili en az iki sosyal komplikasyonun varlığı (iş-aile-sosyal alanda alkol ile ilişkili sorun yaşamama, iş ya da okuldan alkol nedeniyle uzak kalma, alkol etkisi altındayken şiddet/tutuklanma) ölçütü olarak kabul edilmiştir. Alkol bağımlılığını başlangıç yaşına göre sınıflandıran araştırmalar incelendiğinde 20 ve 25 yaş kesme noktalarının erken/geç başlangıç ayrımı için kullanıldığı görülmektedir (Babor ve ark. 1992). Çalışmada bu iki kesme noktası da kullanılarak yukarıda sayılan ölçütlerin karşılandığı dönem klinik görüşme sırasında kaydedilmiştir.

Hasta grubunda son altı ay için günlük ortalama tüketilen alkol miktarı, yaşam boyu bir günde tüketilen maksimum alkol miktarı, ailede 1. ve 2. derece akrabalarında alkol kullanımı ile ilişkili bir bozukluğun varlığı gibi özellikler görüşme sırasında kaydedilmiştir. Aile öyküsünün kaydedilmesi amacıyla Andreasen ve arkadaşları (1977) tarafından geliştirilmiş Aile Öyküsü-Araştırma Tanı Ölçütleri kullanılmıştır. Bu ölçütlere göre, katılımcıların birinci ve ikinci derece yakınlarında alkol kullanım bozuklukları ile ilgili özellikler araştırılmıştır. Bu özellikler, alkol kullanımı ile bağlantılı adli, sosyal, sıhhi, mesleki, evlilik ile ilişkili alanlarda sorunlar gelişmiş olması veya alkol bağımlılığına yönelik tedavi almış olma olarak belirlenmiştir. Birinci ve ikinci derece yakınardan en az birinde belirtilen ölçütlerden en az birinin karşılanması durumunda ailede alkol bağımlılığı varlığı pozitif olarak kaydedilmiştir. Çalışmada tüketilen alkol miktarı standart içki cinsinden hesaplanmış, buna göre rakı, viski, cin, kanyak, votka yaklaşık eşit miktarda alkol içerir şekilde kabul edilmiş ve yüksek alkollü içkilerin 70 cl'si 30 ünite olarak hesaplanmıştır. 0,33 L bira, 0,15 L şarap 1 ünite olarak, özbidirim sonrası kaydedilmiştir.

Genotipleme

Tüm hasta ve kontrollerden alınan periferik kan lökositlerinden Qlamp DNA izolasyon kiti (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) ile DNA elde edilmiştir. *OPRM1* C17T ve A118G polimorfizmlerinin bulundukları bölgede restriksiyon endonükleaz enzimleri için doğal kesim noktaları bulunmadığından kısmi uygunsuzluk (partial mismatch) primerleri kullanılmıştır (Gelernter ve ark. 1999). A118 G için *OPRM1* SF 5' CTG ACG CTC CTC TCT GTC TCA 3' ve *OPRM1* Dpn II 5' GTT CGG ACC GCA TGG GTC GGA CAG AT 3' primerleri kullanılarak üretilen aplikon (300 baz çifti), 10 U Dpn II restriksiyon enzimi kullanılarak kesilmiştir. G aleli varlığında örneklerde 25 ve 275 baz çiftli fragmanlar ortaya çıkmıştır. C17T için *OPRM1*-Ban I -5' CCG TCA GTA CCA TGG ACA GCA GCG GTG 3' ve *OPRM1* SR-5' TGG AGT AGA GGG CCA TGA TCG 3' primerleri kullanılarak üretilen amplikon (246 baz çifti), 10 U Ban I restriksiyon enzimi kullanılarak kesilmiştir. C aleli varlığında 27 ve 219 baz çiftli fragmanlar ortaya çıkmıştır. Ürünler %3'lük agaroz jelde yürütülmüştür. Her gruptan rastgele 25 örneğe dizi analizi yapılarak PCR-RFLP sonuçlarının doğruluğu kontrol edilmiştir.

İstatistiksel analizler

Çalışmanın istatistiksel analizleri IBM SPSS'in 21.versiyonu ve G*Power versiyon 3.1.9.2 ile yapılmıştır. Hasta ve kontrollerin alel ve genotip sıklığının eşitliği ki-kare testi kullanılarak, Hardy-Weinberg eşitliği ile karşılaştırılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi, Shapiro-Wilk testi ve histogram görünimleri incelenerek değerlendirilmiştir. İstatistiksel hesaplamalar sırasında bağımsız değişkenler için bağımsız gruplarda t testi (normal dağılıma uygun olmayan veriler için Mann-Whitney U testi) uygulanmıştır. Üç grubun karşılaştırılması yapılırken, normal dağılıma uymayan veriler için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

Kategorik değişkenler için ise Pearson ki-kare testi ile Fisher ki-kare testleri kullanılmıştır.

BULGULAR

Sosyodemografik özellikler

Hasta grubunda 3, kontrol grubunda ise 1 kişi, DNA elde edilme işlemi yapılamadığı için çalışma dışı bırakıldı ve AB tanısı konulan 121 kişi hasta grubu, 117 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. AB grubu için ortalama yaş 44,3 ± 9,6 yıl ve kontrol grubu için ortalama yaş 33,8 ± 7,7 yıl olarak saptandı. İki grup karşılaştırıldığında yaş farkının anlamlı olduğu görüldü ($U=2,55$ $P<0,01$). AB grubu ve sağlıklı kontrol grubu için ortalama eğitim yılı sırasıyla 8,9 ± 3,8 ve 10,6 ± 3,9 yıl olarak saptandı. İki grubun ortalama eğitim yıllarının arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ($t=3535$ $P<0,05$).

