

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

CYP2D6 GENİNE AİT POLİMORFİZMLERİN TÜRK TOPLUMUNDA
ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR.BAYRAM TAŞKIN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MEHMET ALİ ERGÜN

ANKARA
MAYIS 2014

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

CYP2D6 GENİNE AİT POLİMORFİZMLERİN TÜRK TOPLUMUNDA
ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR.BAYRAM TAŞKIN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MEHMET ALİ ERGÜN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2012-74 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
MAYIS 2014

KABUL VE ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Savunma Sınav Tutanağı

05/06/2014

Adı ve Soyadı	Bayram Taşkın
Baba Adı	İbrahim
Doğum Yeri/Tarihi	Samsun / 24.12.1974
Diploma Tarihi/Diploma No	26.02.2002/ 02.04.A-012
Mezun Olduğu Fakülte	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 5
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: "CYP2D6 genine ait poliformizmlerin Türk toplumunda araştırılması"

JÜRİ KARARI: Başarılı

JÜRİ ÜYELERİ:

BAŞKAN

Prof.Dr.E.Ferda Perçin

ÜYE

Prof.Dr.Meral Yirmibes Karaoğuz

ÜYE

Prof.Dr.Mehmet Ali Ergün

TESEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı'nı tercih etmemde belirleyici bir rol oynamış, disiplinine, akademik bilgi ve birikimine hayranlık duyduğum, mesleki ve bireysel gelişimeme büyük katkı sağlamış değerli hocam Prof. Dr. E. Ferda Perçin'e, akademik bilgi ve birikimine, zekasına ve düşünme hızına hayranlık duyduğum, paylaştıkları ile ufukumuzu genişleten, hocalığının yanında tüm asistanlara ağabey olan, hem saygınlığı hem de gönlümüzde edindiği yer ile özel olan, tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Ali Ergün'e, bizlere ablalık yapan, yol gösteren, ilgi ve birikimiyle destek olan, yardımını esirgemeyen, çok değerli hocam Doç. Dr. Esra Tuğ'a, çok teşekkür ederim.

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum çok kıymetli iş arkadaşlarım Uzm. Dr. Kadri Karaer, Uzm. Dr. Özgür Erkal, Uzm. Dr. Ayşegül Ö. Kaymak, Uzm. Dr. Büşra Çavdarlı, Uzm. Dr. Guyem Özgen, Uzm. Dr. Gülsüm Kayhan, Uzm. Dr. Abdullatif Bakır, Arş. Gör. Dr. F. Nihal Dilek, Arş. Gör. Dr. Taha Bahsi, Arş. Gör. Dr. Hanife Çoban, Arş. Gör. Dr. Pelin Ö. Çubuk, Arş. Gör. Dr. Aysel Tekmenüray ve özellikle tez çalışmamda desteğini aldığım Arş. Gör. Dr. Serdar Mermer'e çok teşekkür ederim.

Sitogenetik ve moleküler laboratuvarında birlikte çalıştığımız ve eğitimim boyunca tecrübelerinden faydalandığım değerli iş arkadaşlarım Bio. Işıl Küçün Kiraz, Selma Karakılıç, , Uzm. Bio. Ebru Aytekin'e, isanlıkları ile özel olduklarını düşündüğüm Uzm. Bio. Halide Gül Akyar, Bio. Dr. Derya Karaer, Bio. Esra Küçük'e ve tez çalışmamda yardımını esirgemeyen, desteğini unutamayacağım Uzm. Bio. Sezen Güntekin Ergün'e çok teşekkür ederim.

Çok kıymetli, biricik arkadaşım, değerli sekreterimiz Mehtap Tırpan'a çok teşekkür ederim.

Çok sevdiğim, haklarını ödeyemeyeceğim, beni büyütüp yetiştiren, duaları ile güç ve sevgi, şefkatleri ile moral veren değerli anne ve babama çok teşekkür ederim

Değerli olduğumu her zaman hissettiren özel insanlar; ablam, kardeşim ve varlıklarıyla mutlu olduğum canım yeğenlerime çok teşekkür ederim.

YOL' a ve YOLCULUK' a

İÇİNDEKİLER	Sayfa No:
KABUL VE ONAY	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	IV
KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ	XII
RESİMLER DİZİNİ	XIV
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İlaç Metabolizması	3
2.1.1.İlaç Metabolizmasının Basamakları	4
2.1.1.1 Faz 1 Reaksiyonları ve Enzimleri	4
2.1.1.2 Faz 2 Reaksiyonları ve Enzimleri	6
2.1.2. Sitokrom P450 (CYP) Enzimlerinin Yapısı	7
2.1.3. İlaç Metabolize Eden Başlıca Reaksiyonlar	8
2.1.3.1. <i>Oksidatif Reaksiyonlar</i>	8
2.1.3.2. Hidroliz Reaksiyonları	8

2.1.3.3. Konjugasyon Reaksiyonları	9
2.1.4. CYP450 Enzimleri ve Metabolizma	9
2.1.5. CYP450Enzimleri ve İlaç Etkileşimleri	10
2.1.5.1.CYP450 Enziminin İnhibisyonu	10
2.1.5.2. CYP450 Enziminin İndüksiyonu	11
2.2. Farmakogenetik	13
2.2.1CYP450 ve Genetik	14
2.3. CYP2D Gen Ailesi	17
2.3.1. CYP2D Lokusunun Evrimi	17
2.3.2. CYP2D6Enzimi	19
2.3.3. CYP2D6 Geni ile İlişkili Hastalıklar	29
2.3.4. CYP2D6 geni ve adlandırılması	27
2.3.5. CYP2D6 allelleri	29
2.3.5.1. Normal Metabolize Edici Alleller	31
2.3.5.2. Orta düzeyde metabolize ediciler	33
2.3.5.3. Zayıf Metabolize Ediciler	35
2.3.5.4. Hızlı metabolize ediciler	37
2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ve Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi	38
2.4.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	38

2.4.2 Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Hastaların Seçimi	39
3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler, Sarf Malzeme Cihazlar	39
3.3. DNA İzolasyonu	41
3.3.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi	42
3.4. İncelenen Polimorfizmler için Tasarlanan Primer Dizileri	42
3.5. PZR Optimizasyonu	43
3.5.1. PZR Örneğinin Hazırlanması	44
3.5.2. PZR Aşamaları	44
3.6. Amplifikasyon Sonrası Çoğaltılmış Ürünlerin Kontrolü	46
3.6.1. Agaroz Jelin Hazırlanışı	46
3.6.2. PZR Ürünlerinin Değerlendirilmesi	47
3.6.2.1. CYP2D6*2 PZR Ürününün Değerlendirilmesi	47
3.6.2.2. CYP2D6*3 PZR ürününün değerlendirilmesi	48
3.6.2.3. CYP2D6*4 PZR ürününün değerlendirilmesi:	49
3.6.2.4. CYP2D6*10 PZR ürünü değerlendirilmesi	50
3.7. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesimi	50
3.7.1. <i>FspI</i> Enzimi ile Kesim	50

3.7.1.1.CYP2D6 geni*2 alleli	50
3.7.1.2. Deneyin Yapılışı	51
3.7.2. <i>Bpu10I</i> Enzimi ile Kesim	51
3.7.2.1.CYP2D6 geni*3 alleli	51
3.7.2. 2. Deneyin Yapılışı	51
3.7.3. CYP2D6 geni *4 alleli	52
3.7.3.1Deneyin Yapılışı	52
3.7.4. CYP2D6 geni *10 alleli	53
3.7.4.1.Deneyin Yapılışı	53
3.8 İstatistiksel Yöntem	53
4. BULGULAR	54
4.1. CYP2D6 Gen Polimorfizmleri	54
4.1.2. CYP2D6 geni *3 alleli için 2549delA delesyonunun değerlendirilmesi	55
4.1.3 CYP2D6 geni *4 alleli için 1846G>A yanlış anlamlı mutasyonunun değerlendirilmesi	57
4.1.4. CYP2D6 geni *10 alleli için 100C>T (P34S) CCA-TCA yanlış anlamlı mutasyonunu değerlendirilmesi	59
4.2. Çalışmamızda Bireylerde Tespit ettiğimiz Genotipler	61
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ	82

7. ÖZET	83
Anahtar sözcükler	83
8. SUMMARY	84
Keywords	84
9. KAYNAKLAR	85
10. ÖZGEÇMİŞ	90
11. EKLER	92

KISALTMALAR

AD	Anabilim Dalı
Ark	Arkadaşları
ALS	Asid-LabilSubünit
Bç	Baz Çifti
Bkz	Bakınız
BrDU	5-bromo-2'-deoksiüridin
CYP	Sitokromlar
dH ₂ O	Distile su
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
EM	Extensive Metabolizer
EtBr	Etidyum Bromür
EDTA	Etilen DiaminTetraAsetikasit
EH	Epoksit hidrolazlar
FMO	Monooksigenazlar
gr	Gram
GST	Glutatyon-s-transferaz
HCl	Hidroklorür
IM	IntermediateMetabolizer
İEE	İstenmeyen İlaç Etkileri
kb	Kilo Baz
KCL	Potasyum Klorür
lt	Litre
M	Molar
MAO	monoamin oksidaz
Mb	Megabaz
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol

NaCl	Sodyum klorür
NADPH	Nikotin amid adenin dinökleotid fosfat
NAT	N-asetil transferaz
NaOH	Sodyum hidroksit
ng	Nanogram
PM	Zayıf Metabolize Edici/Poor Metabolizer
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SDS	Standart Deviasyon Skoru
Sn	Saniye
SSC	Salin / Sodyum / Sitrat
SULT	sülfotransferazlar
Taq	Taq DNA Polimeraz
TBE	Tris/Borat/EDTA
U	Ünite
UGT	UDP-Glukronil Transferaz
UM	Çok Hızlı Metabolize Edici /Ultra Rapid Metabolizer
UV	Ultraviyole
V	Volt
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

SEKİLLER DİZİNİ	Sayfa No
Şekil 1. CYP enzimlerinin karaciğerde ekspresyon oranları	15
Şekil 1: Karaciğer CYP enzimlerinin ilaç metabolizmasına katılım oranları	16
Şekil 2. <i>CYP2D</i> lokusunda bulunan genler	17
Şekil 3. İnsan <i>CYP2D</i> lokusunun evrimi	19
Şekil 4. Seçilen antipsikotik ilaçların <i>CYP2D6</i> farmakokinetiğine göre yüzde olarak ayarlanmış dozları	25
Şekil 5. <i>CYP2D6</i> genlerinin adlandırılması	28
Şekil 7. Normal fksiyonlu alleller	32
Şekil 8. Azalmış fksiyonlu alleller	34
Şekil9 Zayıf metabolize ediciler	36
Şekil 10. Hızlı metabolize ediciler	37
Şekil 11. <i>CYP2D6*2</i> alleli için hazırlanan PZR döngü programı	45
Şekil 12. <i>CYP2D6*3</i> alleli için hazırlanan PZR döngü programı	45
Şekil 13. <i>CYP2D6*4</i> alleli için hazırlanan PZR döngü programı	45
Şekil 14. <i>CYP2D6*10</i> alleli için hazırlanan PZR döngü programı	46
Şekil 15. FspI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi	50
Şekil. 16. Bpu10I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi	51
Şekil 17. BstNI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi	52
Şekil 18. Acc65I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi	53
Şekil 19. <i>CYP2D6*2</i> allel sıklığının etnik dağılımı	70
Şekil 20. <i>CYP2D6*3</i> allel sıklığının etnik dağılımı	71
Şekil 21. <i>CYP2D6*4</i> allel sıklığının etnik dağılımı	73
Şekil 22 <i>CYP2D6*10</i> allel sıklığının etnik dağılımı	75
Şekil 23. <i>CYP2D6</i> PM bireylerin şematik gösterimi	80

TABLÖLAR DİZİNİ	Sayfa no
Tablo 1. İlaç metabolizmasının farklı aşamalarından sorumlu enzimler ve oluşan reaksiyonlar	6
Tablo 2. CYP Enzim inhibitörleri	11
Tablo 3. CYP Enzim Aktivatörleri	13
Tablo 4. CYP2D6 enzimi ile metabolize olan ilaçlar	21
Tablo 5. CYP2D6 fenotipe göre bazı antidepresanlar için önerilen doz oranları	23
Tablo 6. CYP2D6 fenotipe göre bazı antipsikotikler için önerilen doz oranları	24
Tablo 7. CYP2D6 fenotipi ile ilişkili hastalık ve risk durumu	27
Tablo 8. CYP enzimi ve bazı polimorfizmlerin şematik gösterimi	29
Tablo 9. Fonksiyon Durumuna Göre Allel Dağılımı	30
Tablo10.Çalışmamıza katılan bireylerin dahil edilme ve dışlanma kriterleri	39
Tablo11.CYP2D6*2, *3, *4 PZR reaksiyonu için kullanılan malzemeler	43
Tablo 12.CYP2D6*10 PZR reaksiyonu için kullanılan malzemeler	44
Tablo 13. CYP2D6*2 allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı	55
Tablo 14. CYP2D6*2 allelinin allel sıklığı...	55
Tablo 15. CYP2D6*3 (rs35742686) allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı	56
Tablo 16. CYP2D6*3 allelinin allel sıklığı.	57
Tablo 17. CYP2D6*4 (rs3892097) allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı	59
Tablo 18. CYP2D6*4 (rs3892097) allelinin allel sıklığı	59
Tablo 19. CYP2D6*10 allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.	60
Tablo 20. CYP2D6*10 allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.	60
Tablo 21. *2, *3,*4,*10 allelerinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı	61
Tablo 22. Kişilerin Genetipi Üzerinden Allellerin *2, *3,*4,*10 Sırası İle Gösterimi	62
Tablo 23. *2 allel durumuna göre sırasıyla *3, *4, *10 allell	64

durumları ve sayıları

Tablo 24. *3 allel durumuna göre sırasıyla *2, *4, *10 allel durumları ve sayıları 65

Tablo 25. *4 alel durumuna göre *2, *3, *10 allel durumları ve sayıları 66

Tablo 26. *10 alel durumuna göre *2, *3, *4 allel durumları ve sayıları 67

Tablo 27. Beyaz ırk ve Asyalılardaki CYP2D6 ve diğer CYP allellerinin literatüre göre dağılımı. 78

RESİMLER DİZİNİ	Sayfa no
Resim 1. <i>CYP2D6</i> *2 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü	47
Resim 2. <i>CYP2D6</i> *3 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü	48
Resim 3. <i>CYP2D6</i> *4 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü	49
Resim 4. <i>CYP2D6</i> *10 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü	50
Resim 5. <i>CYP2D6</i> *2 enzim kesimi	54
Resim 6. <i>CYP2D6</i> *3 alleli için enzim kesimi	56
Resim 7. <i>CYP2D6</i> *4 alleli için enzim kesimi	58
Resim 8. <i>CYP2D6</i> *10 alleli için enzim kesimi	60

1.GİRİŞ ve AMAÇ

CYP2D6 genine ait polimorfizmler özellikle antidepresan, nöroleptik, antiaritmik, antihipertansif, beta bloker ve morfin derivelerinin terapötik kullanımında klinik etkide değişkenliğe yol açar. Zayıf metabolize edici bireylerin bu ilaçları standart dozda kullanımları sonrası plazmalarında bu ilaçların konsantrasyonlarında artış ve buna bağlı olarak yan etkiler ortaya çıktığı bildirilmiştir (1).

CYP2D6 geni 22q13.1 kromozom bölgesine lokalizedir. Bu genin ürünü olan enzimin 2 izoformu vardır: Birinci izoformu 9 ekzon ve 497 aminoasitten oluşurken, ikinci izoformu ise 8 ekzon ve 446 aminoasitten oluşmaktadır (2).

CYP2D6 genine ait alleller normal, azalmış, artmış ve fonksiyonel aktivitede olmayanlar olmak üzere sınıflandırılmaktadır (3, 4). Beyaz ırkta en sık görülen *CYP2D6* alleleri; *2,*3,*4,*5,*6,*10 ve *41 olarak bildirilmiştir. Afrikalılarda *2 ve *17 sık görülürken Asyalılarda *10 ve *36 alleleri sık olarak görülür (2).

Beyaz ırkta zayıf metabolize edicilerin oranı ortalama %5-10 arasında olduğu, Türk toplumunda ise % 3.4-3.8 arasında olduğu bildirilmiştir (1,2). Beyaz ırk ve Afrika ırkındaki zayıf metabolizma ile ilgili alleler *3, *4, *5, *6 ve *10 alleleridir (5).

Türk toplumunda *CYP2D6* ile yapılan çalışmalara göre; allel sıklıkları *CYP2D6**1 için %37; *2 için %35; *4 için %11; *10 için %6; *5 için %1 ve *17 için %1 olarak bildirilmiştir. Ülkemizdeki zayıf metabolize edicilerin oranı %1.49 olarak bildirilmiştir (6).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *CYP2D6**3 alelinin sıklığı %25 olarak saptanırken (7, 8) *CYP2D6**4 allelinin sıklığı % 13.4 ile % 21 arasında bildirilmiştir (8). *5 (% 1.49) ve *6 (% 0,5) allelleri ise *3 ve *4 allellerine oranla daha düşük sıklıkta görülmektedir (8, 9).

Bu tez çalışmasında *CYP2D6* geninin *2,*3,*4 ve *10 allellerinin 200 sağlıklı bireyde genotiplendirilmesi yapılarak ve toplumundaki allel sıklıklarının belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre *CYP2D6*

geninin allel sıklıkları *2 için % 35, *3 için % 6, *4 için % 10, *10 için % 26 olarak bulunmuştur.

Bu sonuçlar toplumumuzdaki farklı tiplerdeki metabolize edicilerin oranı hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İlaç Metabolizması

İnsanların vücutlarına aldıkları maddeleri metabolize etmeleri ve vücutlarından uzaklaştırmaları, bir dizi enzimatik yolağı ve transport sistemini içeren doğal bir süreçtir. Vücuda giren yabancı maddeler ksenobiyotik olarak tanımlanmaktadır ve en önemli kaynağı bitkilerdir. Ksenobiyotikler, bitkilerin toksinleri (mantarlarda bulunan amanitin, giromitrin, orellanin, muskarin, ibotenik asit, musimol, psilosibin ve koprin vb.) ve pigment yapılarında bulunan bazı bileşikler, hayvanlar tarafından üretilen toksinler, ilaçlar, endüstriyel kimyasallar, pestisidler, pişmiş gıdaların piroliz ürünleri, alkaloidler, sekonder bitki metabolitleri ve küflerden oluşmaktadır (10,11).

Metabolizma ve biyotransformasyon eş anlamlı kelimeler olarak kullanılıyor olsa da aslında metabolizma; ksenobiyotiğin emilim, dağılım ve eliminasyon (biyotransformasyon ve atılma) aşamalarının tümünü içermektedir (12).

İlaçlar da bir tür ksenobiyotik olarak değerlendirilebilir. Bitkiler, ilaçların önemli bir kaynağıdır ve ilaçlar, besinlerle birlikte alınan kimyasallara benzer şekilde metabolize edilir (10,13). Ksenobiyotikleri metabolize eden enzimler tarihsel süreçte, ilaç metabolize edici enzimler (metabolizer) olarak adlandırılmıştır (10). Günümüzde ksenobiyotik maruziyetinin çoğu çevresel etmenler, gıda katkıları, kozmetik ürünler, tarım ilaçları, işlenmiş gıda ürünleri ve kişinin aldığı ilaçlar nedeniyle olmaktadır. Birçok ilaç da, aslında birer ksenobiyotik olmaları nedeniyle, metabolize edilememeleri durumunda birikerek toksik etkilere neden olur (10, 13).

Eliminasyon enzimleri, ksenobiyotikleri suda çözünür hale getirerek atılabilmelerine olanak sağlar. Ksenobiyotiklerin tamamına yakını faz 1 ve faz 2 enzim sistemleri aracılığıyla metabolize edilerek idrar veya safra ile atılabilir

forma dönüştürülürler Suda çözünürlüğü ve metabolik ağırlığı artan yeni ürün vücuttan idrar veya safra yolu ile kolaylıkla ve hızlı bir şekilde atılabilir (10,13).

Reaksiyonlar sırasında kansere neden olabilen bileşiklere dönüşen ksenobiyotiklere karsinojenler denir. Ksenobiyotiklerden arınmamıza yardım eden sitokrom enzimleri paradoksal biçimde bazı kimyasal bileşikler, yüksek toksik ya da karsinojen ürüne çevirebilir. Bu durum hücrenin yapısında bulunan maddelerle etkileşime giren kararsız ara ürünlerin üretildiği reaksiyonlarda oluşur. Yine bu reaksiyonlar sırasında bazen elektrofilik metabolitler de oluşabilir. Bu metabolitler; DNA, RNA, protein gibi hücresel makromoleküllerle reaksiyona girerler. Bu durum ise organ toksisitesine ve hücre ölümüne yol açar. Elektrofilik metabolitler ile DNA etkileşimi bazen mutasyon oluşumuna da yol açabilir. Tümör süpresör genlerde ve onkogenlerdeki mutasyonlar kanserle sonuçlanabilir. Günümüzde kanserlerin çoğunun karsinojenlere maruziyetten kaynaklandığı kabul edilmektedir (10,14).

2.1.1.İlaç Metabolizmasının Basamakları

İlaç metabolizması başlıca Faz 1 (oksidasyon, indirgenme ve hidroliz basamakları) ve Faz 2 (faz1 enzimleri ile oluşan ürünlerin konjugasyonu) şeklinde ardışık reaksiyon basamaklarından oluşmaktadır (4, 10, 14). İlaç metabolizma basamakları ve bu basamaklarda gerçekleşen olaylar Tablo 1’de gösterilmiştir. CYP enzimleri faz 1 reaksiyonlarının oksijenazlar grubunda olup Oksidasyon ve alkalizasyon reaksiyonlarında görev almaktadır (10, 14).

2.1.1.1 Faz 1 Reaksiyonları ve Enzimleri

Oksidasyon, redüksiyon, hidroksilasyon ve demetilasyon işlemlerinden sorumlu mekanizmadır ve temelde faz 2 reaksiyonuna hazırlık aşamasıdır. Faz 1 enzimleri, hem molekülü içerir. Aktivitelerinden sorumlu olan hem molekülünün

içerdiği demir atomunun karbon monoksit'e bağlandığında, absorbe ettiği dalga boyunun nanometre biriminin karşılığı olan 450 sayısı, bu enzimlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (14).

Faz 1 enzimleri; -OH, -COOH, -SH, -O- ya da -NH₂ gibi fonksiyonel üniteleri ile bağlanarak, xenobiyotiklerin suda çözünürlüğünü artırır. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan ürünler genellikle inaktif olmakla birlikte oluşan yeni ürünün biyolojik aktivitesi azalabilir, artabilir veya değişmeyebilir. Bazen deamid ve ester bağlarının hidrolizi ile siklofosfamid gibi bir ön ilacı aktif formuna çevirir (biyoaktivasyon). Bu davranış şekli “fonksiyonallzasyon fazı” olarak isimlendirilir. Faz 1 reaksiyonları; sitokromlar (CYP), flavin içeren monooksijenazlar (FMO) ve epoksit hidrolazlar (EH) enzim gruplarından oluşan süper aileler aracılığı ile gerçekleşir ve bu her bir süper aile birçok gen içermektedir (10).

Tablo 2. İlaç metabolizmasının farklı aşamalarından sorumlu enzimler ve oluşan reaksiyonlar (10).

Enzimler	Reaksiyonlar
<u><i>Faz1 ‘oksijenazlar’</i></u>	
Sitokrom P450’ler (P450/CYP)	C ve O oksidasyon, dealkilasyon, diğerleri
Flavin içeren monooksijenazlar (FMO)	N, S ve P oksidasyon
Epoksid hidrolazlar (mEH, sEH)	Epoksitlerin hidrolizi
<u><i>Faz 2 ‘transferazlar’</i></u>	
Sülfotransferazlar (SULT)	Sülfat eklenmesi
UDP- glukuronosiltransferazlar (UGT)	Glukronik asit eklenmesi
Glutasyon -s – transferazlar (GST)	Glutasyon eklenmesi
N-asetil transferazlar (NAT)	Asetil grubunun eklenmesi
Metiltransferazlar	Metil grubunun eklenmesi
<u><i>Diğer enzimler</i></u>	
Alkol dehidrogenazlar	Alkolün indirgenmesi
Aldehit dehidrogenazlar	Aldehitin indirgenmesi
NADPH- kinon oksidoredüktaz (NQO)	Kinonların indirgenmesi

Faz1 enzimleri seçici değildir, çok sayıda kimyasal bileşikle reaksiyona girebilirler ve bu şekilde organizmaya daha geniş bir savunma desteği verirler. Bununla birlikte belli yapılara karşı afiniteleri daha yüksektir (13, 14).

2.1.1.2 Faz 2 Reaksiyonları ve Enzimleri

Faz 2 enzimleri moleküler ağırlığı artırarak ve suda daha kolay çözünür hale getirerek ilacın dokudan uzaklaştırılmasını daha da kolaylaştırır (10). Faz 2 enzim süper aileleri konjugasyonda görev alır. Önemli bazı örnekleri; glutasyon-s-transferaz (GST), sülfotransferaz (SULT), UDP-glukroniltransferaz (UGT), N-

asetiltransferaz (NAT) ve metil transferazlardır (10, 13, 14). Konjugasyon reaksiyonları genel olarak glutatyon, glukronik asit, sülfat ya da asetil grubu gibi hidrofilik grupları ekler. Bunu yapabilmek için oksijen (hidroksil veya epoksit grubu), nitrojen ve kükürt atomları gibi akseptör (alıcı) özelliği gösteren substratlara ihtiyaç duyar. Hidrofilik gruplar, akseptöre kovalent bağla bağlanır (konjuge olur). Örneğin; fenitoin bir antiepileptiktir ve suda çözünmez. Sitokrom enzimleri ile faz 1 reaksiyonunu takiben difosfat glukroniltransferaz (UGT) ile faz 2 reaksiyon işlemi uygulanarak suda çözünürlüğü kolaylaştırılmış ve moleküler ağırlığı artırılmış bir ürün elde edilir. Oluşan bu metabolit safra ve idrarla vücuttan atılabilir bir bileşiktir (10, 13).

2.1.2. Sitokrom P450 (CYP) Enzimlerinin Yapısı

CYP enzimleri, 12 gen ailesinde bulunan 60'a yakın genden oluşmaktadır ve aminoasit dizilerindeki benzerliklerine göre gruplandırılmışlardır. Genler arasındaki bu benzerlik oranı en az %40'tır. CYP3A3 ile CYP3A4 arasında görülen benzerlik oranı %98 dir. CYP2D grubunda benzerlik oranı %55 civarındadır. CYP grubunun sadece 3 üyesi (P450 1/CYP1, P450 2/CYP2, P450 3/CYP3) ilaç metabolizmasından sorumludur (14).

CYP enzimleri O_2 'ni substrat olarak kullanan pek çok enzim ailesi gibi hem molekülü içeren bir süperailedir. CYP2D6 enzimi endojen substrat olarak hidroksitriptaminazı kullanır (15). Polipeptit zincirine non-kovalent bağ ile bağlanırlar. Hem molekülü hidrokarbon kafes içerisinde bir demir atomu barındırır. Enzimin aktif bölgesinde bulunan demir O_2 'ni bağlar. Substratın oksidasyonu için O_2 'nin yanında gerekli olan H^+ iyonu ko-faktör olarak görev yapan indirgenmiş nikotin amid adenin dinükleotid fosfat'tan (NADPH) sağlanır (10).

Substrat CYP enzimi ile metabolize edildiğinde bir molekül oksijen harcanır. Böylece substrat okside edilmiş olur. Bu reaksiyonda ayrıca bir molekül su açığa çıkar. Bununla birlikte substratın kullandığı oksijenden daha fazla

miktarda oksijen harcanır. Böylece açığa aktif oksijen veya O^{2-} çıkmış olur. Aktif oksijenin suya dönüştürülmesi işleminde süperoksit dismutaz enzimi görev alır (10, 13).

CYP enzimleri ile gerçekleştirilen başlıca reaksiyonlar: N-oksidasyon, O-dealkilasyon, deaminasyon, dehalojenasyon, aromatik hidroksilasyon reaksiyonlarıdır (14).

2.1.3. İlaç Metabolize Eden Başlıca Reaksiyonlar

2.1.3.1. Oksidatif Reaksiyonlar

N-Dealkilasyon ile imipramin, diazepam, kodein, eritromisin, morfin, tamoksifen, teofilin, kafein; alifatik hidroksilasyon ile kodein, indometazin, dekstrometorfan, tolbutamid, ibuprofen, fenobarbital, meprobromat, siklosporin, midazolam; aromatik hidroksilasyon ile fenitoin, fenobarbital, propanolol, etinilestradiol, amfetamin, warfarin; N-oksidasyon ile klorfeniramin, dapson, meperidin; S-oksidasyon ile simetidin, klorpromazin, tiyridazin, omeprazol ve deaminasyon ile diazepam ve amfetamin metabolize edilir (10, 14).

2.1.3.2. Hidroliz Reaksiyonları

Karbamazepin, prokain, aspirin, klofibrat, meperidin, enalapril, kokain, lidokain, prokainamid bu reaksiyon ile metabolize edilir (10,13).

2.1.3.3. Konjugasyon Reaksiyonları

Glukuronidasyon ile parasetamol, morfin, oksazepam ve lorezapam metabolize edilir (10,13).

2.1.4. CYP450 Enzimleri ve Metabolizma

İnsanlarda elli'nin üzerinde tanımlanmış CYP enzimi bulunmaktadır. Gıdalarda bulunan ksenobiyotiklerin metabolizmasında görev alan CYP enzimleri, aynı zamanda steroid gibi endojen bileşiklerin ve safra asitlerinin sentezinde de görev alır. Safra asidi ve steroid sentezini katabolize eden CYP19 veya aromataz enzimi, spesifik bir enzimdir ve sadece testesteronu metabolize edebilir, ksenobiyotikleri metabolize edemez. Anastrozol gibi bazı spesifik aromataz inhibitörleri östrojen bağımlı tümörlerin tedavisi için geliştirilmiştir. Safra asitleri CYP'in katalizlediği oksidasyon reaksiyonları ile konjuge edilirler. Bu basamakta rol alan safra enzimleri belirli bazı substratları kullanır, ilaç veya ksenobiyotik metabolizmasına katılmaz (13).

Enzimler genel olarak vücutta spesifik reaksiyonlarda görev almaktadırlar. Ancak, ksenobiyotikleri metabolize eden CYP enzimleri pek çok kimyasal bileşiğin metabolize edilmesinde görev alabilmektedir. Hem çok sayıda kimyasalla reaksiyona girebilir, hem de farklı reaksiyonları katalizleyebilirler (10, 14). Böylece substratlar farklı hızlarda da olsa, farklı farklı CYP enzimleri tarafından metabolize edilebilirler. CYP enzimleri bağlanma bölgelerinin geniş ve akışkan olması sayesinde çok sayıdaki substrata rastgele bağlanıp onları metabolize etme yeteneğine sahiptir, ancak bu özellikleri metabolik döngü hızının yavaşlamasına neden olabilir. Bu nedenle, CYP enzimleri, ara metabolizma ve mitokondriyal elektron transferinde rol alan tipik enzimlerden çok daha yavaş metabolizma hızına sahiptir. Bunun sonucunda da, CYP ile metabolize edilen ilaçların yarı ömrü 3-30 saat gibi oldukça uzun iken monoaminoksidaz (MAO) ve plazma proteazları ile yıkılan dopamin ve insülin gibi endojen bileşikler ise

saniyelerya da dakikalarla ölçülen yarı ömre sahiptir. CYP enzimlerinin hızları düşük olmakla birlikte çok sayıda ilacı metabolize etme kapasitesi vardır (10).

2.1.5. CYP450Enzimleri ve İlaç Etkileşimleri

Bir CYP enziminin etkileyeceği iki farklı substrat vücuda alındığında CYP enziminin aktif bölgesine bağlanabilmek için her bir substrat diğeri ile yarışmaya girer ve bu durumda her iki substratında metabolize edilme hızları azalır. Bu nedenle, her iki substratın da plazma düzeyi artar (örneğin; statinler ile makrolid grubu antibiyotikler veya antifungaller). Terapötik indeksi dar olan ilaçların serum düzeylerinde artış olduğundailağ yan etkileri daha kolay görülür. İlaç etkileşimleri, advers ilaç reaksiyonlarının önemli sebeplerindendir. İlaç etkileşimlerinin çoğu CYP enzimini kullanan substratlar arasında gerçekleşir. Bu nedenle CYP enzimini kullanan ilaçların bilinmesi, istenmeyen yan etkilerin görülme sıklığını azaltabilmek açısından önemlidir (10).

2.1.5.1.CYP450 Enziminin İnhibisyonu

Bazı maddeler CYP enziminin substratı olmamakla birlikte CYP enzimini inhibe ederler (10). Örneğin; Ketokonazol sık kullanılan bir antifungal ajan olup, CYP3A4 ve diğer CYP enzimlerini potent bir şekilde inhibe edebilmektedir. Anti-HIV viral proteaz inhibitörleri ketokonazol ile birlikte alındığında plazma klirensleri azalır ve bağlı olarak plazma konsantrasyonları artar. Bu durum toksisite gelişme riskini artırır. Bu nedenle, CYP enzimleri ile metabolize olan bazı ilaçların prospektüsünde ilacın metabolizmasında görevli CYP enzimleri ve buna bağlı gelişebilecek olası ilaç etkileşimleri yer almaktadır (10).

İlaç metabolizması aynı zamanda alınan gıdalardan da etkilenebilir. Gıdalarda CYP enzimini etkileyecek ajanlar sık olarak bulunmaktadır. Örneğin, greyfurt suyunun içinde bulunan naringin ve furanokumarin gibi maddeler

CYP3A4 enziminin potent inhibitörleridir. Bu nedenle, bazı ilaçların prospektüsündende greyfurt suyu ile birlikte alınmasının ilaç biyoyararlanımını arttıracak uyarı olarak belirtilmektedir (10).Başlıca CYP enzim inhibitörleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.CYP Enzim İnhibitörleri

Amiodaron	Klorpromazin
Amitriptilin	Methadone
Bupropion	Metoklopramid
Desipramin	Moklobemid
Difenhidramin	Paroksetin
Doksepin	Pimozid
Duloksetin	Propafenon
Fluoksetin	Ritonavir
Fluvoksamin	Selekoksib
Goldenseal	Sertralin
Halofantrin	Simetidin
Haloperidol	Sinakalset
Hidroksizin	Sitolapram
İmipramin	Terbinafin
Kinin	Tiklopidin
Klomipramin	Tioridazin
Klorfeniramin	

Terfenadin, CYP3A4 ile aktif forma dönüşen bir ön ilaçtır. Greyfurt suyu veya eritromisin benzeri CYP inhibitörleri ile birlikte alındığında aktif forma dönüşümü yavaşlar. Ön ilaç olan terfenadinin yeterince hızlı aktif formuna dönüşemeyip serum konsantrasyonunun artması halinde aritmi ve ventriküler

taşikardi yapma potansiyeli vardır. Bu yan etkilerin görülmesi nedeniyle ilaç piyasadan çekilmiştir. (10).Kırmızı şarap da CYP3A4 aktivitesini inhibe edebilir. Ancak etkisi greyfurt suyuna göre oldukça zayıf olduğu için klinik olarak etkisi beklenmemektedir (14).

Yaş faktörü de ilaç metabolizmasında önemlidir. Yenidoğanlarda doğumdan sonraki ilk iki haftada matür enzim oluşmaz. Ayrıca yaştan ilerlemesiyle birlikte karaciğerin metabolizma kapasitesi azalmaktadır. Bu nedenle bu iki durumda ilaç kullanımında hastanın yaşı, özellikle dikkate alınmalıdır (14).

2.1.5.2. CYP450 Enziminin İndüksiyonu

Bazı ilaçlar CYP inhibitörlerinin aksine CYP enzimini indüklerler. Böylece kendi metabolizmalarının yanı sıra birlikte alındıkları ilaçların metabolizmasında hızlandırmış olurlar (10, 13). İndüksiyon etkisi iki günde ortaya çıkabilbileceği gibi bir haftayı geçen sürede de görülebilir (14).Bitkisel bir ürün olan Sarı Kantaron otu ve steroid hormonları örnek olarak verilebilir. Bu ürünler karaciğerde CYP3A4 enzim düzeyini arttırarak özellikle oral yolla alınan pek çok ilacın metabolizmasını arttırabilir (10). CYP1A1 ve CYP1A2 enzimleri indüklenebilen sitokrom enzimler olmakla birlikte, CYP2D6'nın indüklenemediği görülmüştür (13).

Sigara dumanı, kömürde pişmiş etler çevresel kirliliğe yol açan maddelerde bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar ise CYP1A2'nin indükleyicisidir. Sigara içenlerde Olanzapin klirensi %40 oranında artabilmektedir. Bu nedenle sigara içenlerde dozu arttırmak gerekebileceği gibi sigarayı bırakanlarda da toksisite riskini arttıracığından alınan ilaç dozunu azaltmak gerekebilir. Yiyeceklerden patlıcan, brokoli, lahana ve brüksel lahanası da CYP1A2 enzim indüksiyonu yapan başlıca besinlerdir (14). CYP enzim aktivatörleri Tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 4.CYP Enzim Aktivatörleri

CYP Enzimini Aktive Eden İlaçlar	Rifampin
CYP Enzimini Aktive Eden Gıdalar	Patlıcan Brokoli Lahana
CYP Enzimini Aktive Eden Çevresel Etmenler	Sigara dumanı Kömürde pişmiş etler Polisiklik aromatik hidrokarbonlar

2.2. Farmakogenetik

Aynı ilacı eşit miktarda alan benzer özelliklerdeki bireylerin ilaca verdikleri cevaplar arasında farklılık olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni, kişiler arasında genetik profilin farklı olmasıdır (16). İlaçların metabolize edilmeleri sırasında genetik çeşitlilik nedeniyle bireylerin vermiş olduğu ilaç cevapları arasında görülen farklılıkları inceleyen çalışmalara farmakogenetik çalışmalar denilmektedir (16). İnsan genom projesi sonucunda, insan genomunda yaklaşık olarak 30.000 gen bulunduğu belirlenmiştir ve genom üzerinde her 2000-2500 nükleotitde bir, bireyler arasında farklılıklara neden olan tek nükleotid polimorfizmi (SNP) bulunabileceği öngörülmüştür (17). İnsan genomunda toplamda 10.000.000 civarında SNP olduğu ve bu SNP'lerin 10.000 kadarının farmakogenetikle ilgili olduğu düşünülmektedir (16).

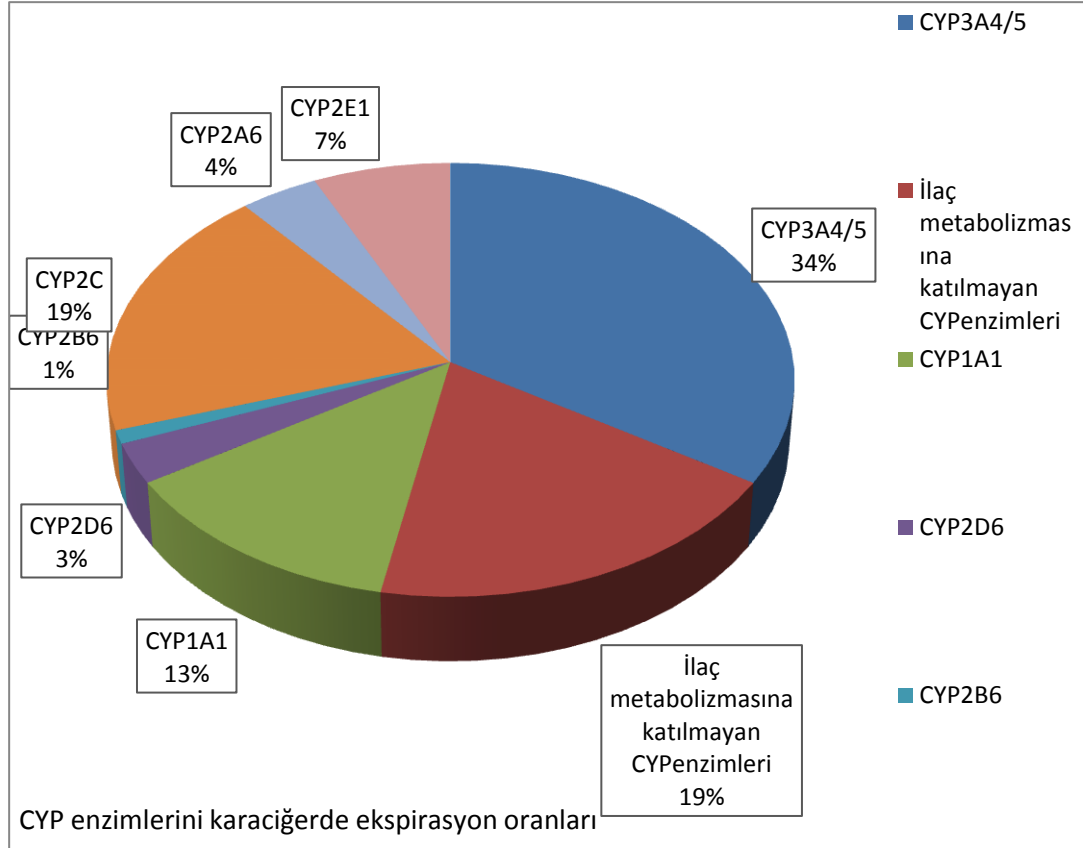
Belli bir kromozom bölgesi (lokus) üzerinde, bilinen DNA dizileri allel olarak adlandırılmıştır. Herhangi bir lokusta toplumdaki sıklığı %1'den fazla tipte olan iki tane allel varsa, bu alleller polimorfik allel olarak adlandırılmaktadırlar (18).

Günümüzde, ilaca karşı verilen yanıtta görülen farklılıklarının %20-40'ından ve ilaç yan etkilerinin de %50 kadarından genetik farklılıklar sorumlu tutulmaktadır. Farmakogenetik farklılıklar poligenik kalıtım göstermektedirler. Poligenik kalıtım modelinde en az iki major gen, ve yüzlerce modifiye edici gen söz konusudur. İnsan genomunda da binlerce metabolize edici gen olduğu düşünülmektedir. Faz1 ve Faz2 enzimlerine ek olarak transport sistemine ve reseptörlere ait genlerde bulunan polimorfizmlerin de ilaç metabolizmasına etkisi olacağı bildirilmiştir (13, 16).

2.2.1CYP450 ve Genetik

Farelerde CYP ile ilgili olarak cDNA klonlama ve sekanslama yöntemleri ile yapılan çalışmalarda, fonksiyonel olduğu varsayılan 102 gen ve ilave olarak 88 psödogen olduğu gösterilmiştir. İnsan genomu üzerinde yapılan CYP çalışmalarında ise 57 fonksiyonel gen olduğu, ayrıca 58 psödogenin bulunduğu gösterilmiştir. CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5 enzimleri ksenobiyotik metabolizmasında önemli görevlere sahiptir. CYP enzimi, karaciğer ve tüm gastrointestinal kanalda ve görece daha düşük yoğunlukta olmak üzere akciğer, böbrek ve santral sinir sisteminde eksprese edilmekle birlikte gastrointestinal sistemden emilen gıda ve ilaçların ilk uğrak yeri olması ve çok yoğun CYP enzimi içermesi dolayısıyla karaciğer, CYP enzimlerinin primer etkinlik gösterdiği organdır. Farklı CYP enzimlerinin farklı ekspresyon göstermesi başlıca diyet ve çevresel faktörlerle indüklenebilir olmasından ve bireyler arasındaki polimorfizm farklılığının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bazı CYP enzimlerinin indüklenebilir (örn; CYP1A1, CYP1A2) olması nedeniyle

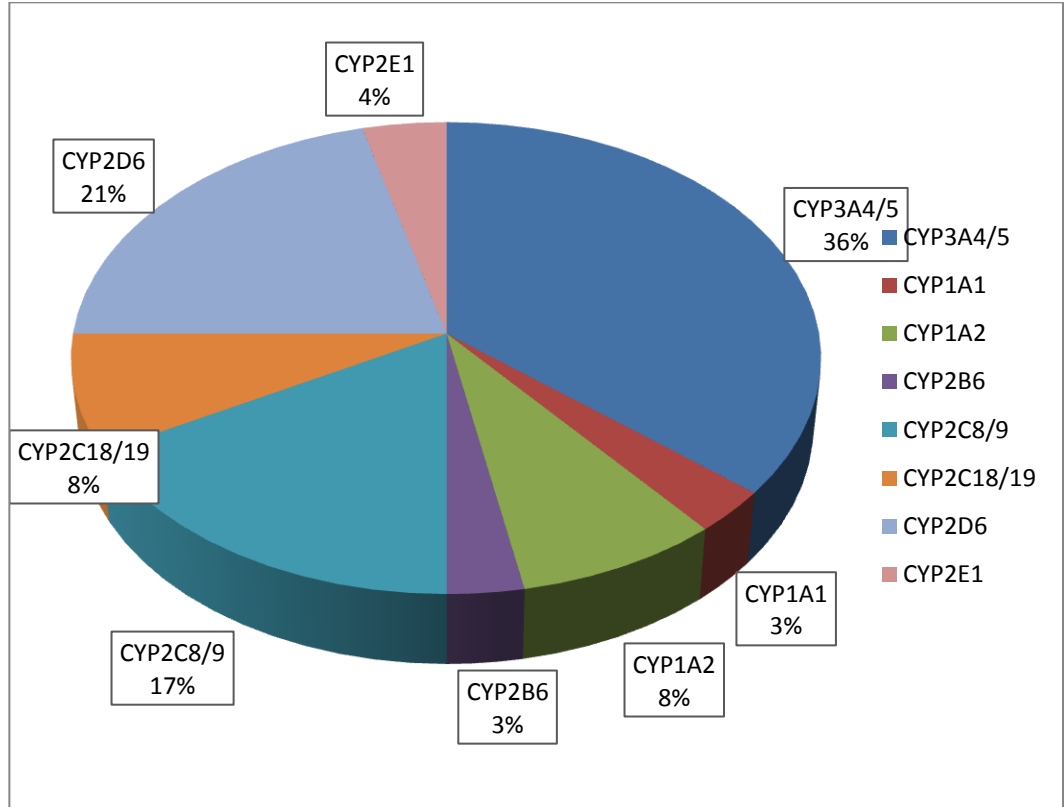
ekspresyon oranları değişiklik gösterebilmekle birlikte yaklaşık olarak karaciğerde ekspresyon oranları *CYP1A1*; % 13, *CYP2D6*; % 3, *CYP1B6*; % 1, *CYP2C*; % 19, *CYP2A6*; % 4, *CYP2E1*; % 7 olarak bildirilmektedir (Şekil:1).



Şekil 2: CYP enzimlerini karaciğerde ekspresyon oranları: Karaciğerde *CYP1A1*; % 13, *CYPD6*; % 3, *CYP1B6*; %1, *CYP2C*; % 19, *CYP2A6*; % 4, *CYP2E1*; % 7 oranında ekspresse edilmektedir.

İlaçların metabolizmasında *CYP2C*, *CYP2D*, *CYP3A* alt aileleri, en aktif CYP enzim gruplarıdır. CYP enzimleri içerisinde *CYP3A4* enzimi ilaç metabolizmasında en aktif olan enzimdir. CYP enzimlerinden başlıcaları olan *CYP3A4/5*; % 36, *CYP2D6*; % 21, *CYP2C8/9*; %17, *CYP2C18/19*; %8, *CYP1A2*; % 8, *CYP2E1*; % 4, *CYP1A1*; %3, *CYP2B6*; %3, oranında ilaç metabolizmasına katılmaktadır (Şekil2). *CYP2D6* enzimi karaciğerde %3 gibi küçük bir oranda ekspresse edilmekle birlikte ilaç metabolizmasında %21 oranında görev almaktadır. *CYP1A*, *CYP1B*, *CYP2A*, *CYP2B* ve *CYP2E*

enzimleri birçok protoksin ve prokarsinojenin en son reaktif metabolitine dönüşümünde görev almakla birlikte terapötik ilaç metabolizmasında çok belirgin bir etkinlik göstermemektedir. Klinik farmakolojik çalışmalar ve insan karaciğer doku örneği ekspresyon analizleri ile CYP enzim aktivitesinin bireyler arasında belirgin farklılık gösterdiği ortaya konmuştur. Bireyler arasında böyle bir farklılık polimorfizme ve diğer bireysel özelliklerin farklı olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (10).



Şekil 3: Karaciğer CYP enzimlerinin ilaç metabolizmasına katılım oranları: CYP23A4/5 % 36; CYP1A1 % 3; CYP1A2 % 8; CYP2B6 % 3; CYP2C8/9 % 17; CYP2C18/19 % 8; CYP2D6 % 21; CYP2E1 % 4 oranında ilaç metabolizmasına katılmaktadır. CYP2D6 enzimi karaciğerde % 3 gibi küçük bir oranda ekspresse edilmekle birlikte ilaç metabolizmasında % 21 oranında görev almaktadır (10).

İnsanda *CYP2A6*, *CYP2C9*, *CYP2C19* ve *CYP2D6* genleri başta olmak üzere bazı CYP genleri yüksek oranda polimorfizm göstermektedir (10, 15).

CYP1B1 ve *CYP3A4* genlerinde ise allelik varyant daha az oranda görülmektedir (10).

2.3. *CYP2D* Gen Ailesi

*CYP*Ailesi, 13 alt gruptan oluşur; 16 normal ve 16 psödogene sahiptir (20). *CYP2D* gen ailesi oldukça homolog olan *CYP2D8P* ile *CYP2D7P* psödo genleri ile *CYP2D6* geninden oluşmaktadır (Şekil 3). Bu ailenin bir üyesi olan *CYP2D6* geni 22q13.1 kromozom bölgesine lokalizedir. Bu genin ürünü olarak 2 izoformu vardır: Birinci izoformu 9 ekzon ve 497 amino asitten oluşurken, ikinci izoformu ise 8 ekzon ve 446 amino asitten oluşmaktadır (2).



Şekil 3. *CYP2D* lokusunda bulunan genler (15). *CYP2D8P* ve *CYP2D7P* genleri psödo genler ve *CYP2D6* geninden oluşmaktadır.