OPRM1 A118G genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarında dağılımı

Kontrol ve AB gruplarında yürütülen genotipleme sonucunda *OPRM1* A118G tek nükleotid polimorfizmi için üç genotip kombinasyonunun da varlığı gösterildi. Genotip dağılımının, AB ve kontrol grupları birlikte değerlendirildiğinde, Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu olduğu görüldü (çalışma için beklenen katılımcı sayısı sırasıyla 185,29; 49,41; 3,29 ve çalışmada saptanan değerler 185; 50; 3 $P>0,05$). Örneklemin tümü değerlendirildiğinde (AB grubu ve kontrol grubu bir arada) doğal alelin (A) sıklığı %88,24, varyant alelin (G) ise %11,76 olarak saptandı (AB grubunda doğal alel %89,26 varyant alel %10,8; Kontrol grubunda doğal alel %87,18 varyant alel %12,82). AB ve kontrol grupları arasında *OPRM1* A118G SNP dağılımı açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1). Doğal A aleli ve varyant G alel taşıyıcıları

TABLO 1. *OPRM1* A118G Genotiplerinin Alkol Bağımlılığı (AB) ve Kontrol Gruplarında Dağılımı.

<i>OPRM1</i> A118G	AB grubu n (%)	Kontrol grubu n (%)	<i>p</i>
A/A	97 (80,2)	88 (75,2)	0,504*
A/G	22 (18,2)	28 (23,9)	
G/G	2 (1,6)	1 (0,9)	
A/A	97 (80,2)	88 (75,2)	0,359**
A/G + G/G	24 (19,8)	29 (24,8)	
A/A + A/G	119 (98,4)	116 (99,1)	0,513***
G/G	2 (1,6)	1 (0,9)	
Toplam	121	117	

*Fisher Kesin Ki-kare Testi, $\chi^2=1,499$ $df=2$,

**Pearson Ki-Kare Testi, $\chi^2=0,843$ $df=1$, OR=0,75 CI (%95) = 0,41-1,39

***Fisher Kesin Ki-kare Testi, $\chi^2=0,304$ $df=1$, OR=1,95 CI (%95)=0,17-21,79

TABLO 2. *OPRM1* Genotiplerinin Alkol Bağımlılığı (AB) Başlangıç Yaşına Göre Dağılımı (N=108).

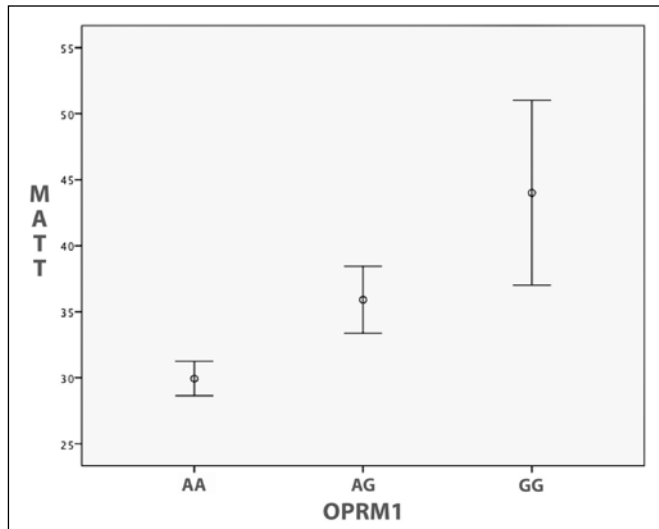
AB başlangıç yaşı	A118G AA N (%)	A118G AG + GG N (%)	χ^2 , <i>df</i>	<i>p</i>
<20 yaş	24 (72,7)	9 (27,3)	1396, 1	0,237*
>20 yaş	62 (82,7)	13 (17,3)		
<25 yaş	50 (75,8)	16 (24,2)	1569, 1	0,210**
>25 yaş	36 (85,7)	6 (14,3)		

* $\chi^2=1396$, *df*=1, ** $\chi^2=1569$, *df*=1

gruplandırılarak yapılan analizlerde de AB ve kontrol grupları arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo 1).

MOR A118G genotipleri ve sorunlu alkol kullanımı başlangıç yaşının ilişkisi

Sorunlu alkol kullanımının başlangıç yaşı 108 hastada güvenilir bir biçimde değerlendirilmiştir. 108 AB tanılı bireyden kesme noktası 20 yaş alındığında erken başlangıçlı birey sayısı 33 (%30,6), geç başlangıçlı birey sayısı ise 75 (%69,4) olarak saptanmıştır. Kesme noktası 25 yaş olarak alındığında 66 (%61,1) birey erken başlangıçlı grupta, 42 (%38,9) birey ise geç başlangıçlı grupta yer almıştır. Genotip dağılımı açısından erken ve geç başlangıçlı gruplar karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmemiştir (Tablo 2). Başlangıç yaşı ile ilgili değerlendirme yapılabilen grup ile bu bilginin güvenilir bir biçimde alınamadığı gruplar arasında yaşları ($t=0,804$, *df*=226, $p=0,422$), MATT puanları ($U=496,5$, $p=0,632$), maksimum ($U=424$, $p=0,546$) ve ortalama ($U=653$, $p=0,724$) tüketilen günlük alkol miktarı açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

ŞEKİL 1. *OPRM1* A118G Genotipleri ve Ortalama Michigan Alkolizm Tarama Testi (MATT) Puanları.

MATT: Michigan Alkolizm Tarama Testi ortalama $\pm$ Standart Hata.
OPRM1: Hasta grubu *OPRM1* genotipleri.
 Kruskal-Wallis $H=6469$ *df*=2 $p=0,039$.

OPRM1 A118G genotipleri ve alkol bağımlılığı şiddeti ilişkisi

AB grubunda *OPRM1* A118G varyant alel taşıyan bireyler, doğal alel homozigot bireyler ile karşılaştırıldığında ortalama MATT puanlarında anlamlı düzeyde yükseklik saptandı (Tablo 3). Varyant alel homozigot (GG), heterozigot (AG) ve doğal alel homozigot (AA) AB bireyler karşılaştırıldığında, varyant alel artışıyla birlikte MATT puanlarında anlamlı düzeyde yükselme görüldü ($H=6469$, *df*=2, $p=0,039$, Şekil 1). Öte yandan, son 6 ayda AB grubundaki bireylerin maksimum ve günlük alkol tüketim miktarları, *OPRM1* A118G genotipleri arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 3).

OPRM1 A118G genotipleri ve ailede alkol bağımlılığı öyküsü ilişkisi

Ailede alkol bağımlılığı öyküsünün varlığının alkol bağımlılığı gelişimi riski üzerinde etkili olduğu varsayımından yola çıkarak, genotip dağılımları aile öyküsü ile ilişki açısından analiz edilmiştir. Aile öyküsü değerlendirmesi toplam 205 katılımcıda (101 hasta ve 104 kontrol) yürütülebilmiş, değerlendirme sonucunda tüm örneklem bir arada alındığında, alkol bağımlılığı grubu ve kontrol grubu için aile öyküsü ve *OPRM1* A118G genotip dağılımı ($\chi^2=1099$ *df*=2 $p=0,577$), A alel sıklığı ($\chi^2=1080$ *df*=1 $p=0,364$), G alel sıklığı ($\chi^2=1010$ *df*=1 $p=0,659$) arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Grup içi analizler yürütüldüğünde, AB grubunda genotip dağılımı ($\chi^2=1182$ *df*=2 $p=0,568$), A alel sıklığı ($\chi^2=0,059$ *df*=1 $p=0,661$) ve G alel sıklığı ($\chi^2=1176$ *df*=1 $p=0,261$) açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. Kontrol grubu için de benzer şekilde genotip dağılımı ($\chi^2=1171$ *df*=2 $p=0,556$), A alel sıklığı ($\chi^2=255$ *df*=1 $p=0,791$) ve G alel sıklığı ($\chi^2=744$ *df*=1 $p=0,318$) açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Aile öyküsü değerlendirilebilen ve aile öyküsü ile ilgili güvenilir bilgi alınamayan gruplar karşılaştırıldığında, katılımcıların yaşları ($t=0,917$ *df*=117 $p=0,365$), MATT puanları ($U=528$ $p=0,531$), maksimum ($U=438$ $p=0,458$) ve ortalama tüketilen günlük alkol miktarı ($U=603,5$ $p=0,893$) açısından anlamlı fark gözlenmemiştir.

TABLO 3. Alkol Bağımlılığı Grubunda *OPRM1* Genotiplerinin Alkol Kullanım Özellikleri ve Michigan Alkolizm Tarama Testi (MATT) Puanları ile İlişkisi.

	<i>OPRM1</i> A/A	<i>OPRM1</i> A/G + G/G	<i>U</i>	<i>p</i>
Son 6 ayda günlük tüketilen alkol (ünite)				
Ortalama ± SS	30,2 ± 13,8	32,8 ± 15,8	905.5	0.583
Ortanca (IQR)	30 (15,6)	30 (15,5)		
Son 6 ayda bir günde tüketilen maksimum alkol (ünite)				
Ortalama ± SS	45,8 ± 16,8	51,14 ± 27,8	901.0	0.858
Ortanca (IQR)	45 (30)	45 (26)		
MATT				
Ortalama ± SS	29,9 ± 12,2	37,0 ± 9,8	683.5	0.027
Ortanca (IQR)	30,5 (19)	38 (14)		

IQR: Çeyrekler Arası Aralık.
SS: Standart Sapma.

***OPRM1* C17T genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarında dağılımı**

Kontrol ve AB gruplarında gerçekleştirilen genotipleme sonucunda *OPRM1* C17T tek nükleotid polimorfizmi için, doğal alel homozigot (CC) ve heterozigot (CT) genotipler örneklemde saptanırken; varyant alel homozigot (TT) genotip her iki grupta da saptanmamıştır. AB grubunda (n=121) 1 heterozigot birey saptanırken, kontrol grubunda (n=117) heterozigot birey sayısı 2 olarak saptanmıştır. Örneklemde AB ve kontrol gruplarında T alel frekansı çok düşük düzeylerde gözlemlendiği için, sırasıyla 0,004 ve 0.009, bu tek nükleotid polimorfizmi için daha ileri istatistiksel analiz yürütülmemiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada Türkiye’de bir alkol bağımlılığı örnekleminde ilk kez *OPRM1* polimorfizmleri incelenmiş, A118G polimorfizmi G aleli taşıyıcılarında daha şiddetli alkol bağımlılığı olduğu tespit edilmiştir. A118G genotip dağılımlarının alkol bağımlılığı olan bireyler ile sağlıklı kontroller arasında fark göstermediği saptanmıştır.