2.3.1. *CYP2D* Lokusunun Evrimi

İnsanlarda kemirgenlerdeki gelişimin aksine, lokusta bulunan 3 gen elimine edilmiştir. İkisinde (*CYP2D7P* ve *CYP2D8P*) tam inaktivasyon ve birinde (*CYP2D6*) parsiyel inaktivasyon gelişmiştir. Etiyopya’da ise bu lokusun Beyaz ırkla karşılaştırıldığında farklı şekilde evrimleşmiş olduğu görülmüştür. Buradaki bireylerde *CYP2D6* lokusunda birden çok gen kopyası içeren alleller oluşmuştur. Bu durumun, nüfusun muhtemelen diyet kaynaklı bir seleksiyon baskısına uğraması sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir (23). Duplikasyon, organizma için direkt bir avantaj sağlıyorsa, o tür içinde yaygınlaşabilmektedir. *CYP2D6*’nın, bu baskıya uğramış ve hayatta kalma, kısmen de besinlerdeki

bileşiklere karşı gösterilen adaptasyona bağlı evrimleşmiş olduğu düşünülmüştür (24). Benzer bir durum böceklerde de görülebilmektedir; izokinolin salgılayan senite kaktüsü ile beslenen *Drosophila* *Mett*'lerde genetik bir yanıt olarak *CYP28* ve *CYP6* enziminin aşırı indüksiyonu izlenebilmektedir. Buna karşın, *Drosophila melanogaster* *CYP* aracılı metabolize edilmesi gereken besinlere adaptasyon gösteremediği için bu ortamda yaşayamamaktadır. Etiyopya örneğinde, *CYP2D6* indüklenebilir bir enzim olmadığı için indüksiyon aracılığı ile besinlere adaptasyonu mümkün olmamıştır. Çözüm olarak, rekombinasyon yerine gen kopya sayı artışı ile yeni alelleri evrimleştirerek adapte olmuş eksik veya inaktif allelleri taşıyan bireylerin yerine duplike ya da multiduplike olan bireyler seçilmiştir (23).

CYP enzimleri yüksek oranda ortak baz dizilimi içermektedir. Yüksek oranda benzer dizilime sahip olmaları ve yüksek oranda polimorfizm göstermeleri, bu enzimlerin ortak bir kökenden kaynaklandıklarını düşündürmektedir. Adlandırılmalarında ve gruplandırılmalarında da enzimlerin bu özelliklerinden faydalanılmıştır. Bu şekilde gruplandırıldıklarında aynı grupta yer alan enzimler daha yüksek oranda ortak baz dizilimine sahip olmaktadır. Gruplar da benzerliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Gruplar birbirlerinden uzaklaştıkça benzerlik azalmaktadır (23). (İnsan *CYP2D* lokusunun evrimi şekil 4'te gösterilmiştir).

metaboliser; PM), orta düzeyde metabolize ediciler (intermediate metabolizer ;IM); hızlı metabolize ediciler (extensive metabolizer; EM) ve aşırı hızlı metabolize ediciler (ultrarapid metabolizer; UM) olarak bireyler gruplandırıldığında farklı toplumlarda farklı oranlarda dağılım gözlenebilmektedir (25). Beyaz ırkta, PM oranı %5-10 civarındadır (19). Klinik olarak PM durumunda olanların kan ilaç seviyelerinin 3-11 kat daha yüksek seviyede olduğu bilinmektedir.(15).

CYP2D6'nın enzimatik reaksiyon sırasında gösterdiği aktivite substrata bağlı olarak değişebilmektedir. Örneğin CYP2D6*17'nin azalmış fonksiyone aktiviteden sorumlu olduğu görülmüştür. Bazı ilaçları örnek vermek gerekirse CYP2D6 ile metabolize olan deksmetorfan, risperidon, kodein ve haloperidol'ün CYP2D6 ile metabolizması sırasında kişiler arasında büyük değişiklikler görülebildiği bildirilmiştir. Klinik sonuçlar CYP2D6 polimorfizminin hem ilaç yan etkilerine hem de değişmiş ilaç yanıtına neden olduğunu göstermiştir. CYP2D6 polimorfizminden etkilenen ilaçlar CYP2D6 ile ya aktif forma dönüşürler ya da atılımları için CYP2D6'ya ihtiyaç duyarlar. Örneğin; enkainidin metabolitleri daha potenttir. Bu durum EM'lerde PM'lere göre kalp kasının gevşeme probleminin elektrokardiyogram bulgusu olan QRS uzamasının daha sık görülmesine neden olmaktadır. Propafonise metabolitlerine göre daha potent bir beta blokerdir. PM'lerde bu ilacın birikimi gözlenebilir ve bu özelliğinden dolayı propafonise, PM'lerde EM'lere göre daha düşük dozlarda etkinlik gösterebilmektedir. Flakainid ise, esas olarak böbreklerden atılan bir moleküldür. Hem R- hem de S-flakainid eşit güçte birer sodyum kanal inhibitörüdür. Bu nedenle CYP2D6 fenotipinin flakainid cevabında etkisi minimumdur.CYP2D6'nın metaprolol etkisi karvedilol, propranolol ve timolole etkisinden çok daha belirgin olduğu için diğer beta-blokerlere göre metaprolol üzerinde CYP polimorfizminin etkisi daha belirgin olacağı düşünülebilir (25).

Tablo 5.CYP2D6 enzimi ile metabolize olan ilaçlar

Psikotropikler	Amfetaminler	Klomipramin
	Amitriptilin	Klorpromazin
	Aripiprazol	Mirtazapin
	Atomoksetin	Nortriptilin
	Benzotropin	Paroksetin
	Desipramin	Perfenazin
	Doksepin	Risperidon
	Duloksetin	Sertralin
	Fluoksetin	Sitolapram
	Fluvoksamin	Tioridazin
	Haloperidol	Venlafaksin
	İmipramin	
Opiatlar	Delesetron	Meksiletin
	Doksorubisin	Metoklopramid
	Enkainid	Oksikodon
	Ektazi	Reglan
	Hidrokodeon	Tramadol
	Kodein	
Antihistaminikler	Difenhidramin	Klorfeniramin
	Hidroksizin	
Beta Blokerler	Karvedilol	Propranolol
	Metoprolol	Timolol
Diğerleri	Fenasetin	Tamoksifen
	Propafenon	Tolterodin
	Ritmol	Tropisetron
	Ranitidin	

CYP2D6 enzim sistemi 70'in üzerinde ilacı metabolize ettiği için klinik olarak önemli bir enzimdir ve bu nedenle, belkide üzerinde en çok çalışılmıştır (26, 15). Opiatlar, nöroleptikler, beta blokerler CYP2D6 enziminin başlıca substratlarıdır (26). CYP2D6 enzim sistemine substrat olan 48'den fazla ilaç tespit edilmiştir (15). CYP2D6 ile metabolize olan ilaçların başlıcaları Tablo 4'te gösterilmiştir (27, 26, 15). CYP2D6 bilinen tüm ilaçların %25'inin metabolizmasından sorumludur (15).

Genotip-fenotip uyumu bize, genetik testlere dayanarak fenotipi tahmin edebilme şansı verebilmektedir. Bu bilgiyle optimal farmakoterapiye ulaşma imkanını sağlanabileceği düşünülmektedir. Genotip-fenotip, gen konsantrasyon ve gen-doza ilişkisi tam olarak netleşmediği için CYP2D6 genotiplendirmesi rutin klinik testler arasında yer almamaktadır. CYP2D6 bağımlı ilaçlarla ilgili prospektif çalışmalarının artması, geniş toplumlarda genotip-fenotip çalışmalarının yapılabilmesini mümkün kılacaktır (25).

Çok sayıda aktif allele sahip kişiler ilaçları daha az sayıda allele sahip kişilere göre daha hızlı metabolize ettikleri için bu kişilerde kullanılan standart ilaç dozu ile istenilen etkiye ulaşamayabilmektedir. Aktif CYP2D6 allelleri eksik olan bireylerde ise ilgili substratların daha yavaş metabolize edilmeleri sonucunda başta entoksikasyon gibi birçok advers ilaç reaksiyonu ile karşılaşılabilir. Bu ilaçların kullanımını daha güvenli hale getirebilmek için, ilaçların klirensini belirlemede metabolizmalarından sorumlu CYP2D6enzimi genotiplendirmesinin faydalı olduğu gösterilmiştir. Terapötik indeksi nisbeten dar olan ve kan düzeylerinde oldukça belirgin kişisel farklılıklar görülen antidepresanlar (desigamin, fluvoksamin, meksiletin, mianserin, nortriptilin, piroksenin), nöroleptikler (perfenazin ve ziklopentiksol) ve kompetitif muskarinik reseptör antagonisti tolterodine gibi ilaçları kullanması gereken olgularda CYP2D6 enzim genotiplendirmesinin tedavide kullanılacak dozun belirlenmesinde büyük kolaylık sağlayabileceği düşünülmektedir (28). Bazı yayınlarda da, hastalara standart bir dozun verilmesi yerine metabolizma hızlarına göre ayarlanmış dozlarının verilmesi önerilmiştir. Bu yönde yapılan bir çalışmada bildirilen yeni doz önerileri sunulmuştur. Yayında CYP2D6 polimorfizmine göre yapılan PM, IM, EM, UM

fenotipleri için standart ilaç miktarı yüz kabul edilerek önerilen antidepresanlar için doz oranları antidepresanlar için Tablo 5’te antipsikotikler için ise Tablo 6’da sunulmuştur. Buna göre PM bireylerde her iki Tabloda bulunan tüm ilaçlar için önemli ölçüde doz azaltılması önerilmiştir (15).

Tablo 6. CYP2D6 fenotipe göre bazı antidepresanlar için önerilen doz oranları tablosu. PM: zayıf metabolizer, IM: azalmış metabolizer, EM: normal metabolizer, UM: hızlı metabolizer.

Antidepresanlar	PM	IM	EM	UM
İmipramin	30	75	130	180
Doksepin	35	77	120	170
Meprotilin	35	77	120	170
Trimipramin	37	83	125	175
Desipramin	40	76	117	165
Nortriptilin	48	90	115	155
Klomipramin	60	85	112	145
Paroksetin	65	90	108	143
Venlafaksin	68	85	105	130
Amitriptilin	70	90	105	135
Mianserin	70	87	110	135

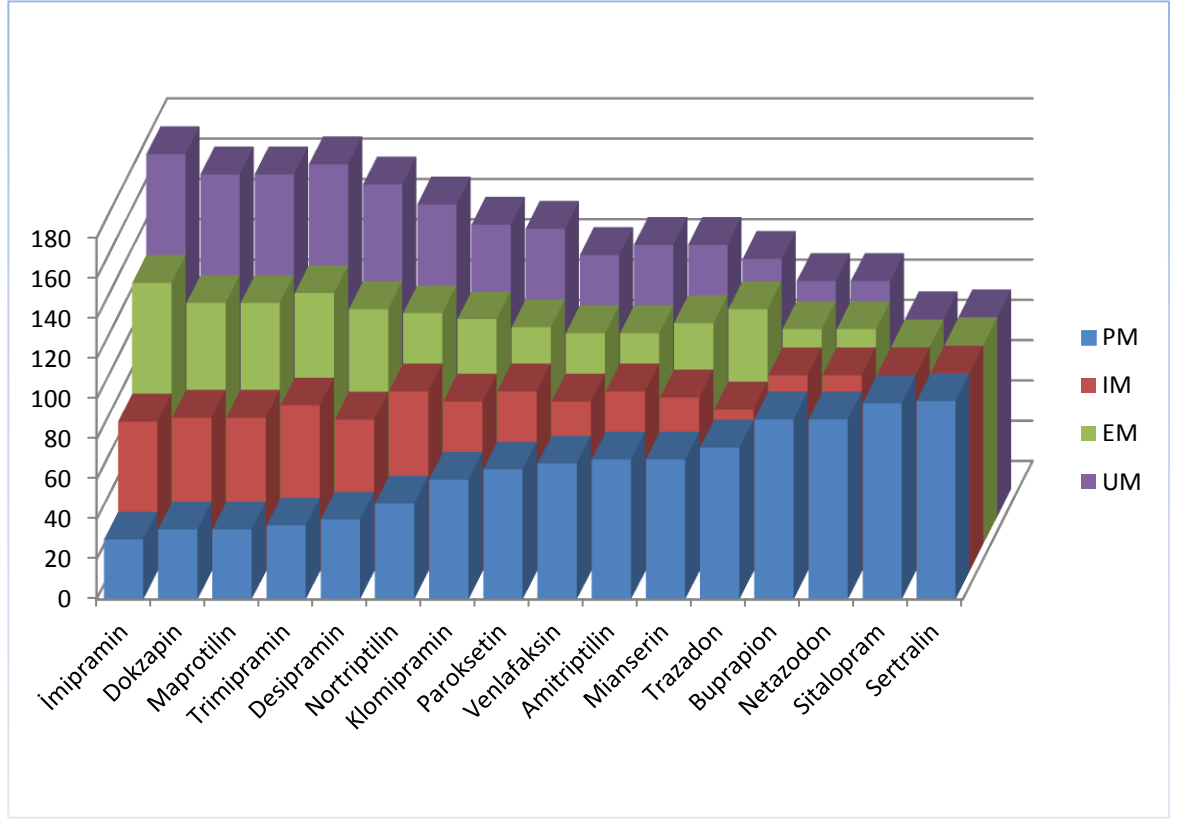
Tablo 7. CYP2D6 fenotipe göre bazı antipsikotikler için önerilen doz oranları tablosu. PM: zayıf metabolizer, IM: azalmış metabolizer, EM: normal metabolizer, UM: hızlı metabolizer.

Antipsikotikler	PM	IM	EM	UM
Perfenazin	30	80	130	170
Tioridazin	37	82	127	165
Olanzapin	50	100	120	155
Zuklopentiksol	55	85	115	142
Aripiprazol	60	85	112	130
Flupentiksol	68	80	117	135
Haloperidol	67	90	108	126

PM’lerde CYP2D6 ile metabolize olan ilaçların standart dozlarda kullanımı durumunda plazma seviyesinin aşırı yükselmesi nedeniyle yan etki sıklıkla görülebilmektedir. Kodein ve tramadol gibi ön ilaçların etkinliği ise, CYP2D6 enzimi ile aktivasyon gerektirdiği için enzim eksikliği durumunda azalabilmektedir (15).

CYP enzimi ile metabolize olmalarına rağmen doz ayarlamasına ihtiyaç göstermeyen ilaçlar piyasada daha fazla tercih edilmektedirler. Bu nedenle ilaç geliştirme çalışmalarında doz ayarlamasına gerek bırakmayan, farklı enzimlerle metabolize olan ilaçların geliştirilmesi hedeflenmektedir.

PM fenotip beyaz ırkta %1-10 arası bildirilmiştir. İmipraminin %1-10 arasında bireylerde istenilen serum ilaç seviyesinin istenilenin üzerinde seyretmesi beklebilir. Bu durum istenmeyen ilaç etkisi (İİE) için risk taşımaktadır. Beyaz ırkta UM birey sıklığı %1-5 arasında bildirilmektedir, bu bireylerde etkisiz kalma riski mevcuttur. Be nedenle sertralin ve sitalopram gibi metabolizma hızından etkilenmeyen ilaçlar imipramin gibi kişiler arasında farklı doz gerektiren ilaçlara karşı tercih üstünlüğü elde etmektedirler. Önerilen ilaç dozlarının metabolizma hızına göre gösterdiği değişiklikler görsel olarak ta (şekil 5) gösterilmiştir.



Şekil 5. Seçilen antipsikotik ilaçların CYP2D6 farmakokinetiğine göre yüzde olarak ayarlanmış dozları (15). Sağ tarafta bulunan sertralin ve sitalopram için doz değişikliği önerilmezken sola doğru geldikçe bireyler arasında önerilen doz aralığı açılmaktadır. En sağda bulunan İmipramin için PM ile UM birey arasında önerin dozlar arasındaki fark altı kata ulaşmaktadır.

Sitokrom P450 enzimleri piyasada satılan ilaçların %40-45'inin metabolizmasından ve yine bu ilaçların faz 1 ile metabolize olanlarının % 70-80'inin metabolizmasından sorumludur (4). CYP450 enzimleri: Alınan ilacın aktif veya inaktif forma dönüşüm oranını ile ilaç ve metabolitlerinin vücutta ulaşacakları konsantrasyon miktarını, ayrıca ilaçların ve metabolitlerinin eliminasyon oranını belirlemektedir.

2.3.3. CYP2D6 Geni ile İlişkili Hastalıklar

Son yıllarda bazı hastalıklar ile CYP2D6 fenotipi veya allel sıklıkları birbirleriyle ilişkili bulunmuştur. Bu hastalıklardan bazıları Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, çeşitli kanser türleri, epilepsi, sistemik lupus eritematozis, ve Balkan nefropatisidir. Bunun nedeni olarak, CYP2D6 prokarsinojenlerin karsijone dönüşümünde metabolik yolda rol oynayabileceği ya da protoonkogenlerin onkogenlere dönüşmesinde henüz bilinmeyen bir mekanizma ile rol alıyor olabileceği düşünülmüştür (29). PM fenotipin Parkinson hastalığına duyarlılık oluşturabileceği bildirilmiştir. Son zamanlarda bu durumu açıklamaya yönelik bir mekanizma ileri sürülmüştür. Laboratuvar sonuçlarına dayanarak 1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetrahidropiridin (MPTP) ile Parkinson hastalığı benzeri sendroma yol açabileceği ileri sürülmüştür. MPTP monoamin oksidaz B ile aktive edilerek toksik metaboliti olan 1- fenil -4 fenil piridin (MPP⁺) dönüşmektedir. CYP2D6 enziminin oluşan bu toksik metaboliti N-demetilasyon yolu ile toksik olmayan ve ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilen bir ara ürüne çevirerek nöroprotektif özellik gösterdiği düşünülmüştür. PM fenotipli bireylerde CYP2D6 gerektiği gibi fonksiyon gösteremeyeceği için Parkinson hastalığı açısından risk artışı olabileceği öne sürülmüştür. Aynı zamanda, CYP2D6 enzimi için PM fenotipindeki bireylerin bazı kanser türleri açısından da daha düşük risk taşıdıkları düşünülmektedir. Bir dizi çalışmada, kanser hastalarında kontrol gruplarına göre belirgin şekilde daha az PM fenotip olduğu gösterilmiştir. Bu durumun, PM bireylerin prokarsinojenleri karsinojene çevirme yeteneklerinin EM fenotipli bireylere göre daha zayıf olması sonucunda daha az karsinojen oluşturabildikleri ve sonucunda daha az karsinojene maruz kaldıkları için gerçekleştiği öne sürülmüştür. Tablo 7’de CYP2D6 fenotipi ile ilişkilendirilmiş bazı hastalıklar sunulmuştur (29). Tabloda gösterildiği gibi bazı çalışmalar bazı hastalıklar için risk oluşturduğunu gösteriyorken bazı çalışmalar risk artışı tespit etmemiştir. Aynı hastalığa ait artmış ve etkisiz yazıları farklı çalışma sonuçlarını göstermektedir.

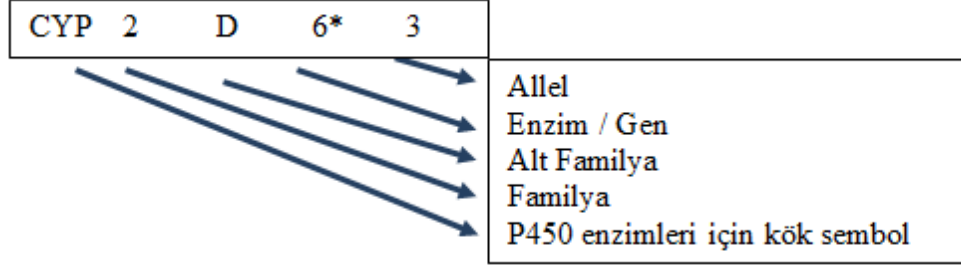
Tablo 8.CYP2D6 fenotipi ile ilişkili hastalık ve risk durumu

Fenotip	Durum	Risk
<i>CYP2D6</i> PM	Sistemik Lupus Eritematozis	Artmış
	Epilepsi	Artmış
	Alzheimer hastalığı	Artmış
		Etkisiz
	Parkinson hastalığı	Artmış
		Etkisiz
<i>CYP2D6</i> EM	Akciğer kanseri	Artmış
	Mesane kanseri	Artmış
	Hepatoselüler karsinoma	Artmış
		Etkisiz
	Kolon kanseri	Artmış
	Balkan nefropati	Artmış

CYP2D6 enziminin varlığı ya da yokluğunun, kişilik yapısını ve besin seçimini ve hastalık duyarlılığını değiştirebileceğine dair yayınlar da bulunmaktadır (14).

2.3.4. *CYP2D6* geni ve adlandırılması

CYP2D6 polimorfizmini göstermek için genotip-fenotip ilişkileri dikkate alınarak uluslararası terminoloji kılavuzu oluşturulmuştur. Bu terminolojiye göre, allellerin *CYP2D6*'yı takip eden bir yıldız (*) ile farklılıkları ifade edilir (30, 14).



Şekil 6. CYP2D6 genlerinin adlandırılması (26)

Dizin değişikliğine sahip allellerin her bir alt üyesi, allel numarasının yanına getirilen bir harf ile birbirlerinden ayırt edilmektedir (Örnek: CYP2D6*4A) (31). Alt gruplar büyük harf ile gösterilmektedir (14). bazı CYP polimorfizmleri tablo 8’de gösterilmiştir.

CYP2D6 enzimini kodlayan genin 100’den fazla farklı allele sahip olduğu tespit edilmiştir (32). Bu alleller, bir veya daha fazla sayıda nokta mutasyonu, delesyon, insersiyon, duplikasyon ve multi duplikasyonlar içerebilir (30). Bu mutasyonların, enzim aktivitesini engellemediği durumlar olduğu gibi, düşük aktiviteli veya yüksek aktiviteli enzim üretimi ile sonuçlanması da mümkündür. Örneğin; CYP2D6*3 alleli, 5. ekzonda 2549 A delesyonu sebebiyle inaktif bir enzim üretimi yapmaktadır. CYP2D6*4 alleli, genin 4. ekzonunda 1846 G>A transversiyonu sonucu inaktif bir enzim üretmektedir. CYP2D6*5 alleli, tüm genin delesyona uğradığı ve enzimin hiç üretilmediği bir alleldir. CYP2D6*6 ise 3. ekzonda 1707 T delesyonu sonucu inaktif enzim üretir ve o da zayıf metabolize edicilerin yer aldığı gruptadır (3).

Tablo 9.CYP enziminin bazı polimorfizmlerin şematik gösterimi.

Allel	584 C>G	100 C>T	1661 G>C	1707 delT	1846 G>A	2549 delA	2850 C>T	2988 G>A	4180 G>C
*1	Yabanıl tip								
*2	X		X				+		X
*3						+			
*4		X	X		+				X
*5	delesyon								
*6				+					
*10		+	X						X

Not: + işareti genotipleme için kullanılan tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) temsil etmektedir. X, *CYP2D6* allellerinde mevcut bazı SNP değişikliklerine ait haplotip polimorfizmini temsil etmektedir. Bu değişimler adlandırılmada kullanılmamaktadır (3).

2.3.5. *CYP2D6* allelleri

CYP2D6 geni 22. kromozomun q13.1 bölgesinde lokalizeve iki tane (*CYP2D7* ve *CYP2D8*) psödo-gen ile birlikte bu lokusta bulunmaktadır(2). Çok benzer ve yakın psödogenler sayesinde mutasyonlar daha kolay oluşabilmektedir. Eşit olmayan crossing over oluşması durumunda çok sayıda varyant *CYP2D6* alleli oluşabilmektedir. Böylece defektif gen kodlayan yeni bir kodon üretilebilmektedir. *CYP2C* odağı ile karşılaştırıldığında *CYP2D* lokusunun aktivitesinin çok yüksek olması, çok sayıda varyant allelin daha kısa bir süre içinde oluşmasına yol açabildiği görülmektedir (24).

CYP2D6 genine ait alleller belirlenmiştir (3). Bu alleller, normal, azalmış, artmış ve fonksiyonel aktivitesi olmayanlar olmak üzere sınıflandırılmaktadır (4). Beyaz ırkta en sık görülen *CYP2D6* alleleri; *2,*3,*4,*5,*6,*10 ve *41 olarak bildirilmiştir. Afrikalılarda *2 ve *17 sık görülürken Asyalılarda *10 ve *36 alleleri sık olarak görülmüştür (2).

CYP2D6 allel dağılımı etnik özelliklere göre farklılıklar göstermekte ve beraberinde kullanılan bazı ilaçlar (*CYP2D6* inhibitörleri gibi) enzimin aktivitesini etkileyebilmektedir (20). Tüm varyant alleller human *CYP* allele nomenclature committee (<http://www.imm.ki.se/cypalleles/cyp2d6.htm>) ana sayfasında sunulmuştur.