Çalışmamızın temel pozitif bulgusu, *OPRM1* A118G’de G varyant aleli taşıyan alkol bağımlılarında, varyant aleli taşımayan bireylerle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde daha yüksek MATT puanları saptanmasıdır. MATT puanları arasındaki bu anlamlı fark, G alelinin daha şiddetli bir alkol bağımlılığı örüntüsüne neden olduğu anlamına gelebilir. Bu bulgu, varyant alelin neden olduğu endojen opiyatlara reseptör afiniteindeki artış ile ilişkili olabilir (Bond ve ark. 1998). G varyant alelinin, alınan alkol miktarını artmasına neden olarak, daha şiddetli bir bağımlılık sendromuna neden olduğu varsayımı öne sürülebilse de, incelenen örneklemde G aleli taşıyıcıları ile A aleli taşıyıcıları arasında alkol kullanım miktarları arasında fark gözlenmemiştir. Öte yandan G varyantı opioidlere azalmış yanıt ile ilişkilidir. İnsan çalışmalarında G aleli taşıyıcılarında pupil konstriksiyonu, solunum depresyonu ve analjezi

etkisinin ortaya çıkması gibi, μ -opioid reseptör aracılı etkiler için, daha yüksek dozlarda opioid agonisti alınması gerektiği gösterilmiştir (Oertel ve ark. 2006). Benzer şekilde alkolün bazı etkileri de G aleli taşıyıcılarında farklılık gösterebilir. İlginç olarak, laboratuvar ortamında bağımlılığı olmayan bireylerde alkol kullanımının etkileri araştırıldığında G aleli taşıyıcılarının daha düşük dozlarda alkol ile daha yüksek oranda ‘dinçlik’ ve öznel ‘iyilik hali’ ifade ettikleri gözlenmiştir (Ray ve ark. 2010a, Ray ve ark. 2010b). Örneklemimizde alkol bağımlılığı riski ve ortalama kullanılan alkol miktarı açısından *OPRM1* A118G polimorfizmi genotip ve alelik olarak farklılık göstermezken, G taşıyıcılarında alkol bağımlılığı daha şiddetlidir. Eğer G taşıyıcıları benzer miktarda alkol kullanımı sonucunda alkolün etkilerini daha yoğun hissediyorlarsa, A taşıyıcılarına kıyasla sorunlu alkol kullanım örüntüleri ve alkol kullanımı ile ilişkili davranışları farklılık gösteriyor olabilir. Öznel iyilik hali ile birlikte alkol alımını takiben riskli davranışlarda artış ve alkol ile ilişkili adli/sosyal komplikasyonlar artmış olabilir. Bu da örneklemimizdeki G aleli taşıyıcılarında gözlenen MATT puanlarındaki anlamlı yüksekliğe rağmen kullanılan alkol miktarında anlamlı bir artış gözlenmemesi, yani daha şiddetli AB’na rağmen içilen miktarın artmaması ile ilişkili olabilir. Tüm bu bulgulara rağmen, bir tarama testi olarak geliştirilen MATT ile elde edilen verilerin alkol bağımlılığı şiddetinin dolaylı bir göstergesi olması bir kısıtlılık olarak kabul edilmelidir.

Literatürde *OPRM1* rs1799971 (A118G) polimorfizminin alkol bağımlılığı ile ilişkisini araştıran çalışma bulguları çeşitlidir. G aleli taşıyıcılığı ile AB riski arasında ilişki tespit eden çalışmaların yanı sıra (Miranda ve ark. 2010), bizim çalışmamızda olduğu gibi alel sıklıkları ve AB tanısı arasında anlamlı ilişki saptamayan çalışmalar da (Bergen ve ark. 1997; Gscheidel ve ark. 2000; Kim ve ark. 2004a; Loh ve ark. 2004; Sander ve ark. 1998) mevcuttur. Çalışmada elde edilen bu sonucun birkaç sebebi olabilir. AB grubu ile kontrol grubu arasında genotip dağılımı açısından fark gözlenmemesi söz

konusu varyant G alelin alkol bağımlılığı riski üzerine etkisinin düşük düzeyde olmasından kaynaklanıyor olabilir. Negatif sonuç ayrıca grup özelliklerinden de kaynaklanıyor olabilir. Örneğin, *OPRM1* polimorfizmlerinin alkol bağımlılarında naltreksona yanıt ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Chamorro ve ark. 2012). Naltreksona yanıt aynı zamanda, erkek cinsiyet, aşerme (craving) şiddetinin yüksek olması, kullanılan alkol miktarının yüksekliği gibi bazı özellikler ile de ilişkili bulunmuştur (Garbutt ve ark. 2014). Dolayısıyla bu özellikler açısından farklılık görülen bireylerde *OPRM1* A118G genotip dağılımı değişiklik gösteriyor olabilir. Çalışmamızda desen itibarıyla yalnız başlangıç yaşı ve alkol kullanım düzeyi geriye dönük olarak, hasta beyanına dayalı biçimde değerlendirilmiş, polimorfizm ile alkol kullanım düzeyleri veya başlangıç yaşı arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Sigara tüketimi veya tedavi yanıtı gibi diğer etmenler değerlendirilmediği için, genotip dağılımına etki edebilecek bu ek değişkenlerle ilgili yorum yapmak ise mümkün değildir.

Alel sıklığı (frekans, f) Türkiye kökenli bu örneklemde değerlendirildiğinde, (kontrol grubunda A aleli $f=0,87$; G aleli $f=0,13$; AB grubunda A aleli $f=0,89$, G aleli $f=0,11$) beyaz ırk ile uyumlu olduğu ve Asya kökenli etnik gruplardan daha düşük oranlarda olduğu söylenebilir (Chen ve ark. 2012). Bu araştırmanın örneklemini ile kısmen örtüşen bir örneklem üzerinde yürütülen bir diğer çalışmamızda alkol metabolizmasından sorumlu enzimlerden aldehid dehidrogenaz geni polimorfizmlerinden rs671'in A alelinin beyaz ırktakine benzer ve Asya toplumlarına aykırı şekilde hiç görülmediği ortaya konulmuştu (Ayhan ve ark. 2014). Dolayısıyla bu bulgu etnik benzerlik açısından daha önceki çalışmalarımızda elde ettiğimiz bulgularla da uyumludur. Örneklemimizde etnik köken açısından başka genetik belirteçler çalışılmamış olsa da, her iki çalışmada da örneklem özelliklerinin Yakın Asya toplumlarından ziyade Avrupa toplumlarına benzediği görülmektedir.

OPRM1 C17T tek nükleotid polimorfizmi bakımından tüm örneklem bir arada değerlendirildiğinde, varyant T alel frekansının (0,006) çok düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Daha önce yürütülen çalışmalarda, bu çalışmada incelenen Türkiye kökenli örnekleme benzer şekilde, Afrika kökenli örneklem dışı kalan tüm etnik gruplarda *OPRM1* C17T SNP için varyant alel frekansının çok düşük düzeyde olduğu görülmektedir (Gelertner ve ark. 1999, Tan ve ark. 2003, Crowley ve ark. 2003, Isaza ve ark. 2013). Mevcut bulgularla, her ne kadar bu çalışmada etnik kökene yönelik başka genetik analizler yürütülmemiş olsa da, incelenen örneklem *OPRM1* C17T SNP frekansı bakımından Afrika kökenli toplumlardan ayrıştığı söylenebilir.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılıkları örneklem özellikleri ile ilişkilidir. Örneklemi oluşturan bireylerin etnik kökenleri farklı olabilir ve farklı etnik kökenden gelen bireylerde araştırdığımız *OPRM1* genotip dağılımları farklılık gösteriyor

olabilir. Çalışmaya dahil edilen bireyler ve anne-babalarının anadilleri öğrenilmiş ve çalışmaya yalnız anadilinin Türkçe olduğunu beyan eden bireyler dahil edilmiş olmakla birlikte genetik yöntemler vasıtasıyla farklı etnik kökenlerin tespiti, mevcut çalışma şartlarında mümkün olmamıştır. *OPRM1* polimorfizmlerinin etkilediği fenotipler göz önüne alındığında da örneklem çeşitliliği bir karıştırıcı etmen olarak ortaya çıkabilir. *OPRM1* geninin farklı polimorfizmlerinin özkiyım davranışı (Arias ve ark. 2012), majör depresyonda tedaviye yanıt (Garriock ve ark. 2010), nikotin bağımlılığı (Zhang ve ark. 2006) gibi farklı psikiyatrik fenotipler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışma örneklemimizde sayılan bu özelliklerin karıştırıcı etmen olarak bulunup bulunmadığı açısından inceleme yapılmamıştır. Çoklu olası karıştırıcı etmen varlığında *OPRM1* polimorfizmlerinin AB tanısı üzerindeki etkisinin daha büyük örneklemde araştırılması uygun bir yöntem olabilir. Örneklem küçüklüğü çalışmanın önemli bir kısıtlılığıdır. Özellikle örneklem sayısının düşüklüğü ile ilgili kısıtlılık sorunlu alkol kullanımı başlangıç yaşı üzerine yürütülen analizlerde belirgindir, gücü çok düşük olan bu analizler üzerine ek bir yorum yapmak mümkün değildir. Ayrıca, örneklem küçüklüğü sebebiyle gruplar arasında saptanan, istatistiksel olarak anlamlı eğitim düzeyi ve yaş farklılığından kaynaklanabilecek olası etkileri kontrol etmeye yönelik analizler, yeterli istatistiksel güç sağlanamadığı için yürütülmemiştir.

Ek olarak, kontrol grubu ve AB grubu bireylerin sosyodemografik özellikleri farklılıklar göstermektedir. Kontrol grubundaki bireyler AB grubundaki bireylere göre daha gençtir. Bu nedenle kontrol grubundaki bireylerde yeterli süre beklense idi (örneğin AB grubundaki bireylerin yaşına geldiklerinde) AB gelişmiş olabileceği düşünülebilir. Ancak, AB grubunda AB gelişme yaşı örneklemin %61,1'inde 25 yaştan önce iken kontrol grubunda yaş ortalamasının 34 olduğu görülmüştür. Dolayısıyla AB grubunda alkol kullanım bozukluğunun geliştiği yaştan kontrol grubunun mevcut yaş ortalamasından daha düşük olduğu öne sürülebilir. Bu nedenle kontrol ve hasta grubu bir bütün olarak ele alındığında, AB için risk altında olan bireylerin kontrol grubu yaş ortalaması olan 34 yaşına gelene kadar büyük çoğunluğunun, AB geliştireceklerse, değerlendirmenin yapıldığı yaşta zaten AB geliştirmiş olacağı öne sürülebilse de, gruplar arasında yaş açısından anlamlı bir fark bulunması çalışmanın bir diğer önemli kısıtlılığıdır.