Tablo 10.Fonksiyon Durumuna Göre Allel Dağılımı

Fonksiyon durumu	Alleller	Metabolizma durumu	<i>CYP2D6</i> allel skoru
Fonksiyonel ya da yabanıl tip alleller	*1, *2, *33, *35	EM	1
substrat bağımlı ya da azalmış aktivite gösteren alleller	*10, *17, *37, *9, *29, *41, *45, *46	IM	0,5
Saptanabilen bir aktiviteye sahip enzim üretmeyen alleller	*3-*8, *11-*16, *18-*20, *36, *38, *40, *42, *44, *56, *4xN	PM	0
Artmış aktivite	*1xN, *2xN, *35xN	UM	2

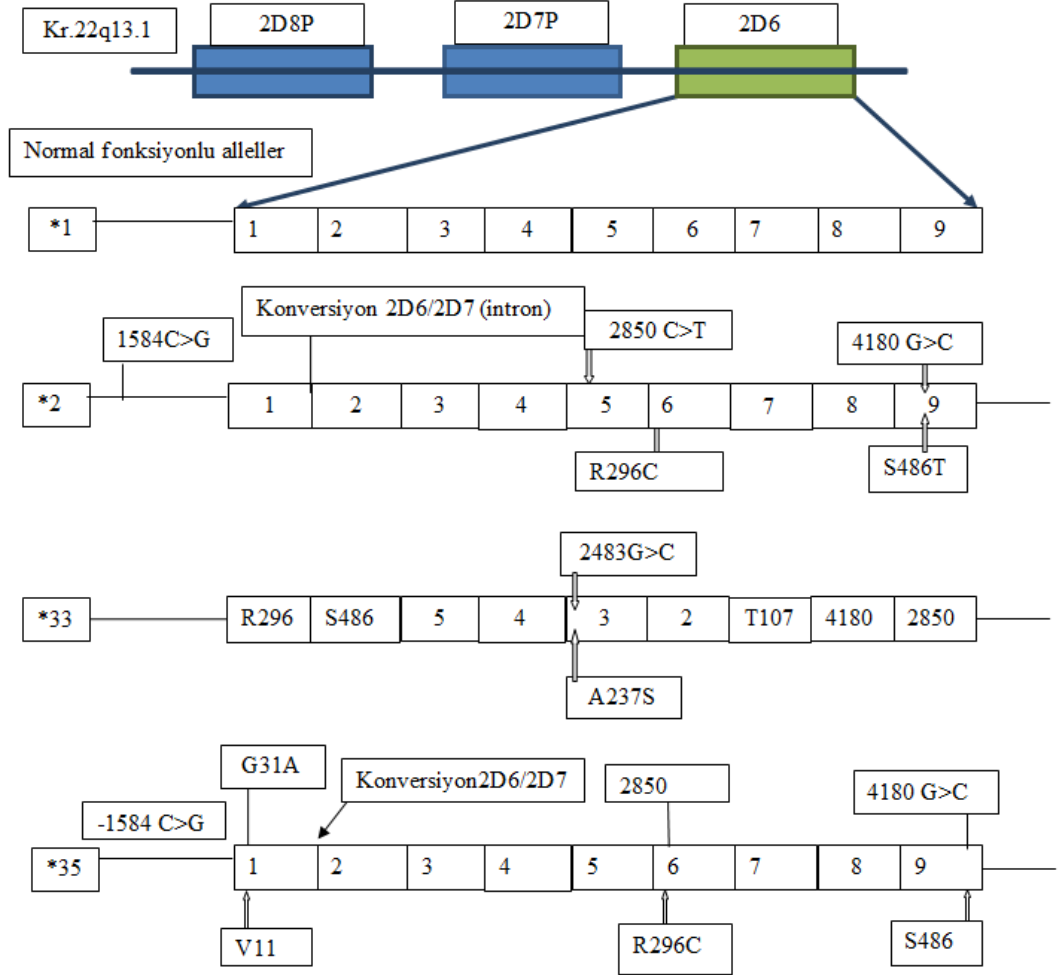
Günümüzde 74 allelik varyant ve subvaryant serileri bildirilmiştir ve bu sayı giderek artmaktadır. En önemli allel varyantları; *2, *3, *4, *5, *10, *17 ve *41 olarak kabul edilmektedir (3, 22). Aşağıdaki tabloda fonksiyon durumuna göre alleller gruplandırılmıştır.

2.3.5.1. Normal Metabolize Edici Alleller

İki aktif alleli olan ya da biri aktif diğer alleli kısmi aktif allele sahip olan bireyler normal metabolize ediciler olarak adlandırılmaktadır (3, 14, 22). EM fenotipine sahip olabilmeleri için en az bir tane taşımaları gereken normal aktivite gösterdiği kabul edilen alleller fonksiyonel ya da yabanıl tip alleller olarak adlandırılmaktadır. *CYP2D6**1, *2, *33 *35 allelleri yabanıl tip olarak bildirilmiş allellerdir (3, 22, 14).

Allellerin adlandırılmasında kullanılan mutasyonun yanında adlandırılmada kullanılmayan varyant olarak değerlendirilmelerine neden olan değişimler de bildirilmiştir. Şekil 8’de *2 ve *35 alleleline ait çok sayıda varyant olduğu görülmektedir (3, 22, 14).

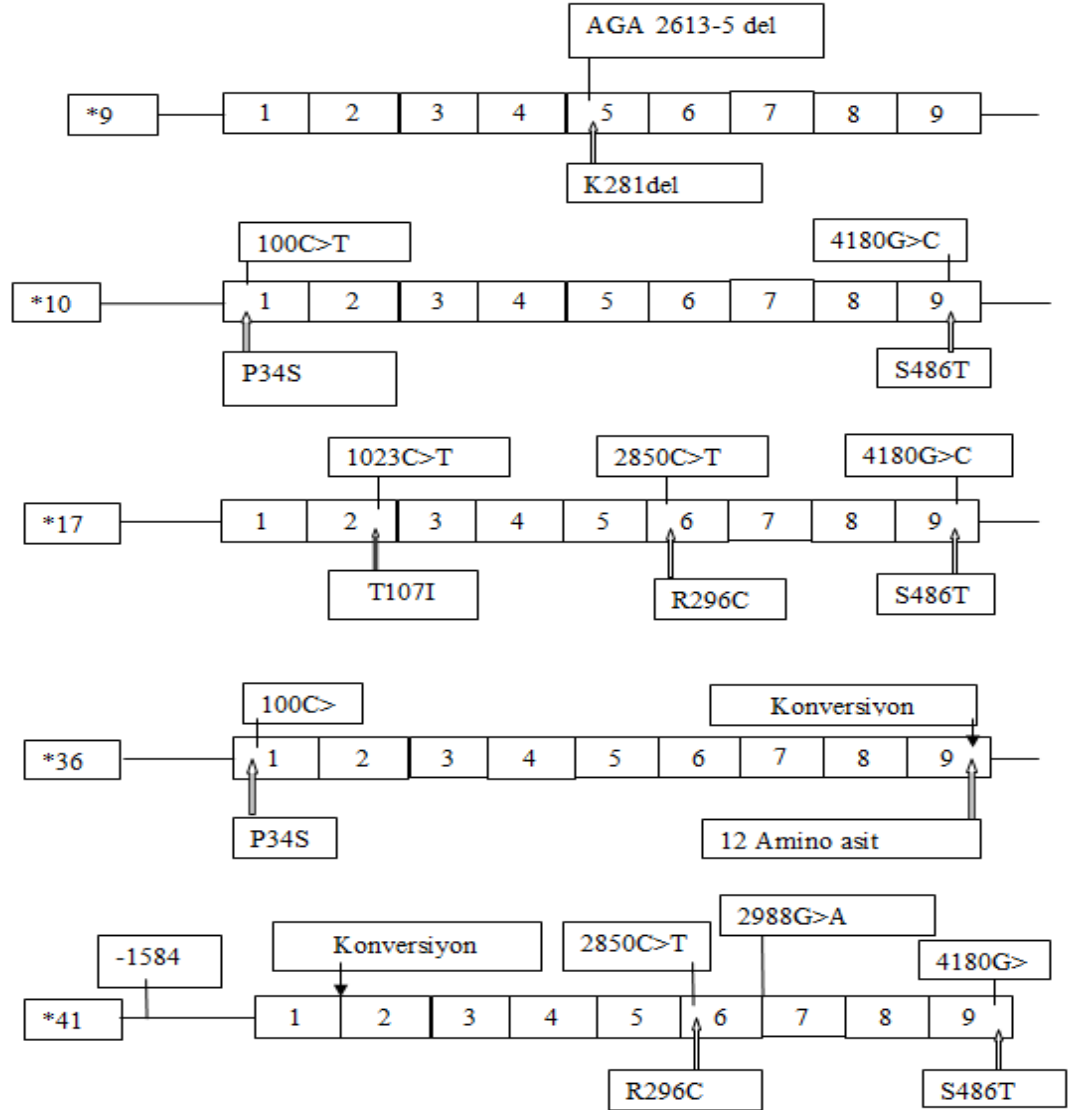
Her ne kadar *2, *33, *35 allelleri EM kabul edilsede halen enzim aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmalar devam etmektedir ve bazı çalışmalar farklı kabul edilebilmektedir (34, 35, 36).



Şekil 7. Normal fonksiyonlu alleller. Genel kabule göre *1, *2, *33, *35 allelleri fonksiyonları *1 ile eşdeğer kabul edilebilir. Bazı yazarlar ise *2 allelini IM allel olarak değerlendirmekle birlikte, genel kabul EM allel olduğu yönündedir. *1 alleli yabancı tip kabul edilir. *2 alleli beşinci ekzonda gösterilen 2850C>T değişimi adlandırılmasında kullanılan değişimdir. Gösterilen diğer değişimler varyant olarak kabul edilmekte ve adlandırılmada kullanılmamaktadır. *35 alleleline ait çok sayıda varyant bildirilmiştir. Şekilde sessiz mutasyonlar, fonksiyon göstermeyen promotor ve intronik bölge polimorfizmleri gösterilmemiştir (37).

2.3.5.2. Orta düzeyde metabolize ediciler

Bir aktif ve bir inaktif alleli olan ya da iki kısmi allele sahip olan bireyler orta düzeyde metabolize ediciler olarak adlandırılmaktadırlar. Yeterli tedavi cevabı için bu grup hastalarda ilaç dozu standart dozdan daha az kullanılabileceği ön görülmektedir. Yine bu gruptaki hastalar için ön ilaçların dozunun yeniden düzenlenmesi ya da alternatif bir tedavi seçeneği üzerinde durulması gereği bazı yayınlarda vurgulanmıştır. Bu alleller substrat bağımlı ya da azalmış aktivite gösteren allellerdir. Başlıca kısmen aktif alleller: *CYP2D6* *9, *10, *17, *36 *41 dir (3, 14, 15,22). Sarı ırkta görülen *10 alleli yabanıl tip allele kıyaslanabilecek kadar sık olarak görülmektedir. Bu durum sarı ırkın ilaç metabolize etme hızını beyaz ırka göre azaltmaktadır (35).



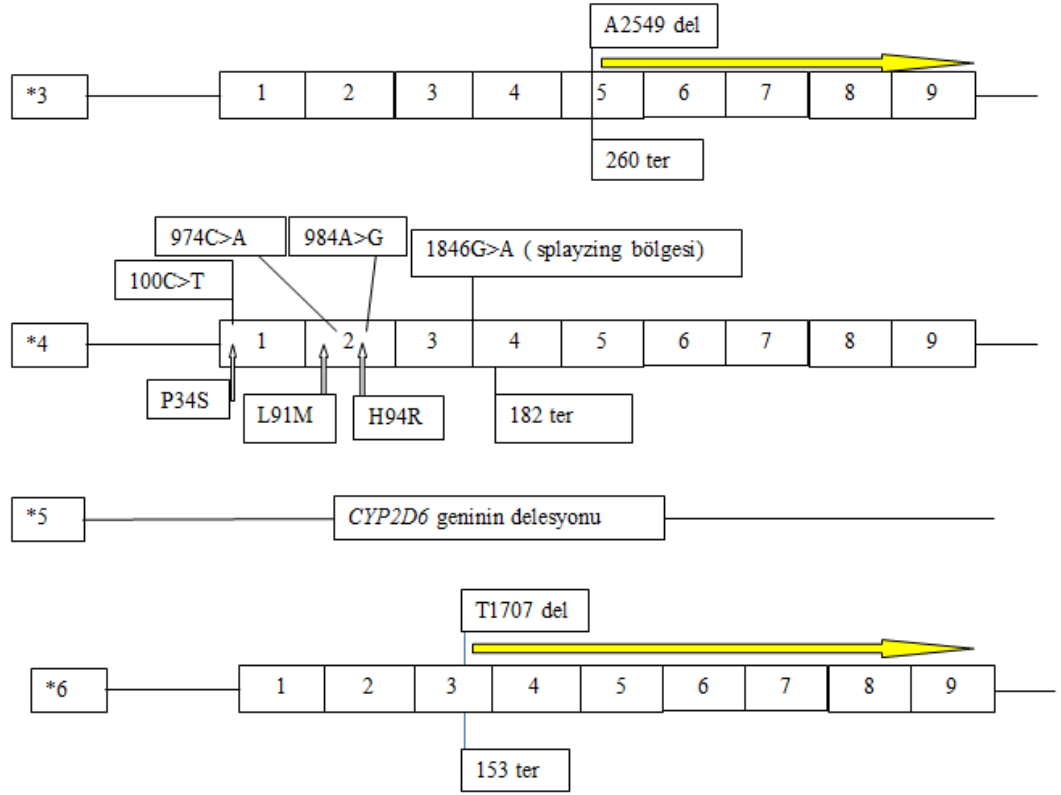
Şekil 8. Azalmış Fonksiyonlu Alleller.Kısmi aktif alleller de denilmektedir. Başlıcaları *9, *10, *17, *36 ve *41 dir. Sarı ırkta en yaygın allel olması nedeniyle *10 en çok çalışılan alleldir. 1. ekzonunda yer alan 100C>T değişimi adlandırılmasında kullanılmaktadır. Varyantına ait değişim 9. ekzonda gösterilmiştir. Diğer IM allellere ait pek çok varyant gösterilmekle birlikte sessiz mutasyonlar, fonksiyon göstermeyen promotor ve intronik bölge polimorfizmleri gösterilmemiştir (37).

2.3.5.3. Zayıf Metabolize Ediciler

Bu gruptaki hastalarda aktif bir CYP2D6 alleli yoktur ve ilaçların ve vücuda alındıktan sonra aktif forma dönüşen (ön ilaç) ilaçların (ilacın metabolizmasının yavaşlaması nedeniyle ön ilaç birikimine bağlı) yan etkileri artmıştır. Null alleller ya fonksiyonel bir enzim kodlamaz ya da kodladıkları enzimin saptanabilen bir rezidüel enzimatik aktivitesi bulunmadığı görülmüştür. Bu alleller homozigot veya bileşik heterozigot olmaları durumunda PM fenotipinden sorumlu olabilmektedirler. Bu alleller, ilaç klirensinin ve ilaç cevabının değişmesine neden oldukları için klinik olarak önemlidirler. Bu gruptaki hastalarda alternatif bir tedavi seçeneği değerlendirilmelidir. Bildirilen başlıca inaktif alleller *CYP2D6**3, *4, *5, *6, *7, *8, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *18, *19, *20, *21, *38, *40, *42, *44, *56 ve *62 allelleridir (3, 22, 14).

Başlıca PM alleller şekil 10'da gösterilmiştir. Bu allellerden *4 %20 oranı ile beyaz ırkta en sık görülen alleldir. PM fenotipin *CYP2D6**3, *4, *5, *6 allellerine bakılarak %70-80 oranında tespit edilebileceği bildirilmiştir. Kalan %20-30'luk oran için ise diğer nadir görülen fonksiyon göstermeyen diğer allelerin tespit edilmesi önerilmektedir (34).

Bu allellerden *3 (A2549 del) ve *6 (T1707) allelleri isimlendirme bölgesinde delesyona uğramıştır, *5 allelinde ise tüm genin yokluğu söz konusudur. Beyaz ırkta en sık görülen allel olan *4 1846G>A değişimi ile adlandırılmakla birlikte pekçok varyanta sahiptir ve bu varyantlar şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Zayıf Metabolize Ediciler. Başlıcaları *3, *4, *5 ve *6'dır. Bu allelelere PM alleller denilmekle birlikte herhangi bir enzimatik aktivite göstermemektedirler. Bu nedenle bazı kaynaklar "poor" ifadesini kullanmakla birlikte bazı kaynaklarda kullanılan "null" ifadesi daha doğru olabilir. En sık görülen *3, *4, *5 ve *6 alleli ile PM bireylerin %70-80 oranında tespit edilebileceği bildirilmiştir (34). *3 alleli (260 ter.) ve *6 alleli (153 ter) şekilde gösterilen noktalardan itibaren delesyona uğramıştır, *5 allelinde ise genin tamamı delesyona uğramıştır. *4 allelinde ise 1846G>A değişimi adlandırılmasında kullanılmaktadır. Şekilde çok sayıda varyantı gösterilmiş, ancak sessiz mutasyonlar, fonksiyon göstermeyen promotor ve intronik bölge polimorfizmleri gösterilmemiştir (37).

2.3.5.4. Hızlı metabolize ediciler

Aktif allel sayısındaki artışlar UM fenotipe neden olur. Bu kişilerde, artmış ilaç eliminasyon hızları nedeniyle tedavide başarısızlık riski 20 kat artar ve aktif ilaç metabolitlerinin hızla artması nedeniyle yan etki riskinde artış görülür. Standart ilaç dozlarında yanıt alınamayabilir. Tedavide yüksek doz ilaca gerek duyulabilir. Yan etkilerin önlenmesi için ise daha düşük doz kullanılmalıdır. Bir aktif allelin duplikasyona uğraması nedeniyle 3 ya da daha fazla aktif CYP2D6 allelini içerirler (37). UM bireylerin sıklığı beyaz ırk'ta %1-5, sarı ırkta %0-2, siyah ırkta %2, Etiyopyalılar ve Suudi Arabistanlı'larda %10-16 oranında bildirilmiştir. Bu oran batı toplumlarında %5.45'tir (15). Türk Toplumunda ise %4 olarak bildirilmiştir (6) UM fenotipi (şekil 10) şematik gösterimi aşağıdadır.

Gen Duplikasyonu: CYP2D6 *1xN, *2xN, *35xN (3, 22,25).



Şekil 10. Hızlı Metabolize Ediciler (EM). Yabancı tip allel ve eş aktivite gösterdiği düşünülen allerin bir bireyde ikiden fazla sayıda bulunması ile artan ekspresyona bağlı olarak bireyin metabolizma hızı artmaktadır. Etiyopyada ikiden fazla allel taşıyan bireylerin diğer toplumlardan daha sık görüldüğü ve bunun çevresel başlı sonucu oluşmuş bir seçilmeye bağlı olabileceği bildirilmiştir (23, 37).

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ve Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi

2.4.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR, tüm genomik DNA dizilerinin heterojen bir şekilde bulunduğu bir DNA kaynağından hedeflenen DNA dizilerinin seçici olarak in vitro çoğaltılmasında kullanılan hızlı ve çok yönlü bir metottur. Hedeflenen DNA bölgeleri diziye özgü primerler aracılığıyla çoğaltılır. Denatüre olmuş DNA'ya primerlerin bağlanmasını takiben reaksiyonun oluşması ve devamı için gerekli bileşenlerin (Taq DNA polimeraz, deoksi nükleosid trifosfat (dNTP), Mg^{++}) varlığında, hedef bölgenin sentezi başlar ve devam eder. Oluşan yeni DNA'lar bir sonraki reaksiyon için kalıp görevi görür. Yaklaşık 25 döngü sonrası hedef DNA 10^{6-12} kez çoğaltılmış olur (38).

2.4.2 Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi

DNA'da restriksiyon enzimleri için spesifik tanıma bölgeleri vardır. Genomik DNA'daki dizi değişimleri belli tanıma bölgelerinin oluşmasına ya da yok olmasına yol açacaktır. Bu sayede oluşan bir ya da daha fazla DNA parçasının uzunluğu değişik olacaktır. Bu parçaların agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi bireyin genotipinin belirlenmesini sağlayacaktır. Bu metotbüyük oranda SNP'lerin belirlenmesinde kullanılmaktadır (39).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastaların Seçimi

Bu tez çalışmasına, Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) ön tanısıyla mutasyon analizi yapılması amacıyla polikliniğimize gönderilen ve analiz sonucunda mutasyon tespit edilmemiş 200 birey dâhil edilmiştir. Çalışmanın etik kurul izni, 13.06.2012 tarihli ve 220 karar no'su ile alınmıştır. Hastaların çalışmaya dâhil edilme ve edilmeme kriterleri aşağıdaki tabloda verilmiştir. Kişilerin seçiminde çalışma grubu için DNA'nın başka bir çalışmada kullanılmasına izin veren bireylerin DNA'sı çalışmaya alındı. Bu bireyler FMF hastalığı riski taşıdıkları için akraba olanların alınmamasına özen gösterildi.

Tablo 11. Çalışmamıza katılan bireylerin dahil edilme ve dışlanma kriterleri

Dahil edilme kriterleri	Dışlama kriterleri
FMF mutasyon analizi normal olarak tespit edilen bireyler	FMF mutasyon analizinde mutasyon tespit edilen bireyler

3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler, Sarf Malzemeler ve Cihazlar

AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences, Çin)

Steril distile su (Biochrom, Almanya)

10X Buffer (Fermentas, ABD)

MgCl₂ (25 mM) (Fermentas, ABD)

dNTP (10mM) (Fermentas, ABD)
Primer çifti (10 pmol) (Alpha DNA, Kanada)
Taq DNA polimeraz (5U/μl) (HotStartTaq) (Dr. Zeydanlı, Türkiye)
50 bp DNA Ladder (Fermentas, ABD)
100 bp DNA Ladder (Fermentas, ABD)
pBR322/Hae III Marker DNA (Bioron, Almanya)
FspI (500 units, 5000 u/ml) (Bioron, Almanya)
Neb4 tamponu (10X)(Bioron, Almanya)
Bpu10I (1000 units, 5000 u/ml) (Bioron, Almanya)
Neb3 tamponu (Bioron, Almanya)
BstNI(4500 units, 12 u/μl) (Bioron, Almanya)
Tampon M (Bioron, Almanya)
Acc65I(2000 units, 10000 u/ml)(Bioron, Almanya)
Neb3 tamponu (Bioron, Almanya)
10XTBE buffer (tris-borik asit-EDTA) (Gibco, İngiltere)
Agaroz (Prona, İspanya)
Yükleme boyası (Orange Loading dye) (Dr. Zeydanlı, Türkiye)
Ethidium bromür (EtBr) (AppliChem, Almanya)

10μl steril pipet ucu (Axygene Scientific, ABD)
100μl steril pipet ucu (Axygene Scientific, ABD)
1000 μl steril pipet ucu (Axygene Scientific, ABD)
1000 ml mezür (Borucam, İstanbul, Türkiye)
0,2 ml PCR tüpleri (Axygen Scientific, ABD)
0,5 ml PCR tüpleri (Axygen Scientific, ABD)
1,5 ml PCR tüpleri (Axygen Scientific, ABD)
Otomatik pipet seti (Gilson, Fransa)

Mikrodalga fırın (MD 554,Arçelik)
Yatay elektroforez tankı (Apollo,75, 1214, ABD)
Güç Kaynağı (Labnet, Power Station 3000, ABD)

Jel görüntüleme cihazı (Syngene, Ingenius, İngiltere)

Vorteks (Combi-Spin Boeco, Almanya)

Termal döngü cihazı (Applied Biosystems, GeneAmp PCR System 9700, ABD)

Etüv (Sanyo Incubator, MIR 162, Japonya)

Pastör fırını (Memmert, ABD)

3.3. DNA İzolasyonu

3.3.1. Spin Kolon Yöntemi ile Periferik Kandan DNA İzolasyonu

AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences, Çin)'i ile

1. 1,5 ml'lik mikrofüj tüpüne 500 µl buffer AP1 konuldu.
2. Üzerine 200-250 µl kan örneği eklendi. Mikrofüj tüpünün kapagı kapatıldı ve maksimum hızda 10 sn vortekslendi.
3. Üzerine 100 µl buffer AP2 ilave edildi ve maksimum hızda 10 saniye daha vortekslendi. Spin kolonlara (Axygen Scientific, ABD) aktarıldı.
4. 12000 rpm'de 10 dakika ortam sıcaklığında santrifüj edilerek hücresel artıkların pellet oluşturması sağlandı.
5. 2 ml mikrofüj tüpü içerisine miniprep kolon yerleştirildi. 4. adımdaki işlemde sonra belirginleşen supernatant miniprep kolonlara aktarıldı. 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
6. 2 ml mikrofüj tüpünün altındaki süzölmüş sıvı boşaltıldı. Miniprep kolon 2 ml mikrofüj tüpüne tekrar yerleştirildi. Önceden etanol eklenmiş 700 µl W1A miniprep kolonların üzerine eklendi ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
7. Mikrofüj tüpünün altına süzülen sıvı boşaltıldı. Miniprep kolon 2 ml mikrofüj tüpüne tekrar yerleştirildi. 800 µl buffer W2 miniprep kolonun üzerine eklendi ve 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
8. Mikrofüj tüpünün altına süzülen sıvı boşaltıldı. Miniprep kolon 2 ml mikrofüj tüpüne tekrar yerleştirildi. 500 µl buffer W2 miniprep kolonun üzerine eklendi ve

12000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Böylece buffer W2 ile iki kez yıkanarak tuzların daha iyi uzaklaştırılması sağlandı ve enzimatik reaksiyonlar sırasında bu nedenle oluşabilecek problemler elimine edildi.

9. Mikrofüj tüpünün altına süzülen sıvı boşaltıldı. Miniprep kolon 2 ml mikrofüj tüpüne tekrar yerleştirildi ve 12000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. 10. Miniprep kolon 1.5 ml’lik mikrofüj tüpüne yerleştirildi. Önceden 65 °C ye ısıtılmış 80-200 µl buffer TE eklendi. Bir dakika oda sıcaklığında bekletildi. 12000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilerek genomik DNA elde edildi.

10. Miniprep kolon 1.5 ml’lik mikrofüj tüpüne yerleştirildi. Önceden 65 °C ye ısıtılmış 80-200 µl buffer TE eklendi. Bir dakika oda sıcaklığında bekletildi. 12000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilerek genomik DNA elde edildi.

3.3.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

DNA izolasyonu yapılan örneklerle ait konsantrasyon, spektrofotometre (Nanodrop ND-1000, ABD) cihazı ile ölçüldü. Ölçülen DNA’ların iyi olma kriteri 260/280 degerine (1,6-1,9) ve optik dansitesine göre (30-70 ng/µl) değerlendirildi.

3.4. İncelenen Polimorfizmler için Tasarlanan Primer Dizileri

Hedef bölgeleri çoğaltmak için kullanılan primer dizileri aşağıda belirtilmiştir.

*CYP2D6*2* allelinde 2850C>T (R296C) (TGC-CGC) yanlış anlamlı mutasyonu belirlemek için;

İleri primer 5’-CTGACAGGTGCAGAATTGGAG-3’ ve

Geri primer 5’-CATCCCGGCAGAGAACAG-3’ primer çifti

*CYP2D6*3* allelinde 2549delA (c.622delA/rs35742686) delesyonunu belirlemek için;

İleri primer 5’-GGATGAGCTGCTAACTGAGCtC -3’ ve

Geri primer 5’- GCCTCCCCTCATTCCTCCT -3’ primer çifti

*CYP2D6*4* allelinde 1846G>A (c.353-1G>A/rs3892097) yanlış anlamlı mutasyonunu belirlemek için;

İleri primer 5'-GTGGGTGATGGGCAGAAAG -3' ve

Geri primer 5'- GAGGGAGGCGATCACGTT -3' primer çifti

*CYP2D6*10* allelinde 100C>T (P34S) CCA-TCA yanlış anlamlı mutasyonunu belirlemek için;

İleri primer 5'- CAACGCTGGGCTGCACGgT -3' ve

Geri primer 5'- GGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGG -3' primer çifti kullanılmıştır.

3.5. PZR Optimizasyonu

Hasta DNA'ları ile çalışmaya başlamadan önce, daha önceden çalıştığı bilinen bir kontrol DNA'sı ile primerlerin doğru bağlanma sıcaklığı optimize edilmiş ve kullanılan kimyasal reaktiflerin çalıştığı belirlenmiştir. Bu basamaktan sonra çalışmaya dâhil edilen 200 DNA örneği ile reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Aşağıda reaksiyon ve termal döngü cihazı koşulları verilmiştir. Tablo 31 ve 32 için termal döngü koşulları şekil 11, 12, 13 ve 14'te verilmiştir.

Tablo 12.CYP2D6*2, *3, *4 PZR reaksiyonu için kullanılan malzemeler

Kullanılan reaktifler	Miktar (µl)
Steril distile su	16,2
10XBuffer	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1.5
dNTP miks (her biri için 10 Mm)	0,5
Forward primer (10 pmol)	0,5
Reverse primer (10 pmol)	0,5
<i>Taq DNA polimeraz</i> (5u/µl) (HotStartTaq)	0,3
DNA (100 ng/µl)	3
Toplam hacim	25

Tablo 13.CYP2D6*10 PZR reaksiyonu için kullanılan malzemeler

Kullanılan reaktifler	Miktar (μl)
Steril distile su	14,9
10XBuffer	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	2.5
dNTP miks (her biri için 10 Mm)	0,8
Forward primer (10 pmol)	0,5
Reverse primer (10 pmol)	0,5
<i>Taq DNA polimeraz</i> (5u/μl) (HotStartTaq)	0,3
DNA (100 ng/μl)	3
Toplam hacim	25

3.5.1. PZR Örneğinin Hazırlanması

Her bir örnek için 0,2 ml' lik PZR tüpleri içine, steril distile su, 10 pmol forward/reverse primer (0,5 μl) , 0,3 μl Tag DNA Polimeraz enzimi(0,1 μl) ve 10X tampon solüsyonu, 10 mmol dNTP(1,5 μl), 75 mmol MgCl₂, 10X tampon solüsyonu ve üzerine genomik DNA (150 ng) konuldu.

3.5.2. PZR Aşamaları

Ekzon 2, 3, 4 ve 5 ve 6'ya ait PZR asamaları Şekil 9, 10, 11 ve 12'de gösterilmiştir. Elde edilen tüm PZR amplifikasyon ürünleri agaroz jelde kontrol edilmiştir. Termal döngü şartları şekil 11, 12, 13 ve 14'te gösterilmiştir.

95 °C	10 dakika	HotStartTaq aktivasyonu	
95 °C	30 saniye	Ayrılma (Denatürasyon)	} 35 döngü
61 °C	30 saniye	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72 °C	30 saniye	Uzama (Extension)	
72 °C	7 dakika	Final	
12 °C	∞		

Şekil 11. CYP2D6*2 alleli için hazırlanan PZR döngü programı

*3 PCR:

95 °C	10 dakika	HotStartTaq aktivasyonu	
95 °C	30 saniye	Ayrılma (Denatürasyon)	} 35 döngü
60 °C	30 saniye	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72 °C	30 saniye	Uzama (Extension)	
72 °C	7 dakika	Final	
12 °C	∞		

Şekil 12. CYP2D6*3alleli için hazırlanan PZR döngü programı

95 °C	10 dakika	HotStartTaq aktivasyonu	
95 °C	30 saniye	Ayrılma (Denatürasyon)	} 35 döngü
60 °C	30 saniye	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72 °C	30 saniye	Uzama (Extension)	
72 °C	7 dakika	Final	
12 °C	∞		

Şekil 13. CYP2D6*4 alleli için hazırlanan PZR döngü programı

95 °C 10 dakika	HotStartTaq aktivasyonu	
95 °C 45 saniye	Ayrılma (Denatürasyon)	} 35 döngü
68 °C 45 saniye	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72 °C 45 saniye	Uzama (Extension)	
72 °C 7 dakika	Final	
12 °C ∞		

Şekil 14. CYP2D6*10alleli için hazırlanan PZR döngü programı

3.6. Amplifikasyon Sonrası Çoğaltılmış Ürünlerin Kontrolü

PCR reaksiyonunun sonucunda elde edilen ürünlerin kontrolü, %2'lik agaroz jelde elektroforeze yapılarak değerlendirilmiştir

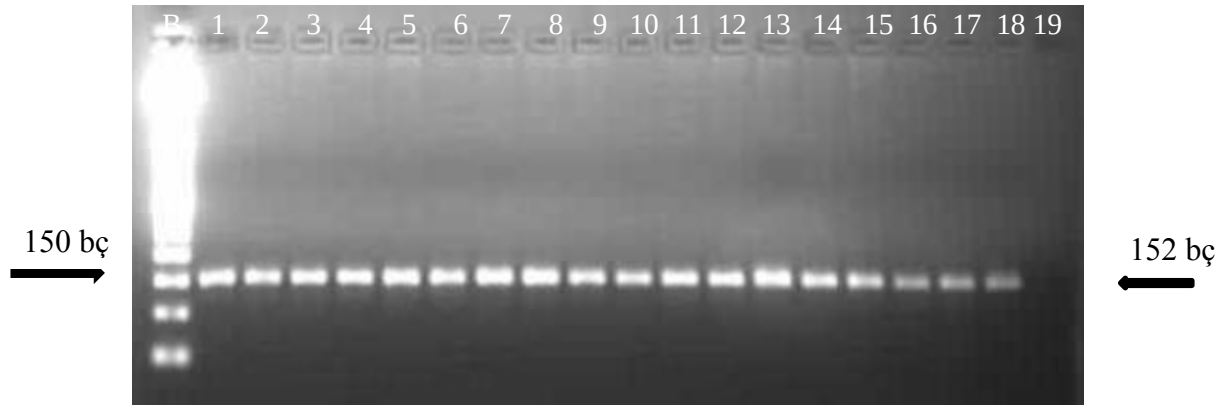
3.6.1. Agaroz Jelin Hazırlanışı

Agaroz jel için, 2 gr agaroz tartılıp üzerine 100 ml 1XTBE buffer eklenerek mikrodalga fırında 360 Watt'ta 4 dakika ısıtma işlemi uygulanmıştır. Distile suda eriyen agaroz sonucu oluşan yoğun kıvamlı sıvı biraz soğutulduktan sonra üzerine 10 µl EtBr eklenerek iyice karıştırılmıştır. Daha önceden hazırlanmış olan jel traye kabarcık oluşturmayacak şekilde dökülmüştür. Polimerizasyon için yaklaşık olarak 15-20 dakika beklendikten sonra oluşan jel yatay jel elektroforez tankına alınmış, üzerine jeli kapatacak kadar 1XTBE buffer ilave edilmiştir. PCR sonucu oluşan ürünlerden 5 µl alınıp, 3 µl yükleme boyası ile karıştırıldıktan sonra jele yüklenmiştir. Jele eş zamanlı olarak moleküler ağırlık belirteci (50 bp, 100bp ve pBR322) de yüklenmiştir. Jel, 120 voltta 30 dakika yürütüldükten sonra UV (ultraviyole) altında görüntülenerek değerlendirilmiştir.

3.6.2. PZR Ürünlerinin Değerlendirilmesi

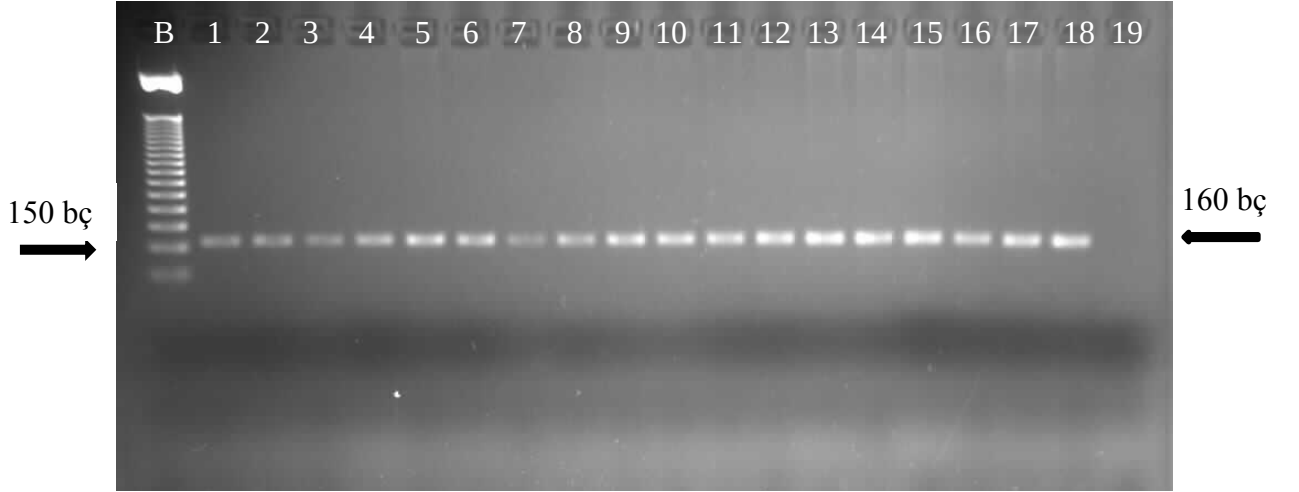
PZR işlemi sonrası, PZR ürünlerinin istenilen bölgede olup olmadığını ve PZR ürününün enzim kesimi için istenilen kalitede olup olmadığını kontrol etmek amacıyla her bir PZR ürünü DNA molekül ağırlığı belirteçleri ile birlikte jelde görüntülenmiştir. PZR ürünlerine ait örnek jel görüntüleri aşağıda (resim 1, 2, 3, 4) verilmiştir.

3.6.2.1. *CYP2D6**2 PZR Ürününün Değerlendirilmesi



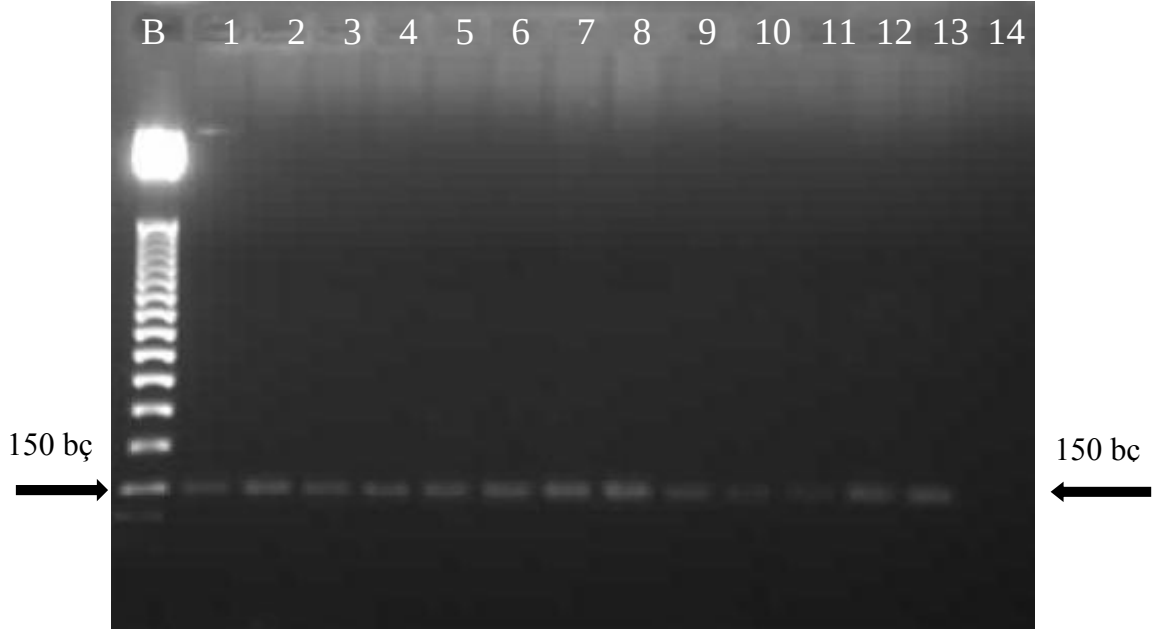
Resim 1. *CYP2D6* *2 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü. Soldaki kuyuda 50 bp'lik DNA molekül ağırlığı belirteci izlenmektedir (B). Bunu izleyen kuyularda (1-18) hastaların 152 bp'lik PZR ürünü izlenmektedir. Son kuyuya (19) ise negatif kontrol yüklenmiştir.

3.6.2.2. *CYP2D6**3 PZR ürününün değerdendirmesi



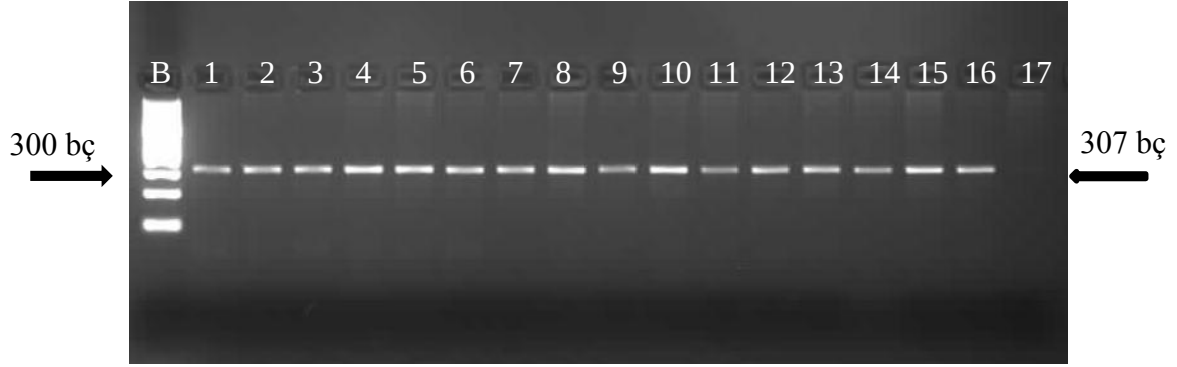
Resim 2. *CYP2D6* *3 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü. Soldaki kuyuda 50 bç’lik DNA molekül ağırlığı belirteci (B) izlenmektedir. Bunu izleyen kuyularda (1-18) hastaların 160 bç’lik PZR ürünü izlenmektedir. Son kuyuda (19) negatif kontrol yüklenmiştir.

3.6.2.3. *CYP2D6**4 PZR ürününün değeriendirilmesi:



Resim 3. *CYP2D6* *4 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü. Soldaki kuyuda 50 bç’lik DNA molekül ağırlığı belirteci (B) izlenmektedir. Bunu izleyen kuyularda (1-13) hastaların 150 bç’lik PZR ürünü izlenmektedir. Son kuyuda (14) negatif kontrol yüklenmiştir.

3.6.2.4. *CYP2D6**10 PZR ürünü değerlendirmesi



Resim 4. *CYP2D6**10 allel bölgesine ait PZR ürününün jeldeki görüntüsü. Soldaki kuyuda 100 bç'lik DNA molekül ağırlığı belirteci (B) izlenmektedir. Bunu izleyen kuyularda (1-16) hastaların 307 bç'lik PZR ürünü izlenmektedir. Son kuyuda (17) negatif kontrol yüklenmiştir.

3.7. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesimi

3.7.1. *FspI* Enzimi ile Kesim

3.7.1.1. *CYP2D6* geni*2 alleli

CYP2D6 geni *2 bölgesindeki 2850C>T (R296C) TGC-CGC yanlış anlamlı mutasyonunu tanımlamak için, özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 152 bç'lik hedef gen bölgesi *FspI* restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. *FspI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir(40).



Şekil 15. *FspI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi

3.7.1.2. Deneyin Yapılışı

0.2 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite FspI restriksiyon enzimi eklendi. Karışım 37°C'lik etüvde bir gece (16 saat) inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü ile 3 µl Bromfenol mavisi ile karıştırılarak %3'lük agaroz jele yüklendi. %3'lik agaroz jelde pBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PZR ürünü eşliğinde 120 dakika 120 V sabit akımda yürütülüp ultraviyole ışık altında incelenip fotoğrafı çekildi.

3.7.2. *Bpu10I* Enzimi ile Kesim

3.7.2.1. *CYP2D6* geni*3 alleli

CYP2D6 geni *3 bölgesindeki 2549delA (c.622delA) delesyonunu tanımlamak için, özgül primerler (rs35742686) kullanılarak çoğaltılan 160 bp'lik hedef gen bölgesi *Bpu10I* restriksiyon enzimi ile kesildi. *Bpu10I* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir (41).



Şekil 16. *Bpu10I* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi

3.7.2. 2. Deneyin Yapılışı

0.2 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite *Bpu10I* restriksiyon enzimi eklendi. Karışım 37°C'lik etüvde bir gece (16 saat)

inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü ile 3 µl Bromfenol mavisi ile karıştırılarak %3'lük agaroz jele yüklendi. %3'lük agaroz jelde PBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PZR ürünü eşliğinde 120 dakika 120 V sabit akımda yürütülüp ultraviyole lamba altında incelenip fotoğrafı çekildi.

3.7.3. *CYP2D6* geni *4 alleli

CYP2D6 geni *4 bölgesindeki 1846G>A (c.353-1G>A) yanlış anlamlı mutasyonu tanımlamak için, özgül primerler (rs3892097) kullanılarak çoğaltılan 150 bp'lik hedef gen bölgesi *Bst*NI restriksiyon enzimi ile kesildi. *Bst*NI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir (42).



Şekil 17. *Bst*NI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi

3.7.3.1 Deneyin Yapılışı

0.2 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite *Bst*NI restriksiyon enzimi eklendi. Karışım 60°C'lik etüvde bir gece (16 saat) inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü ile 3 µl Bromfenol mavisi ile karıştırılarak %3'lük agaroz jele yüklendi. %3'lük agaroz jelde PBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PZR ürünü eşliğinde 120 dakika 120 V sabit akımda yürütülüp ultraviyole ışık altında incelenip fotoğrafı çekildi.

3.7.4. CYP2D6 geni *10 alleli

CYP2D6 geni *10 bölgesindeki 100C>T (P34S) CCA-TCA yanlış anlamlı mutasyonunu tanımlamak için, özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 307 bp'lik hedef gen bölgesi Acc65I restriksiyon enzimi ile kesildi. Acc65I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir (43)



Şekil 18. Acc65I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi

3.7.4.1. Deneyin Yapılışı

0.2 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite Acc65I restriksiyon enzimi eklendi. Karışım 37°C'lik etüvde bir gece (16 saat) inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü ile 3 µl Bromfenol mavisi ile karıştırılarak %3'lük agaroz jele yüklendi. %3'lik agaroz jelde PBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PZR ürünü eşliğinde 120 dakika 120 V sabit akımda yürütülüp ultraviyole ışık altında incelenip fotoğrafı çekildi.

3.8 İstatistiksel Yöntem

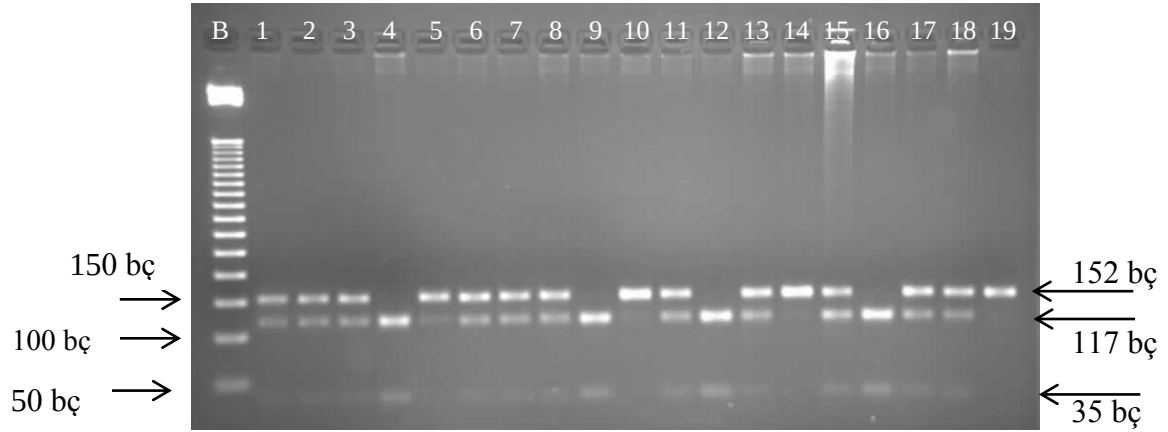
CYP2D6*2,*3,*4 ve *10 allellerine ait genotiplerin istatistiksel karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı, p değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. CYP2D6 Gen Polimorfizmleri

4.1.1 CYP2D6 geni *2 alleli yanlış anlamlı mutasyonunun değerlendirilmesi

Belirtilen şartlara göre gerçekleştirilen PZR sonrasında 152 bç uzunluğunda bir amplifikasyon ürünü elde edildi. PZR ürünü *FspI* restriksiyon enzimi ile kesildi. 117 ve 35 bç.'lik iki adet bant görüldüğünde C alleli, kesim olmadığında ise (152 bç) T alleli olarak isimlendirilmiştir. Agaroz jelde elde edilen bantlara göre örneklerle ait analiz sonuçlarımızın bazıları resim 5'te gösterilmiştir.



Resim 5. *2 enzim kesimi. Özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 152 bç'lik hedef gen bölgesi *FspI* restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Soldaki kuyuda 50 bç'lik DNA molekül ağırlığı belirteci (B) izlenmektedir. Bunu izleyen kuyularda bireylerin 152 bç'lik PZR ürününün *FspI* restriksiyon enzimi ile kesilme işlemine tabi tutulmuş hali izlenmektedir. 152 bç'lik PZR ürününü *2 allelini (T alleli), 117 ve 35 bç'lik iki adet bant ise C (yabanıl tip / enzim kesim bölgesinin korunduğu) alleli (4, 9, 12, 16), her üç bant bölgesinin görülmesi ise heterozigot durumu temsil etmektedir (1-3, 5-8, 10-11, 13, 15, 17-18). Son kuyuda PZR kontrolü (19) görülmektedir.

Tablo 14.CYP2D6*2 allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.

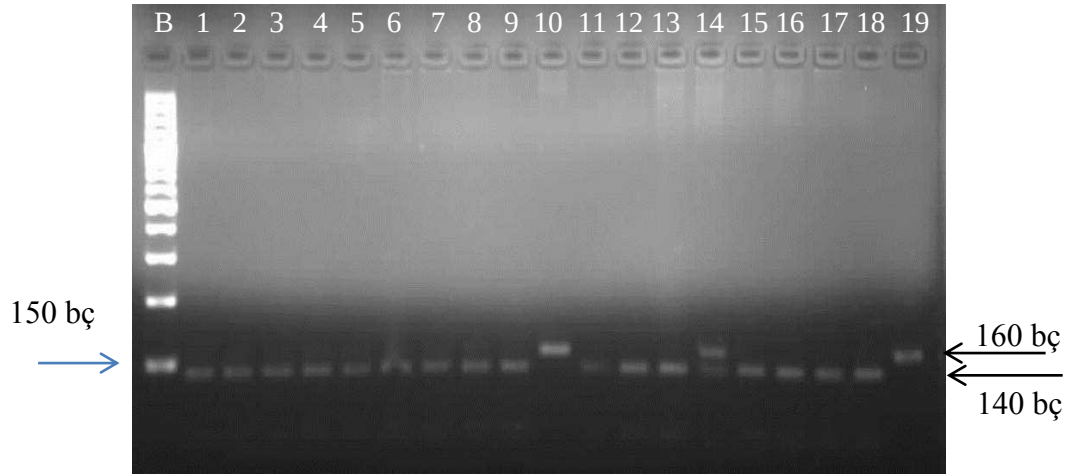
Kişi sayısı	CC	CT	TT	p
Kadın (100)	42	48	10	0,905
Erkek (100)	39	50	11	
Toplam (200)	81	98	21	

Tablo 15.CYP2D6*2 allelinin allel sıklığı.