Örneklem özelliklerinde ikinci farklılık eğitim durumu ile ilgilidir. AB grupta eğitim seviyesi daha düşüktür. Opioid reseptör polimorfizmleri ile akademik performans arasında ilişki gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Öte yandan opioid reseptör polimorfizmleri, aynı zamanda akademik performansın düşük olması ile ilişkilendirilebilecek olan antisosyal davranışlar ile ilişkili bulunduğu bir çalışma mevcuttur (Corley ve ark. 2008). Ancak çalışmamızda AB ve kontrol grupları arasında genotip dağılımında farklılık olmaması

eğitim düzeyleri arasındaki farkın *OPRM1* polimorfizmleri ile ilişkili olmadığını desteklemektedir.

Örneklemin sadece erkek bireylerden oluşuyor olması da bir kısıtlılık olarak sayılabilir. Özellikle C17T polimorfizmi ile ilişkili olarak yürütülen çalışmalar incelendiğinde, varyant T aleli taşıyan homozigot TT bireylerde anlamlı düzeyde artmış alkol ve madde kullanım bozukluğu, sadece kadınları içeren Afrika kökenli bir örnekleme saptanmıştır (Crystal ve ark. 2012). Bu bulgudan yola çıkarak C17T polimorfizminin kadınları da içeren bir örnekleme incelenmesi daha uygun olacaktır.

Sonuç olarak, Türkiye’de bir alkol bağımlılığı örnekleminde ilk kez *OPRM1* polimorfizmleri incelendiği bu çalışmada, A118G polimorfizmi için G alel taşıyıcılarında, daha şiddetli alkol bağımlılığı olduğu tespit edilmiştir. *OPRM1* polimorfizmleri ve alkolizm arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması için, toplumda farklı etnik gruplarda olası ilişkinin araştırılması, polimorfizmlerin etkilediği diğer fenotiplerin karıştırıcı etmen olarak değerlendirildiği desende çalışmalar düzenlenmesi, alkol bağımlılığı ile ilişkili farklı özelliklerin ele alındığı benzer çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir.

Araştırma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi’nin maddi desteği (Proje No: 09 01 101 003) ile yürütülmüştür.