Allel sıklığı	C	T
Kadın	0,66	0,34
Erkek	0,64	0,36
Toplam	0,65	0,35

4.1.2. *CYP2D6* geni *3 alleli için 2549delA delesyonunun değerlendirilmesi

Belirtilen şartlara göre gerçekleştirilen PZR sonrasında 160 bp uzunluğunda bir amplifikasyon ürünü elde edildi. PZR ürünü Bpu10I restriksiyon enzimi ile kesildi. 140 ve 20 bp lik iki adet bant görüldüğünde yabancı tip, kesim olmadığında ise (160 bp) delesyon olarak isimlendirilmiştir. Agaroz jelde elde edilen bantlara göre aşağıdaki genotipler belirlendi:



Resim 6. *3 alleli için enzim kesimi: Özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 160 bç'lik hedef gen bölgesi Bpu10I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Soldaki kuyuda 50 bç'lik DNA molekül ağırlığı belirteci (B) izlenmektedir. Bunu izleyen kuyularda hastaların 160 bç'lik PZR ürününün Bpu10I restriksiyon enzimi ile kesilme işlemine tabi tutulmuş hali izlenmektedir. 160 bç'lik PZR ürününü *3 allelini (delA alleli) (10), 140 ve 20 bç.'lik iki adet bant yabancı tip (enzim kesim bölgesinin korunduğu) alleli (1-9,11-13,15-18),(20 bç'lik bant bölgesi gösterilememiştir) her üç bant bölgesinin görülmesi ise heterozigot durumu temsil etmektedir (14). Son kuyuda PZR kontrolü (19) görülmektedir.

Tablo 16. CYP2D6*3 (rs35742686) allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.

Kişi Sayısı	Y	delA/Y	delA/delA	p
Kadın (100)	94	6	0	0,035
Erkek (100)	84	15	21	0,0238*
Toplam (100)	178	21	1	

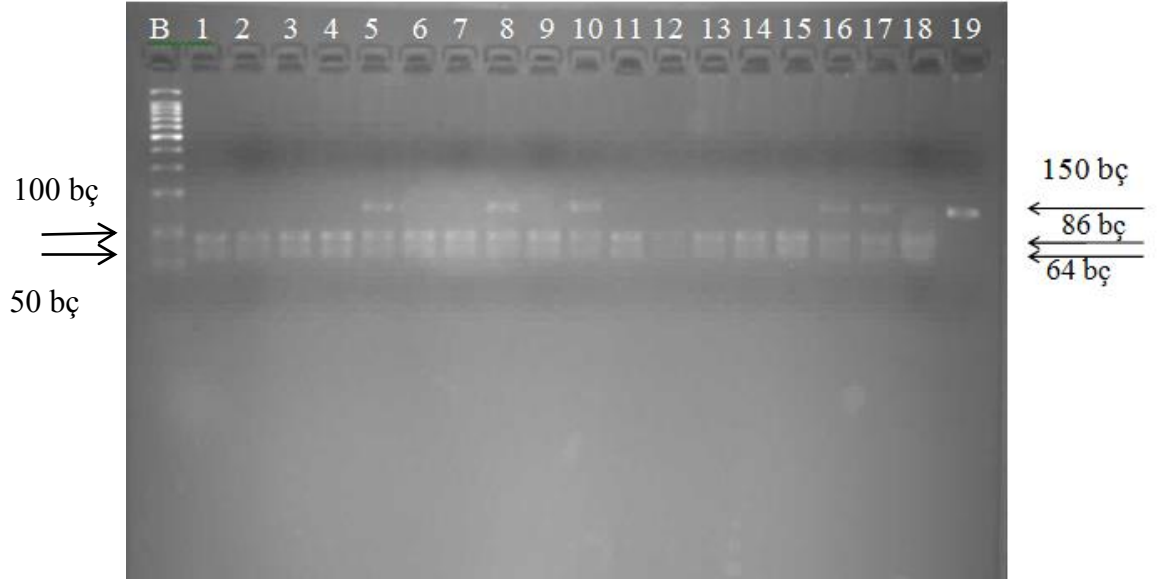
p=0,0238 değeri homozigot yabancı alellere karşılık homozigot delA ve heterozigot delA allelelerine göre hesaplanmıştır.

Tablo 17. CYP2D6*3 allelinin allel sıklığı.

Allel sıklığı	Y	delA
Kadın	0,97	0,03
Erkek	0,91	0,09
Toplam	0,94	0,06

4.1.3 *CYP2D6* geni *4 alleli için 1846G>A yanlış anlamlı mutasyonunun değerlendirilmesi

Belirtilen şartlara göre gerçekleştirilen PZR sonrasında 150 bç uzunluğunda bir amplifikasyon ürünü elde edildi. PZR ürünü *BstNI* restriksiyon enzimi ile kesildi. 86 ve 64 bç'lik iki adet bant görüldüğünde G alleli, kesim olmadığında ise (150 bç) A alleli olarak isimlendirilmiştir. Agaroz jelde elde edilen bantlara göre aşağıdaki genotipler belirlendi:



Resim 7. *4 alleli için enzim kesimi:Özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 150 bç'lik hedef gen bölgesi BstNI restriksiyon enzimi ile kesilmiştir Soldaki kuyuda 50 bç'lik DNA molekül ağırlığı belirteci izlenmektedir (B). Bunu izleyen kuyularda bireylerin 150 bç'lik PZR ürününün BstNI restriksiyon enzimi ile kesilme işlemine tabi tutulmuş hali izlenmektedir. 150 bç'lik PZR ürününü *4 (AA) allelini 86 ve 64 bç lik iki adet bant görüldüğünde yabancı tip (GG) alleli (1-4, 6-7, 9, 11-15, 18), her üç bant bölgesinin görülmesi ise heterozigot durumu (5, 8, 10, 16-17) temsil etmektedir. Son kuyuda PZR kontrolü (19) görülmektedir.

Tablo 18. CYP2D6*4 (rs3892097) allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.

	GG	GA	AA	p
Kadın	80	20	0	0,858
Erkek	81	19	0	
Toplam	161	39	0	

Tablo 19. CYP2D6*4 (rs3892097) allelinin allel sıklığı.

Allel sıklığı	G	A
Kadın	0,9	0,1
Erkek	0,9	0,1
Toplam	0,9	0,1

4.1.4. *CYP2D6* geni *10 alleli için 100C>T (P34S) CCA-TCA yanlış anlamlı mutasyonunu değerlendirilmesi

Belirtilen şartlara göre gerçekleştirilen PZR sonrasında 307 bp uzunluğunda bir amplifikasyon ürünü elde edildi. PZR ürünü Acc65I restriksiyon enzimi ile kesildi. 290 ve 17 bp'lık iki adet bant görüldüğünde C alleli, kesim olmadığında ise (307 bp) T alleli olarak isimlendirilmiştir. Agaroz jelde elde edilen bantlara göre aşağıdaki genotipler belirlendi:



Resim 8. *10 alleli için enzim kesimi: Özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 307 bç'lik hedef gen bölgesi Acc65I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. PZR ürününün (307 bç) Acc65I restriksiyon enzimi ile kesilme işlemine tabi tutulmuş hali izlenmektedir. Soldaki kuyuda pBR322/Hae III Marker DNA molekül ağırlığı belirteci (B) izlenmektedir. Bunu izleyen kuyularda 307 bç'lik bölgeler *10 (TT) allelini, 290 ve 17 bç'lik (gösterilememiştir) bölgeler yabancı tip (CC) alleli (2, 4-9, 11-13, 14,18), her iki bant bölgesinin görülmesi ise heterozigot durumu (1, 3, 10, 14, 16,17), temsil etmektedir. Son kuyuda PZR kontrolü (19) görülmektedir.

Tablo 20. CYP2D6*10 allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.

Kişi Sayısı	CC	CT	TT	p
Kadın (100)	46	53	1	0,07
Erkek (100)	55	40	5	0,203*
Toplam (200)	101	93	6	

p=0,203 değeri CC allellerine karşılık CT+TT allellerine göre hesaplanmıştır.

Tablo 21. CYP2D6*10 allelinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı.

Allel sıklığı	G	A
Kadın	0,725	0,275
Erkek	0,75	0,25
Toplam	0,74	0,26

Tablo 22. *2, *3,*4,*10 allelerinin kadın ve erkek kontrollerdeki sıklığı. Y; yabancı tip alleli, H; heterozigot alleli, M; mutant alleli temsil etmektedir.

CYP2D6	Cinsiyet	Y	H	M	Toplam
*2	K	42	48	10	100
	E	39	50	11	100
*3	K	94	6	0	100
	E	84	15	1	100
*4	K	80	20	0	100
	E	81	19	0	100
*10	K	46	53	1	100
	E	55	40	5	100

4.2. Çalışmamızda Bireylerde Tespit ettiğimiz Genotipler

Çalışmamızda tespit ettiğimiz alleller *2-*3-*4-*10 sırası ile karşlarına birey sayısı gelecek şekilde: Y-Y-Y-Y; 29: Y-Y-Y-H; 26: H-Y-Y-Y; 30: H-Y-Y-H; 31: Y-Y-Y-M; 1: Y-Y-H-Y; 8: Y-H-Y-Y; 4: H-Y-Y-M; 2: M-Y-Y-Y; 11: M-Y-Y-H; 10: H-Y-H-H; 10: H-Y-H-Y; 9: H-H-Y-Y; 9: Y-Y-H-H; 8: H-H- Y-H; 4: Y-H-Y-H; 3: M-Y-H-M; 1: Y-Y-H-M; 1: H-Y-H-M; 1: H-H-H-Y; 1: H-M-Y-H; 1 olarak tespit edilmiştir. Burada ve aşağıdaki tablolarda Y: yabancı tip kabul edildiğini / ilgili mutasyonu taşımadığını, H: heterozigot olarak tespit edildiğini, M: Mutant / ilgili alleli homozigot olarak taşıdığını temsil etmektedir.

Çalışmamızı kişi bazlı değerlendirdiğimizde ortaya çıkan karmaşık yapıyı anlaşılır kılmak için *2 allelinin yabanıl (Y), heterozigot (H), ve mutant (M) oluşuna göre 3 sütuna ayırdık her sütunu *3 allelinin Y-H-M durumuna göre 3 e böldük. Elde ettiğimiz her bölümüde önce *4 allelinin Y-H-M durumuna göre sıraladık. Son allel olan *10 alleli de Y-H-M durumuna göre sıralayarak elde ettiğimiz genotiplere sahip kişi sayısı sağ taraflarındaki kişi başlığı altında belirttik. Çalıştığımız tüm allelleri gösteren aşağıdaki tabloya allel bazlı bakacak olursak Tespit Ettiğimiz Allellerin *2/*3/*4/*10 sırasıyla Gösterilmiştir (tablo22).

Tablo 23. Kişilerin Genetipi Üzerinden Allellerin *2, *3,*4,*10 Sırası İle Gösterimi

*2/*3/*4/*10	Kişi	*2/*3/*4/*10	*2/*3/*4/*10
Y-Y-Y-Y	29	H-Y-Y-Y	30
Y-Y-Y-H	26	H-Y-Y-H	31
Y-Y-Y-M;	1	H-Y-Y-M	2
Y-Y-H-Y;	8	H-Y-H-Y	9
Y-Y-H-H	8	H-Y-H-H	10
Y-Y-H-M	1	H-Y-H-M	1
Y-H-Y-Y	4	H-H-Y-Y	9
Y-H-Y-H	3	H-H- Y-H	4
		H-H-H-Y	1
		H-M-Y-H	1

İki yüz kişilik toplumda *2 alleli ile *3, *4 fonksiyon göstermeyen allelleri ve *10 IM allelini değerlendirdiğimiz bu çalışmamızda *3 için homozigot mutant 1 kişi, heterozigot ise 21 kişi tespit edildi. *4 alleli için homozigot mutant birey tespit etmedik ancak heterozigot 39 kişi tespit edilmiştir.

Bir başka şekilde götüreceğ olursak aşağıdaki tablolarda her bir allelin Y/H/M durumları için diğer allellerin sıralı birliktelikleri ve kişi sayısı gösterilmektedir. Tespit edilmeyen sıralı birliktelikler gösterilmemiştir.

Tablo 24. *2 allel durumuna göre sırasıyla *3, *4, *10 allel durumları ve sayıları

*2 alleli tespit edilmediğinde			Kişi sayısı
*3	*4	*10	Toplam (80)
Y	Y	Y	29
Y	H	Y	8
Y	Y	M	1
Y	H	M	1
Y	Y	H	26
Y	H	H	8
H	Y	Y	4
H	Y	H	3
*2 alleli homozigot iken			Kişi sayısı
*3	*4	*10	Toplam (22)
Y	Y	Y	11
Y	H	M	1
Y	Y	H	10
*2 alleli heterozigot iken			Kişi sayısı
*3	*4	*10	(98)
Y	Y	Y	30
Y	H	Y	9
Y	Y	M	2
Y	H	M	1
Y	Y	H	31
Y	H	H	10
M	Y	H	1
H	Y	Y	9
H	H	Y	1
H	Y	H	4

Tablo 25. *3 allel durumuna göre sırasıyla *2, *4, *10 allel durumları ve sayıları

*3 alleli tespit edilmediğinde			Kişi sayısı
*2	*4	*10	Toplam (178)
Y	Y	Y	29
H	Y	Y	30
M	Y	Y	11
Y	H	Y	8
H	H	Y	9
Y	Y	M	1
H	Y	M	2
Y	H	M	1
H	H	M	1
M	H	M	1
Y	Y	H	26
H	Y	H	31
M	Y	H	10
Y	H	H	8
H	H	H	10
*3 alleli homozigot iken			Kişi sayısı
*2	*4	*10	Toplam 1
H	Y	H	1
*3 heterozigot iken			Kişi sayısı
*2	*4	*10	Toplam (21)
Y	Y	Y	4
H	Y	Y	9
H	H	Y	1
Y	Y	H	3
H	Y	H	4

Tablo 26. *4 alel durumuna göre *2, *3, *10 allel durumları ve sayıları

*4 Alleli Tespit Edilmediğinde			Kişi sayısı
Diğer Alleller			161
*2	*3	*10	
Y	Y	Y	29
Y	Y	H	26
Y	Y	M	1
H	Y	Y	30
H	Y	H	31
H	Y	M	2
M	Y	Y	11
M	Y	H	10
H	M	H	1
Y	H	Y	4
Y	H	H	3
H	H	Y	9
H	H	H	4
*4 alleli heterozigot iken			Kişi sayısı
*2	*3	*10	39
Y	Y	Y	8
Y	Y	H	8
Y	Y	M	1
H	Y	Y	9
H	Y	H	10
H	Y	M	1
M	Y	M	1
H	H	Y	1

Tablo 27. *10 allel durumuna göre *2, *3, *4 allel durumları ve sayıları

*10 Alleli alleli tespit edilmediğinde			Kişi sayısı
*2	*3	*4	Toplam (101)
Y	Y	Y	29
H	Y	Y	30
M	Y	Y	11
Y	H	Y	4
H	H	Y	9
Y	Y	H	8
H	Y	H	9
H	H	H	1
*10 alleli homozigot iken			Kişi sayısı
*2	*3	*4	Toplam (6)
Y	Y	Y	1
H	Y	Y	2
Y	Y	H	1
H	Y	H	1
M	Y	H	1
*10 alleli heterozigot iken			Kişi sayısı
*2	*3	*4	Toplam (93)
Y	Y	Y	26
H	Y	Y	31
M	Y	Y	10
H	M	Y	1
Y	H	Y	3
H	H	Y	4
Y	Y	H	8
H	Y	H	10

5. TARTIŞMA

CYP2D6 genine ait polimorfizmlerin özellikle antidepresan, nöroleptik, antiaritmik, antihipertansif, beta bloker ve morfin derivelerinin terapötik kullanımında klinik etkide değişkenliğe yol açabildikleri bilinmektedir. PM bu ilaçların standart dozda kullanımları sonrası plazmalarında bu ilaçların konsantrasyonlarında artış ve buna bağlı olarak yan etkiler ortaya çıktığı bildirilmiştir (1, 2, 29).

İlaçların kullanımı sırasında İİE ile sık karşılaşıldığı için günümüzde pek çok ilaç birden fazla enzim tarafından metabolize edilebilecek şekilde tasarlanmaktadır. Fakat ilaç-ilaç etkileşimleri nedeniyle yan etkilerin de oluşabileceği akılda tutulması gerektiği belirtilmektedir. Şimdiye kadar *CYP2D6* genotiplendirmesi tamoksifen, antipsikotik ve antidepresan kullanan ve ilaç-doz ayarlamasına ihtiyaç gösteren kişilerde yapılmıştır (2).

İstenmeyen ilaç etkileri, ilaçları inaktif formlarına dönüştürme yetenekleri zayıf olduğu için PM fenotipe sahip hastalarda daha sık bildirilmiştir (29). Anti-aritmik olarak kullanılan propafenonun plazma seviyesi PM fenotipli hastalarda normal değerın 8-10 kat üzerine çıkabilmektedir. Bu durum PM'lerin *CYP2D6* aracılığıyla propafenonu metabolize etmede yetersiz kalmalarına bağlı olarak gelişebilmekte ve kardiyojenik şok, akciğer ödemi ve ritim bozuklukları gibi ciddi bir toksisiteyle sonuçlanabilmektedir (23). Bazı ilaçların *CYP2D6* PM hastalarda toksik seviyelere ulaşabiliyor iken, bazılarının ise tedavi konsantrasyonlarına ulaşamayabileceği görülebilmektedir. Bu durum özellikle *CYP2D6* enzimi ile aktif forma dönüşen ön ilaçların kullanımında görülmüştür. Örneğin; kodein *CYP2D6* enzimi aracılığıyla çok daha aktif form olan morfine dönüşür. Bu nedenle PM fenotipli bireylerde sadece ihmal edilecek düzeyde kodein ile analjezik etki sağlanabilmektedir (29).

Beyaz ırkta, Asyalılara oranla PM fenotipin sık görülmesi İİE'nin görülebilmesi açısından daha büyük risk oluşturduğu belirtilmiştir (2).

Son yıllarda bazı hastalıklar ile *CYP2D6* metabolik fenotipi veya allel sıklıkları ilişkili bulunmuştur. Bu hastalıklardan bazıları Parkinson hastalığı,

Alzheimer, çeşitli kanser türleri, epilepsi, sistemik lupus eritematozis ve Balkan nefropatisidir. PM fenotipin, Parkinson hastalığına duyarlılığa yol açarken bazı kanser türleri açısından daha düşük risk içerdikleri öne sürülmektedir(29).

*CYP2D6**2 allelinin metabolik aktivitesininin *1 alleli ile benzer olduğunu bildirmiştir (19). *2 alleli yabanıl tip allelden sonra beyaz ırkta (34, 36) en sık görülen alleldir. Asya toplumlarında ise *10 alleli yabanıl tip allelle yarışacak düzeyde (%40-50) sık görülmektedir (35).

Amerika’da yapılan bir çalışmada, *2 alleli *1 allelinden sonra görülen en sık allel olarak bildirilmiştir (44). Almanya’da yapılan bir çalışmada *2 allelinin %32.4 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (34). Japonya’da yapılan başka bir çalışmada *2 allel sıklığı %14.6 oranında tespit edilmiştir (35). Kore’de şizofreni hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada *2 allel sıklığı %10 olarak bildirilmiştir. Meksikalılarda yapılan bir çalışmada *CYP2D6**2 %5–28 oranında tespit edilmiş ve *1 allelinden sonra en sık görülen allel olarak değerlendirilmiştir (45).

Japonya’da %14.6, Kore’de %10 olarak saptanan *2 allel sıklığı, Almanya’da saptanmış olan *2 allel sıklığından belirgin şekilde düşük olarak bulunmuştur (34,36). Böylece, *2 allel sıklığı beyaz ırkta (% 32.4) sarı ırkın (% 10-15) iki katının üzerinde bir sıklıkta bulunmuştur.

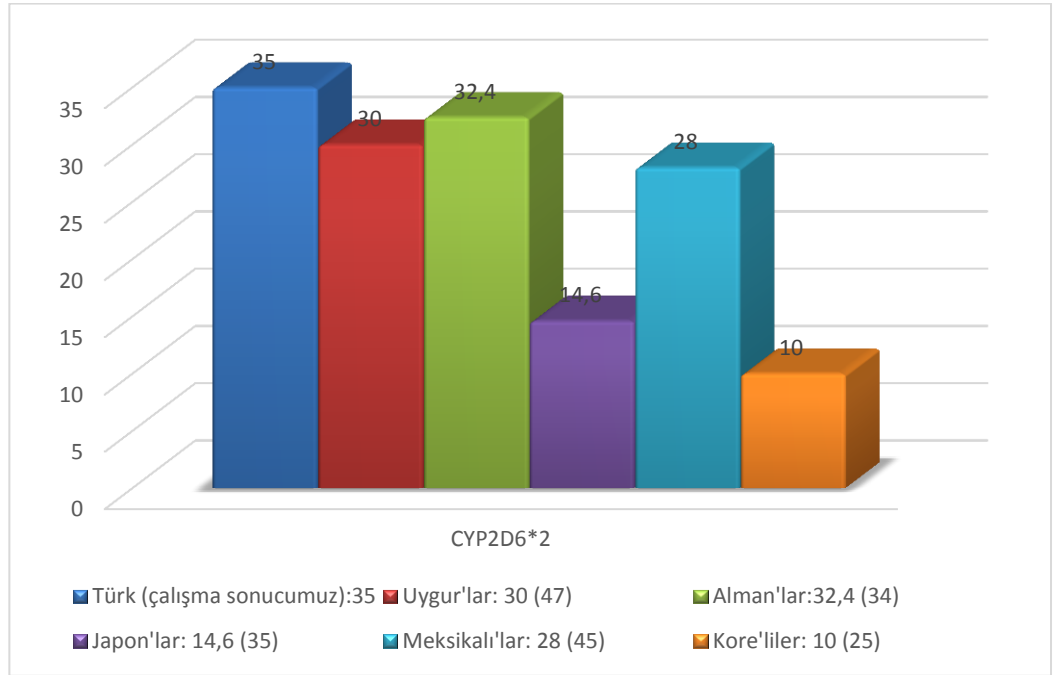
Yaptığımız bu tez çalışmasında, *CYP2D6**2 allelini %35 (n=200) oranında saptadık. Bu değer daha önceki çalışmada bildirilen Türk toplumundaki *2 allel sıklığı ile uyumlu bulunmuştur (6).

Türk toplumunda saptadığımız *2 allel sıklığı Alman toplumu ile benzer orandadır. *2 allel sıklığına bakıldığında Türk toplumu, Avrupa ile Asya toplumlarının gen havuzlarının eşit karışımı olma görüntüsünden uzaktır. Bu durum Türk toplumunun Asya ve Avrupa ortak gen havuzuna sahip olduğu tezinden çok kendine has bir allel sıklığı sergilediğini düşündürmektedir.

Çin’de Uygur Türkleri üzerinde yapılan bir çalışmada *2 allel sıklığı %30 olarak belirtilmiştir. Bu sonucun, Çin Han toplumunda görülen %15 oranındaki *2 sıklığından yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları ile karşılaştırdığımızda Uygur Türkleri ile Türkiye Türklerinin ve beyaz ırkın

*CYP2D6**2 allel sıklıklarının birbirine benzer olduğunu, Han Çinlilerinden ve diğer sarı ırk toplumlarından ise farklı olduğunu görmekteyiz (46, 47).

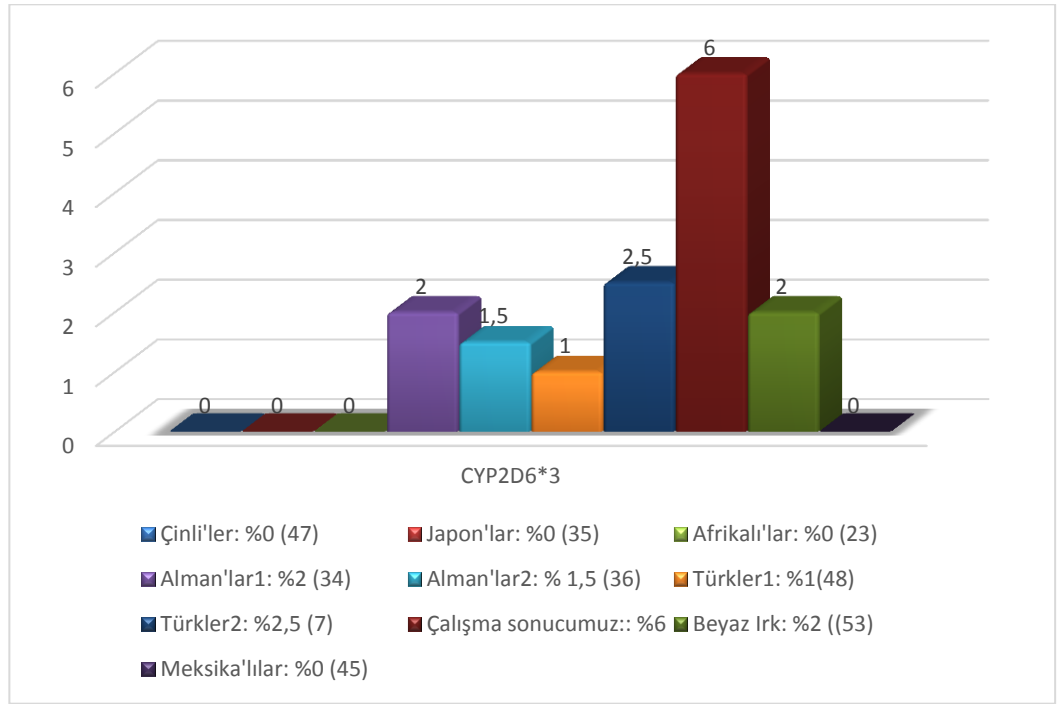
CYP2D6 polimorfizmi ile ilişkili makalelerin çoğunda Çin, Japon, Kore ve benzeri toplumlardan bahsederken “Asyalılar” tabiri kullanılmıştır. Bu ülke insanları aynı zamanda “sarı ırk” olarak da anılmaktadır. Orta Asya Türkleri Asya’nın merkezinde yaşayan toplumlardan oluşmaktadır. Bu nedenle Asyalı toplumlardır. Bizim elde ettiğimiz *CYP2D6**2 allel sıklıklarına bakarak çalıştığımız popülasyonun sarı ırkın değil beyaz ırkın özellikleri taşıdığını görmekteyiz (Şekil 15).



Şekil 19. *CYP2D**2 allel sıklığının etnik dağılımı, Sırasıyla Türkiye Türkleri (bizim çalışma sonucumuz) (% 35), Uygur Türkleri (% 30), Almanlar (% 32.4), Japonlar (%14.6), Meksikalılar (% 28) ve Koreliler (% 10) üzerinde yapılan *CYP2D6**2 allel sıklığını bildiren çalışmaların şematik gösterimi.

Bazı araştırmacılar *CYP2D6**2 allelini EM fenotip (35, 36) kabul ederken bazıları IM (34) fenotip kabul etmektedir. Ancak literatürde çalışmaların biri hariç (34) diğerlerinde (23, 35, 36) *2 alleli EM fenotipli allel olarak kabul edilmiştir.

*CYP2D6*3* alleli beyaz ırkta %2 oranında, Çin toplumunda % 0 oranında, Japonlarda % 0 oranında, Afrikalılarda % 0 oranında bulunduğu bildirilmiştir. (23). Almanya’da yapılan bir çalışmada *3 alleli %2 sıklığında tespit edildiği bildirilmiştir (34). Almanya’dayapılan bir başka çalışmada ise *3 allel sıklığı %1.5olarak bildirilmiştir (36). Meksikalılarda yapılan diğer bir çalışmada da *CYP2D6*3* alleli tespit edilmemiştir (45). Çeşitli toplumlarda bildirilmiş olan allel sıklıkları gösterilmiştir (şekil 16)



Şekil 20. *CYP2D6*3* allel sıklığının etnik dağılımı, Sırasıyla Çinliler % 0, Japonlar % 0, Afrikalılar % 0, Almanlar(1) % 2, Almanlar(2) %1.5, Türkler (1) %1, Türkler(2) % 2.5, bizim çalışmamız % 6, Beyaz ırk % 2 (genel) ve Meksikalılarda %0 yapılmış olan *CYP2D6*3* allel sıklık çalışmalarının şematik gösterimi. Almanya’da ve Türkiye’de yapılan çalışmalar arasında belirgin bir fark olduğu için çalışmalar ayrı ayrı gösterilmiştir.

Türkiye’de 100 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada *3 allel sıklığı %1 (48) olduğu bildirilmiştir. İki yüz kişi ile yaptığımız bu çalışmada *CYP2D6*3* allelini %6 sıklığında tespit edilmiştir. Bu değer daha önceden 140 kişi ile yapılmış bir

çalışmada (6) Türk toplumunda bildirilmiş olan %2.5 (7) oranından yaklaşık iki kat daha fazladır (Şekil 13). Çalışmamızın, 200 kişi ile yapıldığı için, daha değerli olduğunu düşünmekteyiz.

Tüm toplumlarda *3 seyrek görülen bir alleldir. Nadir görülen allellerin sıklığını hesaplamak için geniş toplum üzerinde çalışmaya ihtiyaç vardır. Almanya’da yapılan çalışmalardaki popülasyon sayıları 589 ve 331 birey olmak üzere bizim çalışmamızdan daha büyük grupları içermektedir (34, 36).

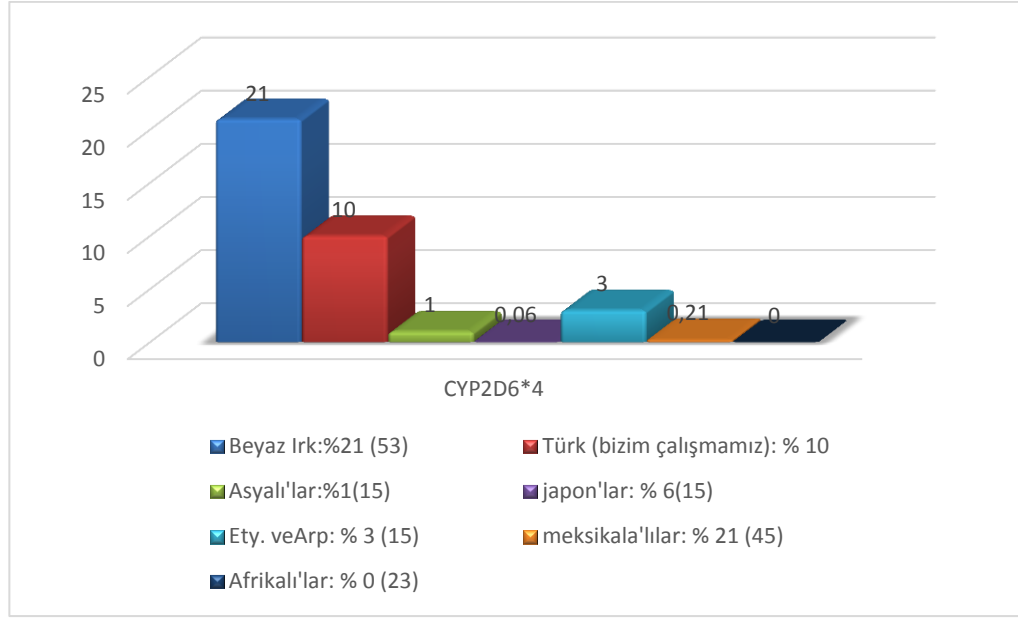
*CYP2D6**3 alleli PM fenotipin tespiti için öncelikli olarak çalışılması önerilen dört allelden biri olduğu için önemli bir alleldir (34). Çok geniş bir toplumda yapılacak bir çalışma ya da yapılacak çok sayıda çalışmanın derlenmesiyle daha sağlıklı sonuca ulaşılabilir.

Çalışmamızda belirttiğimiz diğer çalışmalardan, daha yüksek bir allel sıklığı tespit etmemiz iki yüz kişiden oluşan çalışma grubumuzun *3 alleli hakkında tek başına bilgi vermek için yeterli büyüklükte olmadığını gösteriyor olabilir.

*CYP2D6**4 alleli beyaz ırkta görülen en yaygın PM allel olması nedeniyle üzerinde en sık çalışma yapılan alleldir (2). Bu nedenle bu çalışmaya da *4 alleli dahil edilmiş % 10 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu değer daha önceki çalışmalarda belirlenen %10 ve %11 oranı ile uyumludur (6, 48).

Almanya’da yapılan iki ayrı çalışmada *4 allelinin sıklığı %17.5 ve %20.7 olarak bildirilmiştir (34, 36). Japonya’da yapılan bir çalışmada ise *CYP2D6**4 allel sıklığı % 0.6 oranında tespit edilmiştir (35).

Avrupalı ve Avrupa dışı toplumlar arasındaki allel sıklıklarındaki belirgin fark dikkat çekmektedir (Şekil 17). Fonksiyon göstermeyen allel olan *CYP2D6**4 allel sıklığı Ingelman-Sundberg ve ark.’na göre beyaz ırkta (%12-21), Asyalılarla (%1), siyah ırk’ta (%2), Etiyopya ve Suudi Arabistan’da (%1-4) oranında görülmektedir (15). Başka çalışmalarda ise *4 alleli beyaz ırkta % 20-23 oranında, Çin toplumunda % 0, Japon toplumunda % 0, Afrika toplumunda ise % 0 olarak bildirilmiştir (5, 23, 49).



Şekil 21. *CYP2D6*4* allel sıklığının etnik dağılımı; Sırasıyla Beyaz Irk (Beyaz ırk içinde yapılan çalışmalar arasında belirgin bir fark olmadığı için genel olarak belirtilmiştir) (%12-21). Türklerde (çalışma sonucumuz %10), Asyalı (%1), Japon (% 0), Etiyopya ve Suudi Arabistan'lı (%3), Meksika'lı (%0.21) ve Afrikalı'ların (%0) üzerinde yapılan *CYP2D6*4* allel polimorfizm çalışmalarının sonuçları gösterilmiştir (5,15, 23,35, 49).

*CYP2D6*10* allelinin sıklığı beyaz ırkta % 1.5-5 arasında değişirken, Çin toplumunda % 47-70, Japon toplumunda % 43, Afrika toplumunda ise % 6 oranında olduğu bildirilmiştir (23). Bir başka çalışmada Ingelman-Sundberg ve ark., beyaz ırkta (% 1-2), Asyalılarla (% 51), siyah ırk'ta (% 6) Etiyopya ve Suudi Araplarında (% 3-9) oranında bulunduğunu belirtmişlerdir (15). Almanya'da yapılan bir çalışmada *10 alleli % 1.5 Japonya'da yapılan başka bir çalışmada ise *10 allel sıklığı % 31.5 oranında tespit edilmiştir (34, 35). Meksikalı'larda yapılan bir çalışmada ise *CYP2D6*10* alleli tespit edilmemiştir (45).

Türk toplumunda yapılmış bir çalışmada (6) %6 sıklığında bildirilmiştir. Türkiye'de 100 kişi üzerinde yapılan bir başka çalışmada *10 allel sıklığı % 14.5, homozigot *10 allel taşıyan birey sayısı %4 olarak bildirilmiştir (48)

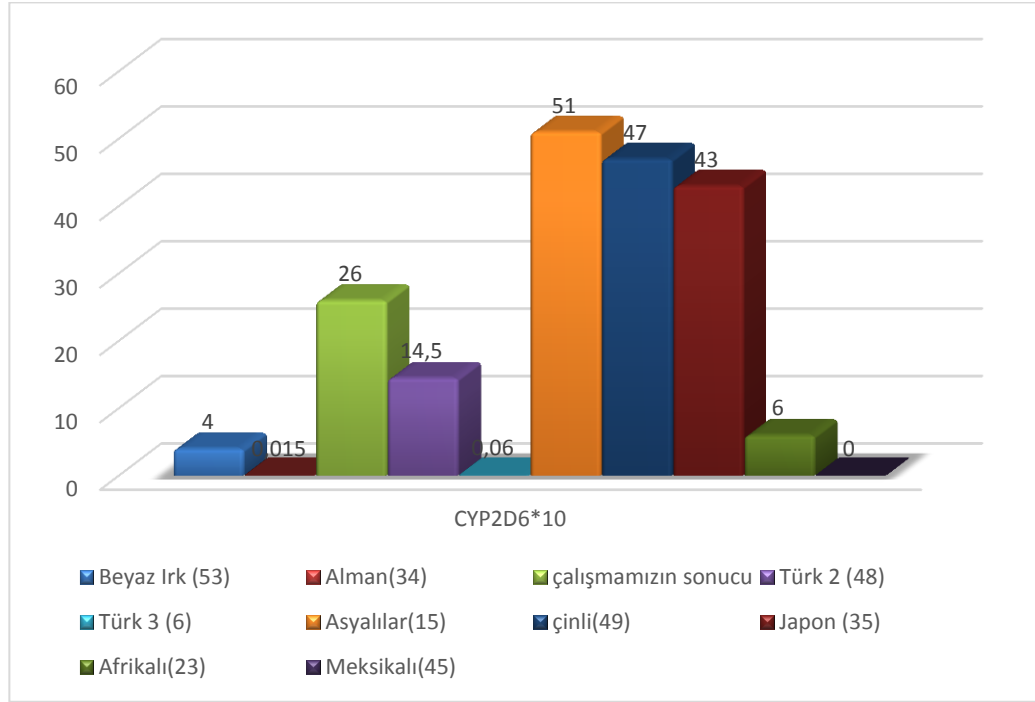
Çalışmamızda CYP2D6*10 allelini (n=200) %26 sıklıkta tespit ettik. Bu sonuç önceki (6, 48) çalışmalardan oldukça yüksektir.

Şekil 15’de gösterildiği gibi *10 allel sıklığı; Asya toplumlarında %50 civarda görülürken bu oran Afrika toplumunda %6, Meksika toplumunda %0, Avrupa toplumunda ise %1-5 arasındadır. Çalışmamızda Türk toplumu için bulduğumuz % 26 değeri Asya toplumu ile Avrupa toplumunun *10 allel sıklık değerlerinin aritmetik ortalamasına denk gelmektedir.

Türk toplumunda CYP2D6*2, *3, *4, *10 allel sıklıklarını birlikte değerlendirdiğimizde *2 allelini beyaz ırk ile aynı sıklıkta taşıdığı ve bu özelliği ile sarı ırktan ayrıldığını görmekteyiz. *4 ve *10 allel sıklıkları ise hem beyaz ırktan hem de sarı ırktan farklılık göstermektedir. *4 allel sıklığı beyaz ırk (%20-23) (15) kadar yüksek değildir. Ancak, sarı ırk kadar da düşük değildir. Her iki toplumdan da farklıdır. *10 allel sıklığı da diğer iki ırktan farklıdır. Ne sarı ırkta görülen %50 (15) oranlarında bir sıklığa ulaşmakta ne de beyaz ırkta görülen <%5 düşük seviyeler göstermektedir. Şekil 18’de şematik olarak gösterilmiştir.

Klinikte CYP2D6 genotiplendirmesinin rutin olarak kullanılamamasının nedeni çok sayıda mutant allel varlığının saptanması ve buna bağlı olarak net bir genotip-fenotip ilişkisinin kurulamamış olmasıdır. Sachse ve ark., PM fenotipe sahip birey oranının %7 olduğunu bildirmiştir. Çalışmalarında sadece dört allel (*3,*4, *5 ve *6) kullanılarak PM fenotipi % 86-100 arasında açıklayabilirken, nadir görülen *15 allelinin de çalışmaya dahil edilmesi durumunda %100’lük başarıyla bir genotip-fenotip ilişkisinin kurulabildiklerini belirtmişlerdir (34).

Bazı çalışmalarda IM allellerin homozigot olması durumunda PM fenotip oluşacağını bildirmişlerdir. Bu araştırmalara göre azalmış fonksiyon gösteren enzimlerin homozigot olması durumunda metabolik aktivitenin azalmış ama mevcut olduğunu bu nedenle PM kabul edilmedikleri belirtilmiştir (29). Diğer bazı çalışmalarda ise sadece fonksiyon göstermeyen allelerin homozigot olduğu durumda PM fenotip oluştuğunu bildirmişlerdir (34).



Şekil 22. CYP2D6*10 allel sıklığının etnik dağılımı, Sırasıyla Beyaz Irk (% 4), Alman (%1.5), (Beyaz Irk verileri ile kıyaslandığında alt sınırdan görüldüğü için ayrı olarak belirttik), çalışmamızın sonucu (%26), Türk2 (%14.5) (48), Türk3 (% 6) (6) Asyalılar (%51), Çinliler (%47), Japonlar (%43), Afrikalılar (% 6), Meksikalılar (% 0) üzerinde yapılan CYP2D6*10 allel polimorfizmine ait çalışmalarda bildirilen sıklıklarının şematik gösterimi. Sarı ırka ait çalışmaların hemen hepsinde sonuçlar %40'ın üzerinde bildirilmiştir. Beyaz ırkta %1,5-5 arasında değiştiği için Almanlar %1.5 değeri ile alt sınırdan kalmakla birlikte beyaz ırk aralığında yer almışlardır.

Kirchheiner ve ark., UM, EM, IM, PM fenotipine dayanarak ilaç doz değişikliği önerirken (35) Sachse ve ark., (34) ise IM fenotipli bireyleri EM fenotip gibi değerlendirmişlerdir. Morita ve ark. ise PM ve UM arasında kalan fenotipleri; EM olarak sınıflandırmışlardır (50).

Günümüzde henüz allellerin metabolizma hızlarının gruplandırması dahi ortak şekilde yapılamamaktadır. Bazı yazarlar *2 allelinin enzim aktivitesinin *1 alleleline yakın olduğunu ve sık görüldüğünü belirterek yabancı tip allel gibi değerlendirmişlerdir(51). Bazı yazarlar ise *2 allelinin PM allele birlikte oluşturduğu fenotipin *1/PM allel birlikteliğinin oluşturduğu allel

kombinasyonun enzim aktivitesinden çok daha düşük aktivite düzeyi gösterdiğini bildirerek *2 allelini IM aktiviteye yol açan allel olarak tanımlamışlardır (34).

Önceden yapılan çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da *2 alleli yabancı tip allel olarak değerlendirilmiştir. Ancak, aynı zamanda *2 allelini IM olarak değerlendirerek de sonuçlar hesaplanmıştır.

PM fenotip için PM/PM veya PM/IM allel birlikteliklerini PM fenotip olarak; EM/PM veya IM/IM birliktelikleri IM fenotip olarak kabul eden görüşe (35) göre; *2 allelini yabancı tip olarak değerlendirdiğimizde; *4/*10 genotipini taşıyan 1; *4/*10/*10 genotipini taşıyan 1 ve *3/*10 genotipini taşıyan 3 kişi ile birlikte toplam 5 kişi olmak üzere PM sıklığı % 2.5 olarak tespit edildi (Tablo 21).

Yine bu görüşe göre (35) *2 alleli yabancı tip kabul edildiğinde IM fenotipini sağlayacak alleller; *10/*10 genotipini taşıyan 4; EM/*4 genotipini taşıyan 17; ve EM/*3 genotipini taşıyan 13 olmak üzere toplam 34 kişi ile IM sıklığını %17 olarak belirledik (tablo 21).

*2 alleli IM allel olarak değerlendirildiğinde ise *3/*3 genotipini taşıyan 1; *3/*4 genotipini taşıyan 1; *3/*10 genotipini taşıyan 3; *2/*3/*10 genotipini taşıyan 7; *4/*10 genotipini taşıyan 1; *2/*4/*10 genotipini taşıyan 10; *4/*10/*10 genotipini taşıyan 1; *2/*4/*10/*10 genotipini taşıyan 2; *2/*10/*10 genotipini taşıyan 10 ve *2/*2/*10/*10 genotiplerini taşıyan 1 kişi olmak üzere toplam 37 kişiyi PM olarak saptanmış ve bu kişilerin oranı ise %18.5 olarak hesaplandı (Tablo 21).

*CYP2D6**2 alleli IM allel kabul edildiğinde; EM/*3 genotipini taşıyan 4; EM/*4 genotipini taşıyan 8; *2/*10 genotipini taşıyan 31; *2/*10/*10 genotipini taşıyan 2; *2/*2/*10/*10 genotipini taşıyan 10 ve *2/*2/*10/*10 genotipini taşıyan 1 kişi olmak üzere toplam 56 kişi ile IM oranını % 28 olarak hesapladık (Tablo 21).

Sadece PM genotipine sahip bireylerin PM fenotip kabul edildikleri görüşüne göre hesapladığımızda ise 2 kişi ile %1 oranını elde edilmiştir (Tablo 21).

Bu oran daha önceki çalışmalarda Türk Toplumunda %3.4-3.8 arasında olduğu bildirilmiştir (1,2). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada zayıf metabolize edicilerin oranı %1.49 olarak bildirilmiştir (6). Bu iki çalışma ile kıyaslandığında bizim çalışmamızda *5 ve *6 allellerini diğer PM allelleri değerlendirmedığımızı göz önüne alınarak sonuçlarımızın Aynacıoğlu ve ark'nın(6) bulduğu sonuç ile uyumlu olduğu söylenebilir.

CYP2D6 proteini etnik özelliklere göre farklı yapı ve etkinlik göstermektedir. Beyaz ırkta en yaygın allel *4 iken Asyalılarda bu allel yok denecek kadar az görülebilmektedir. Beyaz ırkta % 20-23 oranda görülen *4 alleli PM sıklığının %7-10 olmasına yol açar. Bu durumun tersine *10 alleli Asyalılarda (17, 52, 53) çok sık görülen bir allel iken beyaz ırkta (%5) Asyalılara oranla oldukça az görülmektedir (29). CYP2D6 mutant allel sıklıklarında görülen bu çeşitlilik CYP2D6 enzim aktivitesinin dağılım sıklığında önemli etnik farklılıklara neden olur. Asya kökenli toplumlarda CYP2D6*4 allelinin yokluğu, bu toplumlarda CYP2D6 PM fenotipinin beyaz ırkla kıyaslandığında düşük (<%1) görülmesinden sorumlu tutulmuştur.

CYP2D6 *4 ve *10 allelleri beyaz ırk ve Asyalılar arasında büyük farklılıklar gösteriyor olmakla birlikte CYP2D6 ve diğer CYP allelleri de bu iki grup ve diğer etnik gruplar arasında büyük farklılıklar göstermektedir (Tablo 22, 23).

Her ne kadar beyaz ırk ve sarı ırk arasında CYP2D6*4 ve *10 allelleri arasında sıklık farkından bahsediliyor olsa da diğer CYP enzim sıklıkları da iki ırk arasında farklılık göstermektedir (tablo 22). CYP2D6*3 ve*4 allelleri beyaz ırkta diğer ırklara oranla yüksek,CYP2C19*2 ve *3 allelleri ise daha nadir görülmektedir.

Tablo 28.Beyaz ırk ve Asyalılardaki CYP2D6 ve diğer CYP allellerinin literatüre göre dağılımı.

Enzim	Mutant Allel	Beyaz Irk	Çinli	Japon	Afrikalı
CYP2D6	<i>CYP2D6*3</i>	2	0	0	0
	<i>CYP2D6*4</i>	20-23	0	2	2,5
	<i>CYP2D6*5</i>	5	2	10	4
	<i>CYP2D6*9</i>	1	0		0
	<i>CYP2D6*10</i>	1,5-5	47-70	43	6
	PM%	5-10	<1	2	3-6
CYP2C19	<i>CYP2C19*2</i>	13	25-32	23-29	16-25
	<i>CYP2C19*3</i>	<1	5-6	10-13	0
	PM%	1-6	14-17	14-18	2-5
CYP2A6	<i>CYP2A6*2</i>	2-17	0-11	20	0
	<i>CYP2A6*3</i>	0-7	6-12	28	2,5
	PM%	<1-6	1-3	23	<1

PM frekansında ve enzim aktivitesinde etnik gruplar arasında belirgin bir farklılık olduğu bildirilmiştir (2). PM fenotipi % 7-10 ile beyaz ırkta diğer toplumlardan daha yüksek oranda bildirilmiştir (5). Bunun nedeni beyaz ırkta *3 ve *4 fonksiyon göstermeyen alleller sık görülürken Sarı ırkta çok az sayıda görülmesidir (50). CYP2D6 *2, *3,*4, *5, *6,*10 ve *41 allelleri beyaz ırkta sık görülen alleller olduğu, *2 ve *17 Afrika toplumunda, *10 ve *35 Asya toplumunda en sık görülen alleller olduğu bildirilmiştir (50). Çin, Japon, Malezya ve Singapur halkı PM oranında beyaz ırktan farklılık göstermekle birlikte, benzer lokalizasyonda yer alan Yeni Zelanda Maori (Polinezya) Halkı'nın PM oranında ilginç olarak beyaz ırka benzediği bildirilmiştir (50).

Beyaz ırk ve Afrika ırkındaki zayıf metabolizma ile ilgili alleler *3, *4, *5, *6 ve *10 allelleridir (5). Beyaz ırk'ta *3, *4, *5 ve *6 allellerinin CYP2D6 PM fenotipinin %98'inden daha fazlasında görüldüğü bildirilmiştir (54).

Diğer fonksiyon göstermeyen alleller daha nadir görülmektedir (34, 35, 36). Bu nedenle bu allellerle açıklanamayan PM durumlarında çalışılmasının daha uygun olabileceği bildirilmiştir (34, 36).