KAYNAKLAR

- Andreasen NC, Endicott J, Spitzer RL ve ark. (1977) The family history method using diagnostic criteria. Reliability and validity. *Arch Gen Psychiatry* 34:1229-35.
- Arias AJ, Chan G, Gelernter J ve ark. (2012) Variation in *Oprm1* and Risk of Suicidal Behavior in Drug-Dependent Individuals. *Am J Addict* 21:5-10.
- Ayhan Y, Gürel SC, Karaca Ö ve ark. (2014) Association between *ADH1C* and *ALDH2* polymorphisms and alcoholism in a Turkish sample. *Nord J Psychiatry* 64:1-7.
- Babor TF, Dolinsky ZS, Meyer RE ve ark. (1992) Types of alcoholics: concurrent and predictive validity of some common classification schemes. *Br J Addict* 87:1415-1431.
- Barr CS, Schwandt M, Lindell SG ve ark. (2007) Association of a Functional Polymorphism in the Mu-Opioid Receptor Gene with Alcohol Response and Consumption in Male Rhesus Macaques. *Arch Gen Psychiatry* 64:369-376.
- Bart G, Kreek MJ, Ott J ve ark. (2005) Increased Attributable Risk Related to a Functional Mu-Opioid Receptor Gene Polymorphism in Association with Alcohol Dependence in Central Sweden. *Neuropsychopharmacology* 30:417-422.
- Bergen AW, Kokoszka J, Peterson R ve ark. (1997) Mu Opioid Receptor Gene Variants: Lack of Association with Alcohol Dependence. *Mol Psychiatry* 2:490-494.
- Bond C, LaForge KS, Tian M ve ark. (1998) Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters β -endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:9608-9613.
- Chamorro AJ, Marcos M, Miron-Canelo JA ve ark. (2012) Association of Micro-Opioid Receptor (*Oprm1*) Gene Polymorphism with Response to Naltrexone in Alcohol Dependence: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Addict Biol* 17:505-512.
- Chen D, Liu L, Xiao Y ve ark. (2012) Ethnic-Specific Meta-Analyses of Association between the *Oprm1* A118g Polymorphism and Alcohol Dependence among Asians and Caucasians. *Drug Alcohol Depend* 123:1-6.
- Corley RP, Zeiger JS, Crowley T ve ark. (2008) Association of Candidate Genes with Antisocial Drug Dependence in Adolescents. *Drug Alcohol Depend* 96:90-98.
- Coşkunol H, Bağdiken İ, Sorias S (1995) Michigan Alkolizm Tarama Testi (MATT) Geçerliliği. *Ege Tıp Dergisi* 34:15-18.
- Crowley JJ, Oslin DW, Patkar AA ve ark. (2003) A Genetic Association Study of the Mu Opioid Receptor and Severe Opioid Dependence. *Psychiatr Genet* 13:169-173.
- Crystal HA, Hamon S, Randesi M ve ark. (2012) A C17t Polymorphism in the Mu Opiate Receptor Is Associated with Quantitative Measures of Drug Use in African American Women. *Addict Biol* 17:181-191.
- Du Y, Wan YJ (2009) The Interaction of Reward Genes with Environmental Factors in Contribution to Alcoholism in Mexican Americans. *Alcohol Clin Exp Res* 33:2103-2112.
- Ducci F, Goldman D (2008) Genetic Approaches to Addiction: Genes and Alcohol. *Addiction* 103:1414-1428.
- Filbey FM, Ray L, Smolen A ve ark. (2008) Differential Neural Response to Alcohol Priming and Alcohol Taste Cues Is Associated with *Drd4* Vntr and *Oprm1* Genotypes. *Alcohol Clin Exp Res* 32:1113-1123.
- First MB, Spitzer RL, Gibbon M ve ark. (1996) Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV), Washington, D.C., American Psychiatric Press, Inc.
- Garbutt JC, Greenblatt AM, West SL ve ark. (2014) Clinical and Biological Moderators of Response to Naltrexone in Alcohol Dependence: A Systematic Review of the Evidence. *Addiction* 109:1274-1284.
- Garriock HA, Tanowitz M, Kraft JB ve ark. (2010) Association of Mu-Opioid Receptor Variants and Response to Citalopram Treatment in Major Depressive Disorder. *Am J Psychiatry* 167:565-573.
- Gelernter J, Kranzler H, Cubells J (1999) Genetics of Two Mu Opioid Receptor Gene (*Oprm1*) Exon I Polymorphisms: Population Studies, and Allele Frequencies in Alcohol- and Drug-Dependent Subjects. *Mol Psychiatry* 4:476-483.
- Gianoulakis C (2009) Endogenous Opioids and Addiction to Alcohol and Other Drugs of Abuse. *Curr Top Med Chem* 9:999-1015.
- Gilpin NW, Koob GF (2008) Neurobiology of Alcohol Dependence: Focus on Motivational Mechanisms. *Alcohol Res Health* 31:185-195.
- Gscheidel N, Sander T, Wendel B ve ark. (2000) Five Exon 1 Variants of Mu Opioid Receptor and Vulnerability to Alcohol Dependence. *Pol J Pharmacol* 52:27-31.
- Hines LM, Ray L, Hutchison K ve ark. (2005) Alcoholism: The Dissection for Endophenotypes. *Dialogues Clin Neurosci* 7:153-163.
- Hoehe MR, Kopke K, Wendel B ve ark. (2000) Sequence Variability and Candidate Gene Analysis in Complex Disease: Association of Mu Opioid Receptor Gene Variation with Substance Dependence. *Hum Mol Genet* 9:2895-2908.
- Isaza C, Henao J, Beltran L ve ark. (2013) Genetic Variants Associated with Addictive Behavior in Colombian Addicted and Non-Addicted to Heroin or Cocaine. *Colomb Med (Cali)* 44:19-25.
- Kapur S, Sharad S, Singh RA ve ark. (2007) A118g Polymorphism in Mu Opioid Receptor Gene (*Oprm1*): Association with Opiate Addiction in Subjects of Indian Origin. *J Integr Neurosci* 6:511-522.
- Kendler KS, Prescott CA, Neale MC ve ark. (1997) Temperance Board Registration for Alcohol Abuse in a National Sample of Swedish Male Twins, Born 1902 to 1949. *Arch Gen Psychiatry* 54:178-184.
- Kieffer BL, Gaveriaux-Ruff C (2002) Exploring the Opioid System by Gene Knockout. *Prog Neurobiol* 66:285-306.

- Kim SA, Kim JW, Song JY ve ark. (2004a) Association of Polymorphisms in Nicotinic Acetylcholine Receptor Alpha 4 Subunit Gene (Chrna4), Mu-Opioid Receptor Gene (Oprm1), and Ethanol-Metabolizing Enzyme Genes with Alcoholism in Korean Patients. *Alcohol* 34:115-120.
- Kim SG, Kim CM, Kang DH ve ark. (2004b) Association of Functional Opioid Receptor Genotypes with Alcohol Dependence in Koreans. *Alcohol Clin Exp Res* 28:986-990.
- Knapman A, Connor M (2015) Cellular Signalling of Non-Synonymous Single-Nucleotide Polymorphisms of the Human Mu-Opioid Receptor (Oprm1). *Br J Pharmacol* 172:349-363.
- Koob G, Kreek MJ (2007) Stress, Dysregulation of Drug Reward Pathways, and the Transition to Drug Dependence. *Am J Psychiatry* 164:1149-1159.
- Loh el W, Fann CS, Chang YT ve ark. (2004) Endogenous Opioid Receptor Genes and Alcohol Dependence among Taiwanese Han. *Alcohol Clin Exp Res* 28:15-19.
- Minami M, Satoh M (1995) Molecular Biology of the Opioid Receptors: Structures, Functions and Distributions. *Neurosci Res* 23:121-145.
- Miranda R, Ray L, Justus A ve ark. (2010) Initial Evidence of an Association between Oprm1 and Adolescent Alcohol Misuse. *Alcohol Clin Exp Res* 34:112-122.
- Mura E, Govoni S, Racchi M ve ark. (2013) Consequences of the 118a>G Polymorphism in the Oprm1 Gene: Translation from Bench to Bedside? *J Pain Res* 6:331-353.
- Nishizawa D, Han W, Hasegawa J ve ark. (2006) Association of Mu-Opioid Receptor Gene Polymorphism A118g with Alcohol Dependence in a Japanese Population. *Neuropsychobiology* 53:137-141.
- Oertel BG, Schmidt R, Schneider A ve ark. (2006) The Mu-Opioid Receptor Gene Polymorphism 118a>G Depletes Alfentanil-Induced Analgesia and Protects against Respiratory Depression in Homozygous Carriers. *Pharmacogenet Genomics* 16:625-636.
- Oswald LM, Wand GS (2004) Opioids and Alcoholism. *Physiol Behav* 81:339-358.
- Ögel K, Evren C, Karadag F ve ark. (2012) The Development, Validity, and Reliability of the Addiction Profile Index (Api). *Türk Psikiyatri Derg* 23:263-275.
- Özkürkçügil A, Aydemir Ö, Yıldız M (1999) DSM-IV Eksen I Bozuklukları için Yapılandırılmış Klinik Görüşmenin Türkçe'ye Uyarlanması ve Güvenilirlik Çalışması. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 12:233-236.
- Pratt WM, Davidson D (2009) Role of the HPA Axis and the A118g Polymorphism of the Mu-Opioid Receptor in Stress-Induced Drinking Behavior. *Alcohol Alcohol* 44:358-365.
- Prescott CA, Kendler KS (1999) Genetic and Environmental Contributions to Alcohol Abuse and Dependence in a Population-Based Sample of Male Twins. *Am J Psychiatry* 156:34-40.
- Ramchandani VA, Umhau J, Pavon FJ ve ark. (2011) A Genetic Determinant of the Striatal Dopamine Response to Alcohol in Men. *Mol Psychiatry* 16:809-817.
- Ray LA, Hutchison KE (2004) A Polymorphism of the Mu-Opioid Receptor Gene (Oprm1) and Sensitivity to the Effects of Alcohol in Humans. *Alcohol Clin Exp Res* 28:1789-1795.
- Ray LA, Mackillop J, Monti PM (2010a) Subjective Responses to Alcohol Consumption as Endophenotypes: Advancing Behavioral Genetics in Etiological and Treatment Models of Alcoholism. *Subst Use Misuse* 45:1742-1765.
- Ray LA, Miranda R, Tidey JW ve ark. (2010b) Polymorphisms of the Mu-Opioid Receptor and Dopamine D4 Receptor Genes and Subjective Responses to Alcohol in the Natural Environment. *J Abnorm Psychol* 119:115-125.
- Roberts AJ, McDonald JS, Heyser CJ ve ark. (2000) Mu-Opioid Receptor Knockout Mice Do Not Self-Administer Alcohol. *J Pharmacol Exp Ther* 293:1002-1008.
- Rommelspacher H, Smolka M, Schmidt LG ve ark. (2001) Genetic Analysis of the Mu-Opioid Receptor in Alcohol-Dependent Individuals. *Alcohol* 24:129-135.
- Rouvinen-Lagerstrom N, Lahti J, Alho H ve ark. (2013) Mu-Opioid Receptor Gene (Oprm1) Polymorphism A118g: Lack of Association in Finnish Populations with Alcohol Dependence or Alcohol Consumption. *Alcohol* 48:519-525.
- Sander T, Gscheidel N, Wendel B ve ark. (1998) Human Mu-Opioid Receptor Variation and Alcohol Dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 22:2108-2110.
- Selzer ML (1971) The Michigan alcoholism screening test: the quest for a new diagnostic instrument. *Am J Psychiatry* 127:1653-1658.
- Sherry ST, Ward MH, Kholodov M ve ark. (2001) dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 29:308-311.
- Shippenberg TS, LeFevour A, Chefer VI (2008) Targeting Endogenous Mu- and Delta-Opioid Receptor Systems for the Treatment of Drug Addiction. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 7:442-453.
- Singh VK, Bajpai K, Biswas S ve ark. (1997) Molecular Biology of Opioid Receptors: Recent Advances. *Neuroimmunomodulation* 4:285-297.
- Tan EC, Tan CH, Karupathivan U ve ark. (2003) Mu Opioid Receptor Gene Polymorphisms and Heroin Dependence in Asian Populations. *Neuroreport* 14:569-572.
- Thome J, Gewirtz JC, Weijers HG ve ark. (2000) Genome Polymorphism and Alcoholism. *Pharmacogenomics* 1:63-71.
- Town T, Abdullah L, Crawford F ve ark. (1999) Association of a Functional Mu-Opioid Receptor Allele (+118a) with Alcohol Dependency. *Am J Med Genet* 88:458-461.
- Wiers RW, Rinck M, Dictus M ve ark. (2009) Relatively Strong Automatic Appetitive Action-Tendencies in Male Carriers of the Oprm1 G-Allele. *Genes Brain Behav* 8:101-106.
- Zhang L, Kendler KS, Chen X (2006) The Mu-Opioid Receptor Gene and Smoking Initiation and Nicotine Dependence. *Behav Brain Funct* 2:28-33.
- Zhang Y, Wang D, Johnson AD ve ark. (2005) Allelic Expression Imbalance of Human Mu Opioid Receptor (Oprm1) Caused by Variant A118g. *J Biol Chem* 280:32618-32624.