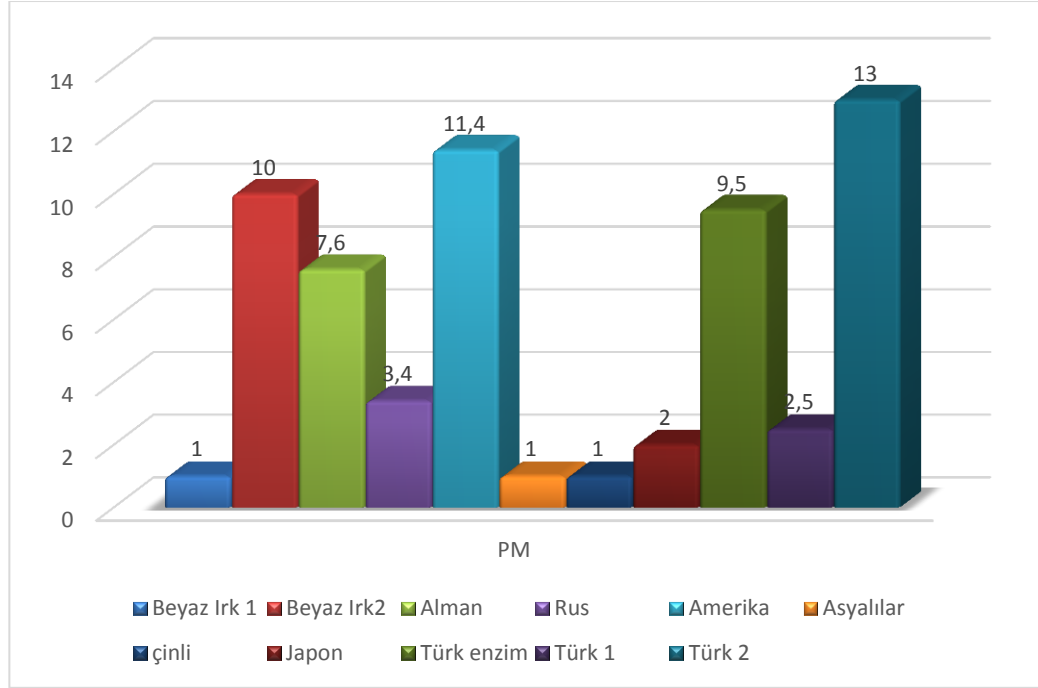
Beyaz ırkta zayıf metabolize edicilerin oranı ortalama %7-10 arasında olduğu bildirilmiştir (2, 35, 8). Alman toplumunda yapılan çalışmalarda ise PM % 7-8 oranında bildirilmiştir (55, 34, 36). Ruslarda PM oranı % 3.4 sıklığı ile diğer beyaz ırk toplumlarına benzemektedir (55). Ancak, beyaz ırk ortalamasının %6-10 arası değiştiğini bildiren yayınlar dikkate alındığında beyaz ırk oranının altında kalıyormuş gibi görülmektedir. Amerika'da PM genotipine sahip bireylerin % 11.4 oranında olduğu bildirilmiştir (44).

PM fenotip sıklığı Asyalılarda % 0-2 arasında değişmektedir (8). Genel olarak ise Asya toplumlarında % 1 civarında olduğu belirtilmiştir (35).

Çeşitli çalışmalardaTürk toplumunda ise PM sıklığının % 3.4-3.8 (1, 2) bildirilmiştir (1,2). Türk Toplumunda PM bireylerin oranının % 0.95 (33) olduğu ve bu oranın Avrupalılarda saptanan orandan (% 3,26) düşük olduğu bildirilmiştir (33). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise PM oranı %1.49 (6) olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda da farklı toplumlarda yapılmış araştırmalara göre yaptığımız değerlendirmeler birbirlerinden oldukça farklı sonuçları beraberinde getirmiştir. Sadece fonksiyon göstermeyen *3 ve *4 allellerini birlikte değerlendirdiğimizde PM oranını %1 olduğu saptanmıştır. Her ne kadar çalışmamız *5 ve *6 allellerini içermiyor olsa da *4 allelinin beyaz ırkta PM fenotipinin %70-80'inden sorumlu tutulduğu hatırlandığında bu oranın çok fazla artış göstermeyeceği düşünülebilir. Aynı çalışmayı azalmış fonksiyon gösteren *10 allelini dahil ettiğimizde PM fenotipini on üç kat farkla %13 oranında tespit edilmiştir.

IM alleller homozigot olması durumuna (ör. *2/*2) ve ya inaktif bir allelle birlikte olması durumunda (örn., *2/*4) PM fenotiple ilişkili olmadığı bildirilmiştir (15, 34). Ancak IM/PM allel birlikteliğinde EM/PM fenotipinden çok daha belirgin şekilde metabolik hızda azalma tespit etmişlerdir (27, 15, 34).



Şekil 23. CYP2D6 PM bireylerin şematik gösterimi: Sırasıyla Beyaz Irk1 (%1), Beyaz Irk 2 (%10), Alman (% 7.6), Rus (% 3.4), Amerikalı (% 11.4), Asyalılar (% 1), Çinliler (% 1), Japonlar (% 1), Türk Toplumu üzerinde yapılan enzim çalışması (% 9.5), Türk*3, *4 (bizim çalışmamız) (% 2), Türk*3, *4, *10 (bizim çalışmamız) (% 12.5)olarak bildirilmiştir.

Biz bu çalışmamızda IM metabolizer oranlarını da *2, *3, *10 allel varlığına göre değerlendirdik. IM fenotip için; *10 homozigot birey 6 kişiden 3'ü PM allel taşıdığı için PM fenotip, diğer 3 kişi IM metabolizer olarak kabul edilmiştir, *4, *10 alleli taşımayan *3 heterozigot 13 kişi, *3, *10 alleli taşımayan *4 heterozigot 17 kişi, toplam 33 birey tespit edilmiştir. Bu sonuç ile % 16.5 sıklığında IM fenotip olabileceğini kaba bir şekilde hesaplanmıştır. Ancak bazı yazarlar UM ve PM arasında kalan fenotipleri EM fenotip olarak kabul etmişlerdir.

Amerika'da yapılan bir çalışmada IM genotipine sahip bireylerin %5.4, PM genotipine sahip bireylerin % 11.4 oranında olduğu bildirilmiştir (44).

Bu çalışmada beyaz ırkta en sık görülen *3 ve *4 fonksiyon göstermeyen allelleri ile sarı ırkta en sık görülen zayıf metabolize edici allel olan *10 allellerine dayanarak *2 allelini hem EM hem de IM allel olarak değerlendirerek fenotipik bir yaklaşık tahminde bulunulmuştur. ayrıca her dört allel için saptanmadığı, heterozigot ve homozigot olduğu durumlar için ayrı tablolar yapılmıştır (tablo 23-26). *3, *4 fonksiyon göstermeyen allelleri ile *10 IM alleli *2 allelinin belirsiz durumuna dayanarak yaptığımız tahminler ile elde ettiğimiz sonuç gerçek PM fenotipi yansıtmıyor olabilir. Beyaz ırkta sık görülen *5 ve *6 allelleri (5) başta olmak üzere diğer nadir görülen allel sıklıklarına ödenek yetersizliği nedeniyle bakılamamıştır. *2, *3,*4, *10 olmak üzere sadece dört allele bakabildik.

Bu tez çalışmasında daha çok CYP2D6 allelini daha geniş bir toplum üzerinde değerlendirebilmeyi isterdik. Belki de en önemli eksikliğimiz serum örneğinde ilaç-metabolit analizi ile metabolizma hızını değerlendirememiş olmamızdır.

6. SONUÇ

Bozulan insan sağlığını uygun yöntemle tedavi etmek biz hekimlerin önemli bir sorumluluğudur. Medikal tedavide önerdiğimiz ilacın güvenilirliğinden ve etkinliğinden emin olmak isteriz. Maalesef tedavi başarısızlığı ve ilaç yan etkisiyle karşılaşabilmekteyiz. Bu sorunun nedenini anlamak için bu kişiler ile toplumun geneli arasında ne gibi bir fark olduğunu anlamak için metabolizma hızı ve metabolizma hızının kişiler arası değışkenlik göstermesini sağlayan genetik polimorfizmler araştırılmaya başlanmıştır.

CYP2D6 genine ait polimorfizmler özellikle antidepresan, nöroleptik, antiaritmik, antihipertansif, beta bloker ve morfin türevi ilaçların kullanımı sırasında istenmeyen ilaç etkileleriyle karşılaşmamıza neden olur. Bu nedenle bu ilaçların bilinmesi ve kullanımlarında takibi önemlidir. Beyaz ırkta bildirilen %5-10 arası zayıf metabolize ediciler toplumumuzda yapılan çalışmalarda% 3.4-10 arasında bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında PM oranı % 1-13 arasında değışmektedir.

Genetik polimorfizm kişiler arası farklılık gösterdiği gibi toplumlar arası farklılık da göstermektedir. Bu nedenle kendi toplumumuzun profilini belirlememiz önemlidir. Bu tez çalışmasında 200 sağlıklı kontrolde *CYP2D6* genindeki *2,*3,*4 ve *10 allelleri genotiplendirilmiştir. Çalışma grubumuzdaki *CYP2D6* allel sıklıklarının ise *2 alleli için %35; *3 alleli için %6; *4 alleli için %10 ve *10 alleli için ise %26 oranında olduğunu belirledik. Daha geniş bir toplum üzerinde çalışıldığında sonuçların daha anlamlı olacaktır.

Bu sonuçlarla toplumumuz allel sıklıkları ile farklı tipteki metabolize edicilerin oranı hakkında literatü veri kazanmamızı sağlamıştır.

7. ÖZET

Farmakogenetik, kişinin genetik yapısına bağlı olarak ilaçlara karşı verdiği değişken cevapla ilgilenen bilim dalıdır. Kişilerde polimorfizm adı verilen genetik çeşitlilikle sahip oldukları protein tiplerinin ve dolayısıyla ilaç eliminasyonunda rol oynayan enzimlerin ya da reseptör yapısındaki farklılıkların oluşmasına yol açmaktadır. Genotipik değişikliklere bağlı olarak, ilaç metabolizmasında ortaya çıkacak fenotipik değişikliklerin araştırılması günümüzün en önemli konuları arasında yer almaktadır.

CYP2D6 genine ait polimorfizmler özellikle antidepresan, nöroleptik, antiaritmik, antihipertansif, beta bloker ve morfin derivelerinin kullanımında klinik etki gösterir. Zayıf metabolize edicilerde bu ilaçlara karşı advers ilaç reaksiyonlarının ortaya çıktığı bildirilmiştir. Zayıf metabolize edicilerin standart doz kullanımları sonrası plazmalarında bu ilaçların konsantrasyonlarında artış ve buna bağlı olarak yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Beyaz ırkta zayıf metabolize edicilerin oranı ortalama %5-10 arasında olduğu, Türklerde ise %3.4-3.8 arasında olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda PM oranı %1-13 arasında değiştiği saptanmıştır. Toplumumuzdaki CYP2D6 allel sıklıklarının ise *2 alleli için %35; *3 alleli için %6; *4 alleli için %10 ve *10 alleli için ise %26 oranında olduğunu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Çalışmamızda CYP2D6 genindeki *2,*3,*4 ve *10 allelleri 200 sağlıklı kontrolde genotiplendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarla birlikte toplumumuzdaki allel sıklıkları ile farklı tipteki metabolize edicilerin oranı hakkında bilgi sahibi olunmuştur.

Anahtar sözcükler: CYP2D6, Polimeraz zincir reaksiyonu, Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi

8. SUMMARY

Investigation of CYP2D6 gene polymorphisms in Turkish Population

Pharmacogenetics is interested in the variable response to drugs depending on the genetic constitution of an individual. Depending on the genetic variation in individuals known as polymorphism; leads to differences in the types of proteins, enzymes or receptors that play a role in the elimination of drugs. Investigation of the correlation between the genotype with phenotypic changes in drug metabolism is among the most important topics of today.

CYP2D6 gene polymorphisms shows clinical efficiency in the use of especially antidepressants, neuroleptics, antiarrhythmic, antihypertensive, beta blocker, and morphine derivatives. Poor metabolisers have been shown to demonstrate adverse drug reactions to these drugs. The plasma concentrations tends to increase inducing side effects after using standard dose in poor metabolisers. The ratio of poor metabolizers in Caucasians is 5-10% whereas 3.4-3.8% in the Turkish population. The CYP2D6 allele frequencies in the Turkish population was found be 35%, 6%, 10% and 26% regarding *2,*3,*4, and *10 alleles respectively.

As a conclusion; in this thesis we genotyped the CYP2D6 * 2, * 3, * 4 and * 10 alleles in 200 healthy controls. In this respect these results informed us about the ratio of poor metabolizers in our population.

Keywords: CYP2D6, Polymerase chain reaction, Restriction fragment length polymorphism

9. KAYNAKLAR

- 1- Abraham BK, Adithan C. Genetic polymorphism of CYP2D6 Indian Journal of Pharmacology 2001; 33: 147-169
- 2-Teh LK, Bertilsson L. Pharmacogenomics of CYP2D6: molecular genetics, interethnic differences and clinical importance. Drug Metab Pharmacokinet. 2012; 27 (1): 55-67.
- 3-<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm> (ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 4-Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. Pharmacogenomics J. 2005; 5 (1): 6-13.
- 5- Fleeman N, Dundar Y, Dickson R, Jorgensen A, Pushpakom S, McLeod C, Pirmohamed M, Walley T. Cytochrome P450 testing for prescribing antipsychotics in adults with schizophrenia: systematic review and meta-analyses. Pharmacogenomics J. 2011 11 (1): 1-14.
- 6-Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schröder T, et al.,. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. Clin Pharmacol Ther. 1999 Aug;66(2):185-92.
- 7-Aydin M, Hatirnaz O, Erensoy N, Ozbek U. CYP2D6 and CYP1A1 mutations in the Turkish population. Cell Biochem Funct. 2005;23 (2): 133-5.
- 8-Koseler A, Ilcol YO, Ulus IH. Frequency of mutated allele CYP2D6*4 in the Turkish population. Pharmacology. 2007;79 (4): 203-6.
- 9-Erden G, Acar FS, Inal EE, Soydas AO, Ozoran K, Bodur H, et al., Frequency of mutated allele CYP2D6*4 in the Turkish ankylosing spondylitis patients and healthy controls. Rheumatol Int. 2009 Oct;29(12):1431-4.
- 10-Relling MV, Giacomini KM: Farmakogenetik; Laurence L. Brunton, John S. Lazo, Keith L. Parker: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 5.edition. San Diego, California, 2005
- 11-Ünüböl Aypak S., Zenobiyotiklerin Metabolizması YYU Veteriner Fakultesi Dergisi, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Aydın, 2009

- 12-Kato K, Mori K, Katoh N. Contribution of leucocytes to the origin of lactate dehydrogenase isozymes in milk of bovine mastitis. *Nihon Juigaku Zasshi*. 1989; 51 (3): 530-9.
- 13-Kayaalp, S. O. Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler, Genişletilmiş 4. Baskı, Pelikan Kitabevi, Ankara, 2008
- 14: <http://www.klinikpsikiyatri.org/files/journals/1/305.pdf> (ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 15-Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5 (1): 6-13.
- 16- Peppercorn J, Hamilton E, Marcom PK, Beskow L, Lyman GH. Pharmacogenetic testing in the face of unclear clinical efficacy: lessons from cytochrome P450 2D6 for tamoxifen. *Cancer*. 2013;119 (20): 3703-9
- 17-Ingelman-Sundberg M. Implications of polymorphic cytochrome p450-dependent drug metabolism for drug development. *Drug Metab Dispos*. 2001 Apr;29(4 Pt 2):570-3.
- 18- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson veThompson Tıbbi Genetik. Günes Kitabevi, Ankara, 2005;445s.
- 19- Johansson I, Oscarson M, Yue QY, Bertilsson L, Sjöqvist F, Ingelman-SundbergM. Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: characterization ofvariant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity fordebrisoquine hydroxylation. *Mol Pharmacol*. 1994;46 (3): 452-9
- 20: Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet*. 2000; 356 (9242): 1667-71
- 21 -Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet*. 1997 ;60 (2): 284-95.
- 22-Sobrino B, Brión M, Carracedo A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci Int*. 2005 ;154 (2-3): 181-94.

- 23-Lhermitte M, Allorge D, Broly F. [Xenobiotic-metabolizing polymorphic enzymes. An opportunity for individualized drug treatment]. Bull Acad Natl Med. 2006; 190 (1): 55-69; discussion 69-73.
- 24-Clark AG. Invasion and maintenance of a gene duplication. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 91 (8): 2950-4.
- 25- Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. Clin Pharmacokinet. 2009;48(11):689-723.
- 26- Zackrisson AL, Holmgren P, Gladh AB, Ahlner J, Lindblom B. Fatal intoxication cases: cytochrome P450 2D6 and 2C19 genotype distributions. Eur J Clin Pharmacol. 2004; 60 (8): 547-52.
- 27-<http://drnelson.utmem.edu/cytochrome450.html> 2003. (ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 28-Ingelman-Sundberg M. Implications of polymorphic cytochrome p450-dependent drug metabolism for drug development. Drug Metab Dispos. 2001; 29: 570-3.
- 29-Gaedigk A, Casley WL, Tyndale RF, Sellers EM, Jurima-Romet M, Leeder JS. Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) allele frequencies in Canadian Native Indian and Inuit populations. Can J Physiol Pharmacol. 2001;79 (10): 841-7.
- 30-Daly AK, Brockmöller J, Broly F, Eichelbaum M, Evans WE, Gonzalez FJ, et all., Nomenclature for human CYP2D6 alleles. Pharmacogenetics. 1996; 6 (3): 193-201.
- 31-Ingelman-Sundberg M. Polymorphism of cytochrome P450 and xenobiotic toxicity. Toxicology. 2002 ; 181-182: 447-52
- 32 www.imm.ki.se/cypalleles/cyp2d6.htm (ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 33- Basci NE, Brosen K, Bozkurt A, Isimer A, Sayal A, Kayaalp SO. S-mephenytoin, sparteine and debrisoquine oxidation: genetic polymorphisms in a Turkish population. Br J Clin Pharmacol. 1994; 38 (5): 463-5.
- 34- Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. Am J Hum Genet. 1997 ;60 (2): 284-95.

- 35-Yagihashi T, Mizuno M, Chino B, Sato Y, Sakuma K, Takebayashi T, et al., Effects of the CYP2D6*10 alleles and co-medication with CYP2D6-dependent drugs on risperidone metabolism in patients with schizophrenia. *Hum Psychopharmacol*. 2009; 24 (4): 301-8.
- 36-Grasmäder K, Verwohlt PL, Rietschel M, Dragicevic A, Müller M, Hiemke C, Freymann N, Zobel A, Maier W, Rao ML. Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004; 60 (5): 329-36.
- 37-Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2004;369 (1): 23-37.
- 38- Strachan T, Read AP., *Human Molecular Genetics*, second edition, page 119, Bath press, Bath, (1999).
- 39- Wassef GN, Lipoprotein (A) In Android Obesity And NIDDM: A New Member In 'The Metabolic Syndrome', *Biomed. Pharmacother.*, 53(1999), 462-5.
- 40-<https://www.neb.com/products/r0135-fspi>(ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 41- <https://www.neb.com/products/r0649-bpu10i>(ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 42- <https://www.neb.com/products/r0168-bstni>(ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 43-<https://www.neb.com/products/r0599-acc65i>(ulaşım tarihi: 16.04.2014)
- 44- Karle J, Bolbrinker J, Vogl S, Kreutz R, Denkert C, Eucker J, et al., Influence of CYP2D6-genotype on tamoxifen efficacy in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013; 139 (2): 553-60.
- 45-Lazalde-Ramos BP, Martínez-Fierro Mde L, Galaviz-Hernández C, Garza-Veloz I, Naranjo ME, Sosa-Macías M, Llerena A. CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics*. 2014; 15 (3): 339-48.
- 46 -Li SC, Wang GP, Xu SF, Cui J. The CYP2D6 polymorphism in relation to the metabolism of TMG and Sparteineis in the Uighur population. 2010; 34 (8): 1-75.

- 47- Yin SJ, Ni YB, Wang SM, Wang X, Lou YQ, Zhang GL. Differences in genotype and allele frequency distributions of polymorphic drug metabolizing enzymes CYP2C19 and CYP2D6 in mainland Chinese Mongolian, Hui and Han populations. *J Clin Pharm Ther.* 2012; 37 (3): 364-9.
- 48- Serin A, Canan H, Alper B, Gulmen M. The frequencies of mutated alleles of CYP2D6 gene in a Turkish population. *Forensic Sci Int.* 2012 ;222 (1-3): 332-4.
- 49-Zhang WY, Tu YB, Haining RL, Yu AM. Expression and functional analysis of CYP2D6.24, CYP2D6.26, CYP2D6.27, and CYP2D7 isozymes. *Drug Metab Dispos.* 2009; 37 (1): 1-4.
- 50- Morita S, Shimoda K, Someya T, Yoshimura Y, Kamijima K, Kato N. Steady-state plasma levels of nortriptyline and its hydroxylated metabolites in Japanese patients: impact of CYP2D6 genotype on the hydroxylation of nortriptyline. *J Clin Psychopharmacol.* 2000;20 (2): 141-9.
- 51-Yagihashi T, Mizuno M, Chino B, Sato Y, Sakuma K, Takebayashi T, et al.,. Effects of the CYP2D6*10 alleles and co-medication with CYP2D6-dependent drugs on risperidone metabolism in patients with schizophrenia. *Hum Psychopharmacol.* 2009 ;24 (4): 301-8.
- 52- Strachan T, Read A.P., *Human Molecular Genetics*, second edition, page 119, Bath press, Bath, 1999.
- 53- Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci.* 2004; 25 (4): 193-200.
- 54- Ekhardt C, Rodenhuis S, Smits PH, Beijnen JH, Huitema AD. An overview of the relations between polymorphisms in drug metabolising enzymes and drug transporters and survival after cancer drug treatment. *Cancer Treat Rev.* 2009; 35 (1): 18-31.
- 55-Gaikovitch EA, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Brockmöller J, Frötschl R, Köpke K, et al.,. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003; 59 (4): 303-12.

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı: BAYRAM

Soyadı: TAŞKIN

Doğum Yeri ve Tarihi: Samsun 24.12.1974

Eğitimi:

2009-Halen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.'da Arş.
Gör. Dr.

1993-2002 On Dokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fak.

1985-1993 Samsun İmam Hatip Lisesi

1983-1985 Samsun Sakarya İlköğretim Okulu

1980-1983 Samsun Yirmi Yedi Mayıs İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Tıbbi Genetik Derneği

Adres : Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
06500 Beşevler / ANKARA

Telefon (iş) : (312) 202 69 44

E-mail : birakarsu@hotmail.com, bayramtaskin@yahoo.com
drbayramtaskin@gmail.com

İŞ TECRÜBESİ

2003-2004 : Denizli İl Sağlık Müdürlüğü

2004-2005 : Gezici Asker Hastanesi / Şırnak

2005-2009 : Denizli İl Sağlık Müdürlüğü

Katıldığı Kongre, Sempozyum ve Seminerler:

- 1- Ayka Affymetrix microarray klinik uygulamalar semineri, Haziran,
- 2- Nörometabolik Dismorfoloji Sempozyumu, Mart, 2013
- 3- 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 01-05 Aralık 2010, İstanbul

A- YAYINLAR

a) ULUSAL YAYINLAR

b) ULUSLARARASI YAYINLAR

B- BİLDİRİLER

a) ULUSAL BİLDİRİLER

- 1- 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 01-05 Aralık 2010, İstanbul

b) ULUSLARARASI BİLDİRİLER

C- KATILDIĞI KONGRELER

11. EKLER

Prof. Dr. Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F. Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YRD.	Çocuk Sağ. ve Hast. Çocuk Allerji	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji	G.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Fusun BOZKIRLI ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	G.Ü.T.F. Anest. ve Rea. A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Emin TÜRKÖZ ÜYE	Restoratif Diş Tedavisi ve Endodonti	G.Ü.D.F. Restoratif Diş Ted. ve Endodonti A.D.	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya	G.Ü.E.F. (Ecz. Mes. Bil.) Farmasötik Kimya A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F. Tıbbi Biyokimya A.D.	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Öznur L. BOYUNAGA ÜYE	Radyoloji	G.Ü.T.F. Radyoloji A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Galip GUZ ÜYE	İç Hastalıkları Enişkin Nefroloji	G.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F. Tıbbi Patoloji A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Metin YILMAZ ÜYE	Kulak-Burun-Böğaz Hast.	Kulak-Burun-Böğaz Hast. A.D.	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tanhı	G.Ü.T.F. Tıp Etiği ve Tıp Tanhı A.D.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Huk. Muş. Adem GELİR ÜYE	Hukuk Muşavirliği	Rektörlük Hukuk Muşavirliği	E	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	Sivil Temsilci	K	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* : Araştırma ile İlişki
** : Toplantıda Bulunma



GAZİ ÜNİVERSİTESİ (GİRİŞİMSSEL OLMAYAN) KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
DEĞERLENDİRME FORMU

DEĞERLENDİRME KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
TELEFON	0312 202 69 58
FAKS	0312 202 46 73
E-POSTA	tipetikkurul@gaazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	CYP2D6 genine ait polimorfizmlerin Türk toplumunda araştırılması			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Mehmet Ali Ergün			
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☒	AKADEMİK AMAÇLI ☐		
		DİĞER ☐	☐ İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSSEL ☒ İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSSEL OLMAYAN 6.Tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar(gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan)		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon No	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	BİL. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒			
	SIGORTA	☐			

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 220	Toplantı tarihi: 13.06.2012
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde Prof.Dr.Mehmet Ali Ergün'ün sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı başvuru bilgileri verilen, <i>Uzmanlık Tezi olan</i> klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve "bütçesi dışında" uygun olduğuna G.Ü.T.F. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesinin son versiyonu, İyi Klinik Uygulamaları (Uluslararası ICH-GCP) kılavuzu ve bununla ilgili 2001/20/EC ve 2005/28/EC sayılı Avrupa Birliği direktifleri, Biyoloji ve Tıbbın uygulanması bakımından İnsan Hakları ve İnsan haysiyetinin korunması sözleşmesi ve İnsan Hakları ve Biyotip Sözleşmesinin onaylanmasının uygun bulunduğu kanun (9.12.2003 tarihli 25311 sayılı Resmi Gazete), 2547 sayılı Yükseköğretim Kanunu (06.11.1981 tarihli 17506 sayılı Resmi Gazete), Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
	ETİK KURUL BAŞKANI ÜNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr.Canan ULUOĞLU	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **