

SEDAT SARP

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2012

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**TÜRK TOPLUMUNDA BİPOLAR BOZUKLUĞU OLAN HASTALAR
VE SAĞLIKLI BİREYLERDE CYP1A2 ENZİMİNİN DÖRT
POLİMORFİZMİNİN SIKLIK KARŞILAŞTIRMASI**

SEDAT SARP

**DANIŞMAN
PROF. DR. A. YAĞIZ ÜRESİN**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Farmakoloji Programında Sedat SARP tarafından hazırlanan "Türk Toplumunda Bipolar Bozukluğu Olan Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde CYP1A2 Enziminin Dört Polimorfizminin Sıklık Karşılaştırması" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

21 / 05 / 2012

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Prof. Dr. Mehmet GÜNGÖR (İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)

2.Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN (İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)
(Danışman)

3.Prof. Dr. A. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK (İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji
Anabilim Dalı) (Tez İzleme Komitesi Üyesi)

4.Prof. Dr. Alp ÜÇÖK (İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı)
(Tez İzleme Komitesi Üyesi)

5.Prof. Dr. Atila KARAALP (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı)

BEYAN

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

Sedat Sarp

İTHAF

Uzay ve Yaraticısına ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Bu tezin her aşamasındaki katkılarından dolayı İstanbul Üniversitesi DETAE Genetik Anabilim Dalından

Dr. Mehveş Poda'ya;

Genetik çalışmalardaki katkılarından dolayı aynı anabilim dalından Yüksek Lisans Öğrencileri Bio. Sinem İzdeş ve Bio. Sevda Özcan ile, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nihan Erginel Ünaltuna'ya;

Hastalardan kan toplanması aşamasındaki yardımlarından dolayı Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları EAH 6. Psikiyatri Kliniğinden

Doç. Dr. Doğan Yeşilbursa, Uzm. Dr. Füsün Aran Akman ve Uzm. Dr. Başar Akman ile Başhemşire Meliha Yazıcı'nın adı altında 6. Psikiyatri kliniğinin tüm hemşirelerine;

Gönüllülerden kan toplanması aşamasındaki yardımlarından dolayı Dr. Suat Sarp'a;

İstatistik aşamasındaki yardımlarından dolayı Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalından Prof. Dr. Önder Ergönül'e;

Tez için verdiği değerli fikirlerden dolayı Psikiyatrist Doç. Dr. Timuçin Oral'a;

Anabilim Dalı Başkanlığı sırasında Doktora eğitimine başlamamı sağlayan **Prof. Dr. Lütfiye Eroğlu**'na ve eğitimim süresince katkıları ve yardımlarından dolayı İstanbul Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim görevlileri ve asistanları ile çalışanlarına;

Doktora eğitimimin her aşamasındaki katkılarından, yardımlarından ve desteğinden dolayı değerli danışmanım

Prof. Dr. A. Yağız Üresin'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4267

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Farmakogenetik ve Kişiselleştirilmiş Tıp	3
2.1.1. Farklı enzim aktiviteleri:	3
2.1.2. Taşıyıcı protein aktiviteleri:	3
2.1.3. Reseptör proteinlerinde çeşitlilik:	4
2.2. Farmakogenetiğin klinik kullanımı:	5
2.3. Farmakogenetik ve Psikiyatri	7
2.4. CYP Enzim Sistemi	8
2.4.1. İsimlendirme:	8
2.4.2. CYP1A2	8
2.5. CYP1A2 ve Psikiyatrik ilaçlar	9
2.6. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Optimizasyon aşamaları:	11
3.1.1. Titrasyon şartları	12
3.1.2. Optimize genotipleme şartları:	16
3.1.3. Genotipleme örnekleri	17
3.2. Hardy-Weinberg dengelerinin hesaplanması	19
3.3. İstatistik Hesaplamaları	19

3.4. Forest Grafikleri	20
4. BULGULAR	21
4.1 CYP1A2*C Sonuçları:	21
4.2 CYP1A2*D Sonuçları:	24
4.3 CYP1A2*E Sonuçları:	28
4.4 CYP1A2*F Sonuçları:	31
5 TARTIŞMA	35
KAYNAKLAR	45
HAM VERİLER	49
FORMLAR	51
ETİK KURUL KARARI	57
PATENT HAKKI İZNİ	59
TELİF HAKKI İZNİ	60
ÖZGEÇMİŞ	61

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kişiselleştirilmiş Tıbbın sunacağı potansiyel yararlar(25)	5
Tablo 2-2: Varfarin dozunu bireye özgü ayarlama denklemi	7
Tablo 2-3: CYP1A2 enziminin metabolizmasına katıldığı ilaçlar (15).....	9
Tablo 3-1: Genotiplemede kullanılan primerler, enzimler ve oluşan fragman boyları...	11
Tablo 3-2: CYP1A2*C için titrasyon karışımı	12
Tablo 3-3: CYP1A2*C için titrasyon şartları	12
Tablo 3-4: CYP1A2*D için titrasyon karışımı	13
Tablo 3-5: CYP1A2*D için titrasyon şartları	13
Tablo 3-6: CYP1A2*E için titrasyon karışımı.....	14
Tablo 3-7: CYP1A2*E için titrasyon şartları.....	14
Tablo 3-8: CYP1A2*F için titrasyon karışımı.....	15
Tablo 3-9: CYP1A2*F için titrasyon şartları.....	15
Tablo 3-10: PCR şartları	16
Tablo 3-11:PCR karışımının içeriği.....	16
Tablo 3-12: PCR ürününü restriksiyon enzimi ile sindirmede kullanılan karışım	17
Tablo 4-1: Hasta ve gönüllülerin toplamalarının karşılaştırması	21
Tablo 4-2: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması	22
Tablo 4-3: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması	22
Tablo 4-4: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamalarının karşılaştırması	23
Tablo 4-5: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması.....	23
Tablo 4-6: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırması.....	24
Tablo 4-7: Hasta ve gönüllülerin toplamalarının karşılaştırması	25
Tablo 4-8: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması	25
Tablo 4-9: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması	26
Tablo 4-10: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamalarının karşılaştırması	26
Tablo 4-11: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması.....	27
Tablo 4-12: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırması.....	27
Tablo 4-13: Hasta ve gönüllülerin toplamalarının karşılaştırması	28
Tablo 4-14: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması	29
Tablo 4-15: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması	29

Tablo 4-16: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamalarının karşılaştırması	30
Tablo 4-17: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması.....	30
Tablo 4-18: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırılması.....	31
Tablo 5-1: Sigara içen ve içmeyen hastalarda CYP1A2*D polimorfizm frekansının karşılaştırması	36
Tablo 5-2: Sigara içen ve içmeyen hastalarda CYP1A2*E polimorfizm frekansının karşılaştırılması	36
Tablo 5-3: Sigara içen hastalar ve gönüllülerde CYP1A2*E polimorfizm frekansının karşılaştırılması	37
Tablo 5-4: Sigara içmeyen gönüllü ve hastalarda CYP1A2*E polimorfizm frekansının karşılaştırılması	37
Tablo 5-5: Farklı çalışmalarda CYP1A2*C polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması	39
Tablo 5-6: Farklı çalışmalarda CYP1A2*D polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması	40
Tablo 5-7: Farklı çalışmalarda CYP1A2*E polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması	42
Tablo 5-8: Farklı çalışmalarda CYP1A2*F polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması	43
Tablo 0-1: CYP1A2*C polimorfizmi için elde edilen sonuçlar	49
Tablo 0-2: CYP1A2*D polimorfizmi için elde edilen sonuçlar	49
Tablo 0-3: CYP1A2*E polimorfizmi için elde edilen sonuçlar.....	50
Tablo 0-4: CYP1A2*F polimorfizmi için elde edilen sonuçlar	50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: CYP1A2*C için amplifikasyon sonuçları	12
Şekil 3-2: CYP1A2*D için amplifikasyon sonuçları	13
Şekil 3-3: CYP1A2*E için amplifikasyon sonuçları	14
Şekil 3-4: CYP1A2*E için amplifikasyon sonuçları	15
Şekil 3-5: CYP1A2*C Genotipleme Sonuç Örnekleri.....	17
Şekil 3-6: CYP1A2*D Genotipleme Sonuç Örnekleri	18
Şekil 3-7: CYP1A2*E Genotipleme Sonuç Örnekleri.....	18
Şekil 3-8: CYP1A2*F Genotipleme Sonuç Örnekleri	19
Şekil 5-1: CYP1A2*C karşılaştırmasının Forest Grafiği.....	40
Şekil 5-2: CYP1A2*D karşılaştırmasının Forest Grafiği	41
Şekil 5-3: CYP1A2*E karşılaştırmasının Forest Grafiği.....	43
Şekil 5-4: CYP1A2*F karşılaştırmasının Forest Grafiği	44

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Apa1	Acetobacter pasteurianus geni taşıyan Escherichia coli suşu
ark	Arkadaşları
bp	Baz çifti
CYP	Sitokrom-P 450
Dde1	Desulfovibrio desulfuricans geni taşıyan Escherichia coli suşu
dH ₂ O	Distile su
dk	Dakika
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	deoksiribonükleotid
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
L	Litre
MgCl ₂	Magnezyum klorid
mmol	Milimol
mRNA	Haberci Ribonükleik Asit
Nde1	Neisseria denitrificans geni taşıyan Escherichia coli suşu
nm	Nanometre
PCR	Polimeraz zincirleme tepkimesi
pmol	Pikomol
SARI	serotonin-2 antagonist/geri alım inhibitörleri
sn	Saniye
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
Stul	Streptomyces tubercidicus geni taşıyan Escherichia coli suşu
Taq polym	Thermus aquaticus bakterisinden elde edilen DNA polimeraz

Templ DNA	Kalıp DNA
UGT	Uridin 5-difosfat glukuronosiltransferaz
VKORC1	Vitamin-K epoksit redüktaz kompleksi 1
°C	Derece Celcius
μL	Mikrolitre
χ^2	Chi-kare

ÖZET

Sarp S. Türk Toplumunda bipolar bozukluğu olan hastalar ve sağlıklı bireylerde CYP1A2 enziminin dört polimorfizminin sıklık karşılaştırması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Doktora Tezi. İstanbul. 2012.

Sitokrom P-450 enzimlerinden biri olan CYP1A2 enzimi psikiyatride kullanılan birçok önemli ilacın metabolizmasında yer almakta ve bazı polimorfizmleri enzim etkinliğini değiştirmektedir. Bu çalışmada her grup yarı yarıya sigara içen ve içmeyen örneklerden oluşmak üzere, 100 sağlıklı gönüllü ve 30 bipolar bozukluğu bulunan hastada CYP1A2*C, CYP1A2*D, CYP1A2*E ve CYP1A2*F polimorfizm sıklıkları saptanmıştır. İlgili hedef bölgelere ait DNA parçaları, “*Touch Down*” PCR metodu ile çoğaltılmış ve elde edilen PCR ürünleri, içerdikleri ilgili varyantları saptamaya uygun restriksiyon enzimleri ile sindirilmiştir. Oluşan enzim kesim ürünleri arasındaki boy farklılıklarının saptanması için, örnekler uygun konsantrasyondaki agaroz jelde yürütülmüş, fotoğraflanmış ve genotiplenmiştir. Genotipler, istatistik analizlerde kullanılmak üzere Stata-11 programına aktarılmıştır. Toplamda bu polimorfizmlerin frekansları sırasıyla 0,10; 0,68; 0,07 ve 0,26 olarak bulunmuştur. Alt grup karşılaştırmalarında gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır. Bu frekansların farklı çalışmalar ile karşılaştırılmasında sonuçların CYP1A2*D frekansları hariç olmak üzere, Türk ve Mısır toplumlarında yapılmış çalışmalar ile uyumlu, Çin ve Japon toplumlarındaki çalışmalar ile uyumsuz olduğu gözlenmiştir. CYP1A2*D polimorfizm frekansının ise daha önce Japon (0,42) ve Mısır (0,40) toplumlarında yapılmış çalışmalara göre anlamlı olarak yüksek, Türk toplumunda yapılmış tek çalışmaya göre (0,92) anlamlı olarak düşük bulunması bu polimorfizmin Türk toplumunda diğer toplumlardan daha sık gözleendiği, ancak Türk toplumunun yapısı gereği bölgesel genetik farklılıklar olabileceği yönünde yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Farmakogenetik, CYP1A2, Bipolar bozukluk, Kişiselleştirilmiş Tıp, Türkiye.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4267

ABSTRACT

Sarp S. Comparison of frequencies of four CYP1A2 enzyme polymorphisms in healthy individuals and patients with bipolar disorder in Turkish society. İstanbul University, Institute of Health Sciences, Pharmacology PhD Thesis, İstanbul, 2012.

CYP1A2 enzyme, which is one of cytochrome P-450 enzymes, plays role in the metabolism of many psychiatric drugs and some of its polymorphisms change enzyme effectiveness. In this study, CYP1A2*C, CYP1A2*D, CYP1A2*E, CYP1A2*F polymorphism frequencies were determined in 100 healthy volunteers and 30 bipolar patients, each group consisting of 50% smokers and 50% non-smokers. The DNA fragments from relevant target regions, were amplified by using “Touch Down” PCR method. The resulting PCR fragments were digested by restriction enzymes suitable for detecting the variants they contain. The samples were run, photographed, genotyped in appropriately concentrated agarose gels, to detect the ‘restriction fragment length polymorphisms’. Stata-11 program was used for statistical analysis. In sum, the frequencies of these polymorphisms were detected to be 0.10; 0.68; 0.07 and 0.26, respectively. No significant difference was found in comparisons of sub-groups regarding the frequencies. In comparisons of frequencies with different studies it was observed that the results were mostly consistent with the studies conducted in Turkish and Egyptian populations and non-consistent with the studies conducted in Chinese and Japanese societies except CYP1A2*D, of which the polymorphism frequency (0.68) was found significantly higher than Japanese and Egyptian study populations (0.42 and 0.40 respectively) and significantly lower than the sole study conducted on one the Turkish study population (0.92). CYP1A2*D polymorphism being more frequent in Turkish studies than other societies, might be interpreted that the regional differences play important roles in the frequency distribution of this polymorphism.

Key Words: Pharmacogenetics, CYP1A2, Individualized Medicine, Bipolar Disorder, Turkey

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 4267

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ciddi ve ölümcül ilaç reaksiyonları, 1966 yılından 1996 yılına kadar süren ilaç güvenirlilik ve farmakoepidemioloji araştırmalarına göre ciddi ilaç reaksiyonları %6,7 ve ölümcül ilaç reaksiyonları %0,32 olarak bulunmuştur. Pnömoni ve diyabetin önünde ve ölüm nedenleri arasında 4 ile 6. sırada gelmektedir. İlginç olan ise, advers ilaç reaksiyonlarının standart tedavi dozu sırasında oluşması ve dozlam hataları ve uyum sorunlarını içermemesidir (1).

Değişik Sitokrom P-450 (CYP) enzimlerinin polimorfizmleri söz konusu olan enzim ve alelik çeşitliliğin etkisine bağlı olarak bireyler arası farklılığa denk gelir. Bu polimorfizmlerden etkilenen önemli tedavi rejimleri arasında antipsikotikler de bulunur. Farmakogenetik etki büyük oranda söz konusu olan spesifik ilaca bağlıdır ve farmakogenetik olarak etiketlenmiş ilaçlara spesifik farmakogenetik protokoller çalışmak ilaç tedavisinin dozajı ve ilaç tercihinin belirlemek için anlamlı olacaktır. Enzim aktivitesindeki kişiler arası varyasyonlara neden olan önemli genetik farklılıklar CYP2A6, CYP2B6, CYP2Cp, CYP2C19 ve CYP2D6 genleri için bilinmekle birlikte; CYP1A2 ve CYP3A4 ile katalizlenen reaksiyonların çeşitliliğini anlayabilmemiz için yeni çalışmalar gerekmektedir (2).

Birçok tipik antipsikotiğin plazma düzeyi sigara içiminden etkilenir. Sigaranın CYP-1A2'nin indükleyicisi olduğu gösterilmiştir (3-7). Psikotik hastalarda sigara içiciliği oranının normal popülasyonun çok üstünde olduğu ve %80'in üzerine çıktığı bilinmektedir (8).

CYP1A2'nin tipik antipsikotiklerden klorpromazin (9), tiyoridazin (10), flufenazin (11) ve trifluoperazinin (12) aynı zamanda da atipik antipsikotiklerden klozapin (13) ve olanzapinin (14) metabolizmalarına katıldığı gösterilmiştir. Ayrıca farklı gruplardan antidepresanların (Trisiklik: amitriptilin, klomipramin, imipramin, nortriptilin; Tetrasiklik: mianserin, mirtazapin; SARI'den trazodon) metabolizmalarında da yer almaktadır (15). Ulrich M. Zanger ve arkadaşları en yaygın kullanılan 200 ilacın metabolizmalarına bakıp, hangi CYP enziminin ne kadar rol aldığını saptamışlar ve CYP1A2'nin bunların %9'una katıldığını bildirmişlerdir (16).

CYP-1A2 karaciğerdeki toplam CYP miktarının %12'sini oluşturur ve CYP2D6'nın yaklaşık 6 katıdır. Antipsikotik ilaç tedavilerinde, "düşük afinite, yüksek kapasiteli" metabolik yol olarak, CYP2D6'nın saturasyonunu takiben uzun süreli tedavilerde devreye girerek önemli rol oynadığı gözlenmiştir (8).

CYP-1A2 enziminin çok sayıda varyantı bulunmakla birlikte özellikle CYP1A2*1C mutasyonunun enzim aktivitesini azaltırken (17), CYP1A2*1F mutasyonu ise enzim aktivitesini arttırdığı (18) gösterilmiştir. Sachse C. ve arkadaşlarının 1999 yılındaki çalışmasında aynı genetik varyasyon ile sigara içenlerde %40 aktivite farkı gözlenirken, içmeyenlerde aktivite farkı oluşmadığı saptanmıştır (18).

1997 yılında Science dergisi "1998 yılı için altı araştırma ufku" adlı yazısında "kişiselleştirilmiş reçeteleme" veya "ilaçların hastanın genetik kompozisyonuna uygun olarak düzenlenmesi"ni tanımlamış ve "yakın" zaman içerisinde klinik kullanıma gireceği öngörüsünde bulunmuştur. Kişiselleştirilmiş reçetelemenin genel kullanımı ile ilgili daha kesin tahminler yapılmıştır; Time dergisi 2015, JAMA ise 2020 yılını işaret etmişlerdir (19-23). Amerikan gıda ve ilaç kurumu (FDA) 2005 yılı ocak ayında ilk farmakogenetik test, AmpliChip CYP450'nin onaylanma sürecini tamamlamıştır. Birçok farklı firma da CYP testleri için test geliştirme çalışmalarını sürdürmektedir: CodeLink P450 SNP Bioarray, General Electric Health Care tarafından; Tag-It Mutation Kit, Tm

Bioscience tarafından ve DrugMet Genotyping Test, Jurilab Ltd. tarafından; bu konuda geliştirilmekte olan yöntemlerin bazılarıdır (19).

Son yıllarda dünya çapında gen polimorfizminin ilaç kan metabolizmasına etkileri ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır, bu tez çalışmasında gen polimorfizmi dağılımının sağlıklı ve bipolar tanılı bireyler arasında ve sigara içiciler ile içmeyenler arasında görülme sıklıkları karşılaştırılacaktır.

Kişiselleştirilmiş tedavi ile ilgili çalışmalar giderek hız kazanmakta ve önemleri artmaktayken, ülkemizde bu konudaki çalışmalar çok kısıtlıdır. Bu tez çalışmasının ülkemize bu konuda yeni veriler kazandırması yanında bu konuya dikkat çekerek başka çalışmaların önünü açması beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Farmakogenetik ve Kişiselleştirilmiş Tıp

Hastalar ilaçlara çok farklı tepkiler verirler. Farmakokinetik araştırmalar, aynı etken maddenin aynı dozda uygulanması sonucunda toplumda farklı bireylerde farklı kuvvet ve sürelerde etki elde edildiğini göstermiştir. Bir ilaç tedavisi bir hastada etkisiz kalırken bir başkasında ağır istenmeyen etkiler gösterebilir. Bu durumda genetik farklılık gösteren iki topluluktan bahsedilir. Toplumun %1'inden fazlasında rastlanan genetik özelliklere genetik polimorfizm denir. Bu polimorfizm ile ilgilenen bilim dalı ise farmakogenetik olarak isimlendirilir (20,21). Bu terimi 1959'da Vogel ortaya atmıştır. Pirmohamed'e göre ise farmakogenetik kalıtıma bağlı olarak ilaç yanıtındaki farklılıkların araştırılmasıdır ve çoğunlukla ilaç metabolizmasını belirleyen genlerle ilişkili olarak kullanılmıştır.

Daha yeni olarak farmakogenomik terimi kullanılmıştır, bu ise genomdaki ilaç yanıtını belirleyen tüm genleri kapsayan daha geniş bir kavramdır. İki terim arasındaki ayrım biraz keyfi olup, sık sık birbiri yerine kullanıldıkları da görülmektedir.

2004 yılında Roses iki tip farmakogenetik tanımı arasında ayrım yapmıştır. Birincisi istenmeyen ilaç etkilerini dışlamaya yönelik olan "güvenilirlik farmakogenetiği", ikincisi ise ilaç yanıtını tahmine yönelik olan "etkinlik farmakogenetiği"dir (22,23).

Genetik farklılık sonucu ilaç etkisinin değişmesine neden olan üç farklı mekanizma söz konusudur:

2.1.1. Farklı enzim aktiviteleri:

Enzim aktivitesinde etken maddenin yıkım hızını değiştiren genetik kökenli farklılıklar mümkündür. Azalmış enzim aktivitesi söz konusu olduğunda artmış ilaç etkisi ve yüksek zehirlenme riski söz konusudur. Bunun tersi de geçerlidir, yani azalmış enzim aktiviteli kişiye enzimatik olarak aktive edilmesi gereken bir ön-ilaç verildiğinde, bu ilacın etkisi azalacaktır.

İki farklı grubun varlığına iyi araştırılmış bir örnek olarak sitozolik N-asetiltransferaz verilebilir, bu enzim izoniyazid, sulfonamid, kafein ve nitrazepam gibi etken maddelerin yıkım hızını belirler. Hızlı ve yavaş asetilleyciler söz konusudur. Bunlar Avrupa toplumunda yaklaşık eşit oranda bulunurken, Kanada Eskimo'larında yavaş asetilleycilerin oranı sadece %5'tir (21). Başka bir gözlemi de Afro-amerikalıların yüksek tansiyon tedavisidir. Avrupa toplumunda iyi etki eden bir takım ilaçlar bu etnik grupta ya yetersiz veya tamamen etkisiz kalırlar. Bu konuyla ilgilenen bilim dalına etno-farmakoloji adı verilir (21).

Genetik kökenli farklılıkların başka bir örneğini ise sitokrom-P-450 oksidanlarının enzim aktivite farklılıkları oluşturur. Bunların bazı izoenzimleri etken madde yıkımında oldukça önemli roller oynamaktadırlar. Avrupa toplumunun yaklaşık %8'inde CYP2D6 eksiktir ve bu kişiler birçok etken maddeyi metabolize edemezler, bu yüzden de ilaçlar ile zehirlenme ve zarar görmeye her zaman açıktırlar (20,21).

2.1.2. Taşıyıcı protein aktiviteleri:

Bir etken maddenin vücutta dağılımı ve etki yerine ulaşmasında taşıyıcı protein aktiviteleri belirleyicidir. Barsak epiteli geçip, karaciğer içine ve dışına, böbrek itirahına, merkezi sinir sistemine geçişe hep spesifik taşıyıcılar aracılık eder. Ters yönde,

yani konsantrasyon gradyanının tersine hücre dışına olan transport da enerji gerektiren bir taşıyıcı aracılığıyla olur ki bu taşıyıcı P-glikoproteindir ve bu “çoğul ilaç direnci geni” ile kodlanır (21). Transportta etken maddeye geçirimsiz olan membranların yapısındaki proteinler de genetik olarak kodlanmışlardır ve bunlarda da polimorfizm olmaması şaşırtıcı olurdu (21). Bu alandaki çalışmalar çok daha zor olmakla birlikte başlangıç yapılmış durumdadır.

2.1.3. Reseptör proteinlerinde çeşitlilik:

İlaçların davranışlarını değiştirecek bir etken de bağlanma ortağı yani reseptör proteininin farklı bir yapıya sahip olmasıdır. Bu şekilde ilaç etkisi de normal dışına çıkabilir. Örneğin adrenerjik ve dopaminerjik reseptörler alışılmış etkiyi göstermeyen varyantlar olarak bulunabilir (21). Buradan hareketle polimorfizmler farklı hastalarda aynı ilacın aynı dozuna farklı kan düzeyi ve vücut duyarlılığı oluşmasına neden olurlar (20,21).

Farmakogenetik ile ilişkili ve Science dergisi tarafından 1997’de tanımlanan başka bir terim de “kişiselleştirilmiş reçete yazımı”dır (23). Giriş bölümünde de belirtildiği gibi, 1997’deki editöryal yazı kişiselleştirilmiş tedavinin “yakında” klinik pratiğe gireceğini öngörmüştü. Time Dergisi kişiselleştirilmiş reçetelemenin genel kullanımı için 1999 yılındaki tahmininde çok daha kesin bir tarih bildirmiş ve bu tarihi 2015 yılı olarak öngörmüştür. JAMA dergisinin 2001 tarihli öngöründe hedef 2020 yılı olarak belirtilmiştir (19,23).

Kişiselleştirilmiş tıp klinik pratikte aslında kaydedilmiş tarih kadar eskidir. Skyotis ve arkadaşları bizim bugün anladığımız anlamda kişiselleştirilmiş tedavi uygulamalarının izinin Hipokrat’ın el yazmalarına kadar sürülebileceğini belirtmişlerdir (23). Ancak kişiselleştirilmiş tedavinin geleneksel biçimi hastalığın veya tedavinin gözlemine dayanmaktadır. Doktorların hastanın protein biomarkerları gibi bir hastalık açısından yüksek risk taşıdığını gösteren moleküler bilgisini kullanarak tedavi kararlarını saptamaları daha çok yenidir (25).

1902’de Sir Archibald Garrod genetik kalıtım ve hastalığa yatkınlık ile ilgili ilk bağlantıyı alkohtonüride kurmuştur (26). 1956’da antimalaryal ilaç primakinin seçici toksisitesinde genetik temel keşfedilmiştir (26). 1977’de sitokrom-P450 metabolik enzimleri ve bunların ilaçları kimyasal olarak değiştirerek kan dolaşımından atılmalarındaki rolleri keşfedilmiş ve bu enzimlerdeki farklılıkların ilacın etkin dozu üzerine etkilerinin önemi fark edilmiştir (25,26). Kişiselleştirilmiş tedavinin sunabileceği potansiyel yararlar Tablo 2-1’de verilmiştir. Paralel genetik testleri yapmak için yeni teknolojiler 20’nci yüzyılın sonunda geliştirilmiş ve insan gen haritalaması 2000 yılında tamamlanmıştır. Daha yeni teknolojiler sayesinde artık yarım milyondan fazla tek nükleotid polimorfizminin (SNP) bir örnekteki testleri bin amerikan doları seviyesinin altına inmiştir ve maliyetlerin daha da ucuzlaması beklenmektedir (23,27).

2003 yılında, insan genom projesinin tamamlanmasından sadece birkaç yıl sonra kişiselleştirilmiş tıp gerçek anlamıyla başlamış ve genomun da ötesine, moleküler tıbbın tüm alanlarına ilerlemektedir (26).

Tablo 2-1: Kişiselleştirilmiş Tıbbın sunacağı potansiyel yararlar(25)

- Hastalığı tedavi etmesi daha kolay olan erken evrede belirlemek;
- Deneme-yanılma reçetelemesini azaltarak hastaya en uygun tedaviyi vermek;
- İstenmeyen ilaç etkilerini azaltmak;
- Hastanın tedaviye uyumunu arttırmak;
- İlaç geliştirmede hedef seçimini geliştirmek;
- Klinik çalışmaların zaman, masraf ve hata oranlarını azaltmak;
- Pazardan çekilmiş veya klinik çalışmalarda başarısız olmuş ilaçları tekrar kullanıma sokmak;
- Pazarlanmış ilaçların piyasadan çekilmesini engellemek;
- Tıbbın odak noktasını tepki vermekten korunmaya çevirmek;
- Sağlık hizmeti giderlerini genel olarak azaltmak

Bazı hastalıklar artık moleküler profillerine göre karakterize edilebilmektedir. Bu moleküler karakteristik hastalığın nasıl ilerleyeceğine veya hangi özel tedavilere yanıt vereceğine dair yeni bilgiler sunmaktadır. Klinik kullanıma geniş anlamda uyarlandığında genetik ve diğer moleküler tanı yöntemleri sağlık hizmetlerinin sunumunu değiştirebileceklerdir. Bu tür testler hastanın durumu, hastalık şüphesi, ilerleyişi ve ilaç yanıtına dair birçok yeni bilgi vereceklerdir. Bu testlerin birçoğu kalıtsal genetik özelliklere dayandığından sundukları bilgiler sadece hasta ile sınırlı olmayıp, hastanın kan bağı olan yakınlarını da kapsayacaktır (25,26).

Jose de Leon'un görüşüne göre kişiselleştirilmiş reçeteleme sadece farmakogenetik ve diğer testleri değil, ilaç yazmak için geçerli olan tüm bilimsel enformasyonu kullanmalıdır (23). Klinisyenlerin henüz bu terim bulunmadan önce de hastalarına mümkün olan en iyi tedaviyi vermek için geleneksel anlamda kişiselleştirilmiş tıbbı kullandıkları unutulmamalıdır. Klinisyenler reçete yazarken genetik, çevresel ve kişisel değişkenleri göz önüne almalıdırlar. Genetik değişkenler farmakogenetik testler sayesinde tanımlanabilir. Bazı ilaçlar için farmakogenetik değişkenler oldukça büyük önem taşıırken, başka ilaçlarda bu önem minimum olabilir. Birlikte kullanılan ilaçlar ve sigara içimi gibi çevresel değişkenler genetik çeşitlilikten daha önemli olabilir (23). Günümüze değin yapılmış farmakogenetik çalışmaların çoğu çevresel etmenleri dışlayarak yapılmıştır. Çevresel etmenler dışlansa da, genetik varyasyonları ilgili biyolojik etki ile bağdaştırmak görece daha kolaydır, ancak genetik varyasyon ile son yanıt arasındaki bağı kurmak, özellikle çevresel etmenler denklemde yer almıyorsa daha belirsizdir. İdeal olan genetik ve genetik olmayan enformasyonları kullanarak uygun tedavinin seçilmesi olmakla birlikte, genetik testin kendisi de tedavi öncesi test olarak kullanışlı olabilir. Ancak böyle bir yaklaşımın tahmin oranlarının nadiren %80-90lara ulaşacağını göz önüne almak gerekir (28).

2.2. Farmakogenetiğin klinik kullanımı:

Var olan birçok seçenektan belirli bir ilacı seçmek bugün de uyumluluk ve etkinliğin yanı sıra riskler taşımaktadır. Bir ilaç tedavisi bir hastada etkisiz kalırken bir başkasında ağır istenmeyen etkiler gösterebilir. Farmakogenetik kişinin kalıtsal

özelliklerine göre dozun kişisel ayarlanmasına yardımcı olur. Her şeyden önce ilaç metabolize eden enzimler ve bunun yanında taşıyıcılardaki polimorfizmler bazı ilaçların konsantrasyon-zaman eğrisinde kişiler arası farklılıklara neden olurlar. Burada söz konusu ilacın dozunu farmakogenetik yardımıyla ayarlama imkanı ortaya çıkar. Diğer taraftan bir hastanın belli bir ilaçla tedavisindeki başarı hedef molekülün kalıtsal özelliklerine bağımlı olabilir (20).

Birçok hasta tedavi için kendilerine önerilen ilk ilaçtan yarar görmemektedir. Depresyon hastalarının %38'i, artrit hastalarının %50'si, astım hastalarının %40'ı, diyabetik hastaların %43'ü ilk tedaviye yanıt vermemektedir. Çalışmalar cevaptaki bu farklılığın kaynağı olarak ilaç metabolize eden enzimler, ilaç taşıyıcılar ve ilaç hedeflerindeki genetik farklılıkları işaret etmektedir (ayrıntıları bir önceki başlıkta anlatılmıştır). Genetik ve diğer moleküler bilgilerin kullanımı en uygun tedaviyi ilk seferde seçmede ve deneme-yanılma reçetelenmesini dışlamada yol gösterici olacaktır (25).

İstenmeyen ilaç yan etkileri ile ilgili araştırmalar bu sorunun ciddiye alınması gerektiğini göstermektedir. Hastane başvurularının %5'ini istenmeyen ilaç etkileri oluştururken, ABD'de ağır ilaç reaksiyonları oranları giriş bölümünde verilmiştir (1); Almanya'da ağır ilaç reaksiyonlarının yıllık sayısı 120.000 iken, bunların yaklaşık 16.000'i ölümle sonuçlanmaktadır (20). Kişisel ilaç reaksiyonları için çevresel etkenler, tedavi edilen hastalığın şiddeti ve patogenezi, ilaç etkileşimleri, hasta yaşı, genel ve beslenme durumu, karaciğer ve böbrek fonksiyonları gibi birçok neden sayılabilir. Diğer taraftan genetik faktörlerin bugüne kadar düşünüldüğünden daha önemli bir role sahip olduğu artık anlaşılmıştır (20).

Birçok istenmeyen ilaç etkisi CYP enzimlerinin ve diğer ilaç metabolize eden enzimlerin genetik çeşitliliği nedeniyle oluşur. Bu varyantlar ilacın genel popülasyona göre daha hızlı veya daha yavaş metabolize olmasına neden olurlar. Bunun sonucu olarak bazı bireyler bir ilacı inaktive etmek ve vücutlarından atmakta zorlanırlarken, yüksek doz toksisitesine maruz kalabilirler, diğer yandan ise bazı bireyler ilacı o kadar hızlı elimine ederler ki, ilaç işe yarama şansına sahip olamaz. Dozlam oluşturulurken bu varyasyonlar göz önüne alınmadığı takdirde ortaya çıkan sonuçlar tedaviye yeterli yanıt alınamamasından, ölümcül olmaya kadar ciddi sonuçlar doğurabilirler (29,30).

Yasal düzenlemelere bir örnek olarak; terfenadin 1980'lerin sonunda Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından onaylanmış, sedasyon yapmayan bir antihistaminiktir. Başka ilaç kullanmayan sağlıklı deneklerle yapılmış plasebo kontrollü klinik çalışmalara göre ortalama bireyler için ortalama önerilen dozda kullanımı onaylanmıştır. Daha sonra terfenadin ortalama olmayan, hasta ve başka ilaçlar kullanan özneleri de içeren genel toplumun kullanımına sunulduktan sonra doğal ve iyi kontrol edilmeyen ikinci bir deney başlamış oldu. 1996 yılında ABD'de yüzden fazla kişinin bu deney sırasında öldüğü saptandı (31). Ortalama doz; terfenadini metabolize eden CYP enzimini inhibe eden başka ilaçlar kullanan bireylerde toksik doza ve aritmilere neden oluyordu. FDA bundan sonra şirketleri ilaç-ilaç etkileşimi ve CYP metabolizması çalışmaları konusunda zorlamaya başladı. Terfenadinden sonra ilaç-ilaç etkileşimi nedeniyle kardiyak toksisiteye neden olduğu gerekçesiyle birçok ilaç piyasadan çekildi. Bu da reçeteleme bilgilerinin(prospektüs) çevresel ve kişisel değişkenler nedeniyle ilaç yanıtında ortalama olmayan bireylere odaklanmasına yol açtı (31).

Daha sonra FDA genetik bilgileri de bu bilgilere dahil etmeye başladı ve farmakogenetik ve kişiselleştirilmiş reçetelemeyi teşvik eden uyarılarını giderek arttırdı. 2005 yılında FDA CYP2D6 enzimini farmakogenetik bilgisini geçerli bir biyomarker

olarak açıkladı. 2006 yılında FDA ilk farmakogenetik test olarak AmpliChip CYP 450 'yi onayladı. Bu test iki önemli CYP450 enziminin (CYP2D6 ve CYP2C19) 29 varyasyonunu saptamaya yarayan bir test cihazıdır. Bu genler reçete edilen ilaçların yaklaşık %25'i ile ilintilidirler. 2007 yılında ise klinisyenlerin bu testi karbamazepin kullanan belirli bir ırkın alt grubunda yapmaları zorunluluğu doğdu (31,32).

Günümüzde FDA antikoagülan etkisi olan varfarin reçete edilmiş hastalara genetik test yapılmasını önermektedir. Vitamin K'yı aktive eden enzim (VKORC1) ve varfarini metabolize eden enzim olan CYP2C9'un genetik varyasyonlarını saptayarak varfarin dozu belirlenmesindeki gecikmeyi önleyerek, daha hızlı bir şekilde uygun dozu saptamaya yarayan bir algoritma geliştirilmiştir (25,26):

Tablo 2-2: Varfarin dozunu bireye özgü ayarlama denklemi

$$\text{Dozun karekökü} = 0,628 - 0,0135x(\text{Yıl olarak yaş}) - 0,240x(\text{CYP*2}) - 0,370x(\text{CYP*3}) - 0,241x(\text{VKORC1}) + 0,0162x(\text{santimetre olarak boy})$$

CYP2C9*2 ve*3 için bu alellerin genotipteki sayısı girilir (0,1 veya2); VitaminK epoksit redüktaz kompleksil (VKORC1) polimorfizmi için ise GG genotipi için 1, GA için 2 ve AA için 3 girilir.

FDA tarafından onaylanmış farmakogenetik testlerin güncel bir listesi <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/%20Pharmacogenetics/ucm083378.htm#> adresinde verilmiştir (33).

2.3. Farmakogenetik ve Psikiyatri

Geçmişte psikiyatride “kişiselleştirilmiş tıp” terimi farklı bir anlamda kullanılıyorlardı. Osborn 1952'deki psikiyatri kitabını “Psikiyatri ve Tıp: Kişiselleştirilmiş Tıbbı Bir Giriş” olarak adlandırmıştı. Bu başlığın arkasındaki fikir ise her hastanın kendine özgü psikolojik mekanizmaları olan kendine özgü bir birey oluşuydu. Osborn'a göre kişiselleştirilmiş tıbbı yol açan neden genetik değil, psikanalizdi (31).

Günümüzde ise iş dünyası dergileri bile psikiyatriyi (onkoloji ile birlikte) farmakogenetiğin kullanımında en ön sırada tanımlamaktadırlar (34).

Faz 1 metabolik enzimler konusunda psikiyatrik ilaçların farmakokinetiği hakkında görece gelişmiş bilgi mevcut. CYP enzim ailesinin antipsikotik ve antidepresan metabolizmasında ana metabolizörler olması bunu daha da önemli kılıyor. Özellikle iki polimorfik CYP enzimi (CYP 2D6 ve CYP 2C19) için genetik önemli rol oynamaktadır. İkisi için de enzim aktivitesinin olmadığı yavaş metabolize edici bireyler ve çok miktarda aktif enzimin bulunduğu çok hızlı metabolize edici bireyler olduğu saptanmıştır. CYP2D6 için yetmişin üzerinde varyant saptanmıştır, bunların yanında diğer CYP genleri de (CYP1A2, CYP2C9 ve CYP3A4) genetik varyasyonlar göstermektedir (35,36).

Faz 2 enzimleri arasında özellikle Uridin 5-difosfat glukuronosiltransferazlar (UGT'ler) antipsikotik, antidepresan ve duygu durum düzenleyiciler gibi psikiyatrik ilaçların metabolizmasında önemlidir. UGT'ler CYP'lere göre daha az anlaşılmış ve bir miktar dışlanmışlardır (36).

Farmakogenetikte taşıyıcılar da önemli olabilir, özellikle P-glikoprotein kan beyin bariyerinin aşılmasında rol aldığı için önemlidir. P-glikoprotein CYP3A ile örtüşen substratları, indükleyicileri ve inhibitörleri bulunmaktadır. Birçok antidepresan, antipsikotik, antikonvülzan ve duyu durum düzenleyiciler bu taşıyıcının substratlarıdır ve farklı ölçülerde de olsa kan ve beyin konsantrasyonları farkı bundan etkilenir (36).

İyimser bir tahmin, tedavi öncesinde hastanın metabolik durumunun saptanmasının farmakoterapi başarısını yaklaşık %10-15 arttıracığı ve ilaç nedeni istenmeyen etkileri %15-20 azaltacağı öngörmüştür (37).

Çevresel ve klinik bilgilerin farmakogenetik çalışmalara eklenmesi, cevap belirteçlerinin saptanmasını kolaylaştıracak, tedavi seçimi ve cevabın öngörülmesinde ilerleme sağlayacaktır (38). Ancak “*Psikiyatride bireyselleştirilmiş reçetelemenin geleceği – veya geleceğinin olmayışı*” yazısında Jose de Leon bu kadar iyimser bakmamaktadır (36). Bu yazıya göre psikiyatride kişiselleştirilmiş reçetelemenin geleceği, farmakogenetik testleri ve aynı zamanda çevresel ve kişisel değişkenleri göz önüne almayı gerektirmektedir. Yaş ve cinsiyet ilaç yanıtını etkileyen önemli kişisel değişkenlerdir. Bunlar her özne bireyde her özne ilaca farmakokinetik ve farmakodinamik ilaç yanıtını etkilemektedirler (36).

2.4. CYP Enzim Sistemi

CYP enzimleri hem-içeren proteinlerin süper ailesidir ve monooksijenazlar ve karışık işlevli oksidazlar olarak da bilinirler. Kortikosteroidler, yağ asitleri gibi endojen maddelerin ve aynı zamanda karsinojenler, ilaçlar gibi ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumludurlar. P450 ismi bu hem içeren enzimlerin mitokondriyal sitokromlara benzemesi, renklerinin kırmızı olması ve karbonmonoksit bağliken en fazla spektral emilimi 450-nm dalga boyunda göstermelerinden gelmektedir. Yaklaşık 40 adet insan P450 enzimi saptanmıştır (39).

2.4.1. İsimlendirme:

Enzimler arası bağlantıları gösterebilmek için esnek bir isimlendirme sistemi geliştirilmiştir. Her P450 enzimi farklı bir gen tarafından kodlanır. Terminoloji ya gene ya da ilgili proteine işaret etmek için kullanılır. Amino asit sıralanmasında %40'ın üzerinde homoloji gösteren ve proteinleri kodlayan genler aileler olarak gruplanmıştır. On altı insan ailesi tanımlanmış ve her biri bir Arap rakamı ile isimlendirilmiştir. Her aile alt ailelere bölünmüştür ve bu alt aileler en az %60 aminoasit homolojisi gösterirler. Alt aileler ikinci sırada büyük harfler ile gösterilirler. Alt aile sembolünü ise özne üyenin rakamı takip eder. CYP450 ailesinden özne bir enzim öncelikle ‘CYP’ önadı, sonrasında da aile, alt aile ve üyenin kendi sembolleri ile gösterilir (Örneğin CYP2E1) (39).

2.4.2. CYP1A2

CYP1 ailesi üç üyeden oluşur, bunlar CYP1A1, 1A2 ve 1B1'dir, bunlardan CYP1A2 insan karaciğerindeki önemli CYP enzimlerinden biridir ve klinikte kullanılan ilaçların %15'inin metabolizmasında yer alır (15,40). Hem genetik mutasyonlar hem de çevresel etmenler nedeniyle CYP1A2 tarafından metabolize edilen ilaçların eliminasyonunda büyük ölçüde kişiler arası farklılıklar gözlenmiştir (2,15,41-43). CYP1A2 klinik olarak önemli birçok ilacı, metabolizmalarına farklı oranlarda katkıda bulunarak metabolize eder. Tablo 2-3'de CYP1A2 enzimi ile metabolize olan başlıca

ilaçlar enzimin metabolizmadaki etki oranına göre sınıflandırılarak verilmiştir (15).

Tablo 2-3: CYP1A2 enziminin metabolizmasına katıldığı ilaçlar (15)

%30'un üzerinde	Kafein, klozapin, ropivakain, olanzapin, tizanidin, teofilin, takrin, aminopirin, zolmitriptan, melatonin, propranolol, duloksetin, leflunomid, promazin, verapamil, tiyoridazin, nabumeton, ropinirol ve riluzol.
%10-30 arası	Meksiletin, parasetamol, flutamid, lidokain, imipramin, paraksantin, propafenon, terbinafin, borteomib, aminoflavon, 5,6-dimetilksantenon-4 asetik asit (Faz II bir kematerapötik), trazodon, R-varfarin, R-asenokumarol, propofol, antipirin, pentoksifilin, alosetron, furafilin ve tegafur.
%10'un altında	Fluvoksamin, pranidipin, zolpidem, talidomid, siklobenzaprın, naproksen, kumarin, ondansetron, haloperidol, guanabenz, rofekoksib, efavirenz, bufuralol, sinnarizin, flunarizin, azelastin, almotriptan, carvedilol, amitriptilin, nortriptilin, klomipramin, karbamazepin, albendazol, metadon, amiodaron ve difenhidramin.

Bu enzim ayrıca steroidler, retinoller, melatonin ve araşidonik asit gibi birçok endojen bileşiği de metabolize eder.

CYP1A2 ve 1A1 mRNA ve protein düzeylerinde uyarılabilir enzimlerdir ve kimyasallar, sigara içimi ve besin maddeleri ile indüklenebilirler (44,45).

Karbamazepin, dihidralazin, furafilin, izoniazid, rofekoksib, klorgilin, tiyabendazol ve zileuton gibi birçok ilaç CYP1A2 inhibitörüdürler (46).

Şu ana değin CYP1A2 geninin 15 varyant aleli tespit edilmiştir. CYP1A2*1A referans tipi olarak tanımlanmıştır. En çok çalışılmış polimorfizmler olan CYP1A2*1E ve *1F'dir. Bunlar ilk olarak bir Japon toplulukta bildirilmiştir. CYP1A2*1C, *1D, *1F ve *1K değişmiş enzim aktivitesi sergilerler. CYP1A2*C ilk kez Japonlarda %23,3 sıklıkta bulunmuştur. Bu alelin, Japon sigara içicilerinde kafein demetilasyonu ölçülerek, azalmış enzim aktivitesi gösterdiği saptanmıştır (17).

2.5. CYP1A2 ve Psikiyatrik ilaçlar

Klozapin, olanzapin, tiyoridazin başta olmak üzere CYP1A2, CYP3A4 ile birlikte klorpromazin, haloperidol, perfenazin, risperidon, aripipirazol ve zotepin gibi sık kullanılan antipsikotiklerin metabolizmalarında rol oynar (28,47).

Kafein CYP1A2'yi inhibe eder, sigara içimi de CYP1A2'yi indükleyerek ilgili ilaçların metabolizmasını hızlandırır. Nöroleptik ve antidepresanların aynı enzim için yarışarak bunların metabolik aktivitelerini azalttıkları bilinmektedir. Antikonvülzan ilaçlar tersine etki ederek CYP1A2'yi uyarır ve klozapin, olanzapin ve risperidon gibi ilaçların metabolizmalarını hızlandırırlar.

Yavaş CYP1A2 varyantları ilaç nedenli istenmeyen etki riskini arttırırlar. Sigara içiminin özellikle *1C ve *1D varyantlarında CYP1A2'nin aktivitesini arttırdığı bilinmektedir. Klozapin kullanımında CYP1A2 enzimi çok hızlı metabolize eden fenotipteki bireylerde düşük plazma ilaç düzeyleri nedeniyle tedavide gecikme ve

yetersiz yanıt görüldüğü bilindiğinden, bu genetik - çevre etkileşimi klinik olarak önemli olabilir. Eap ve arkadaşları klozapin normal dozuna yanıt vermeyen sigara içicisi 4 hasta bildirmişler ve bunların CYP1A2*1F alelini taşıyan çok hızlı metabolize edici bireyler olduklarını saptamışlardır (28,48,49).

Öte yandan CYP1A2'nin azalmış enzim aktivitesi ile ilişkili alellerinden iki tane taşıyan bireylerde bir veya hiç bu tarz alel taşımayanlara kıyasla daha yüksek plazma konsantrasyonları saptanmıştır (50).

2.6. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)

Genetik alanında Hardy ve Weinberg'in ayrı ayrı gözlemleri modern farmakogenetik için oldukça uygun olan Hardy-Weinberg kanununu üretmiştir. Bu kanuna göre, içinde tek bir değişiklik olan bir alel toplumda belirli bir denge ile dağılır. Sonuçta ortaya çıkan p ve q alelleri aşağıdaki eşitliğe uygun dağılım gösterirler Tablo 2-4'te eşitlik verilmiştir:

Tablo 2-5: Hardy-Weinberg Dengesine göre p ve q alel sıklıklarının dağılımı:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Bunun temeli insan genomunun diploid oluşuna ve üreme sırasında her ebeveynden birer alelin transferine dayanmaktadır. Buradan 2 önemli çıkarım yapılabilir:

- Homozigot p genotipinin (p^2) sıklığı bilindiği takdirde heterozigot ($2pq$) ve homozigot q genotiplerinin (q^2) sıklıkları öngörülebilir.
- Eğer bu eşitlik genotip ve alellerin sıklığını doğru olarak öngörüyorsa 2 alel ve iki fenotip ile sonuçlanan tek bir değişiklik söz konusudur. Eğer toplumdaki genotipler bu eşitliğe uymuyorsa toplumda yoğunlaşmaya neden olan faktörler veya çevresel etmenler söz konusudur ve saf genetik bir etiyoloji yetersiz kalacaktır. Diğer bir alternatif de genotip belirlemede kullanılan metotlardan birinde hata olmasıdır ki bu eşitlik yapılan genetik çalışmalar açısından kalite göstergesi olarak kullanılmaya çok uygundur (51,52).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma hepsi bipolar bozukluk tanısıyla yatarak tedavi gören 30 gönüllü hasta ve 100 sağlıklı gönüllü ile yapılmış ve her iki grubun da yarısı sigara kullanmayan kişilerden seçilirken, diğer yarısı günde 10 adet ve üzerinde sigara kullananlardan seçilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda sigara kullanımından CYP1A2 enziminin etkileneceğinin cinsiyetler arası farklılık gösterdiğine yönelik bulgular olduğundan (53), bu çalışmaya sadece erkek hasta ve gönüllüler dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilmesine karar verilen ve bilgilendirilmiş onamı alınan hastalar ve gönüllülerden genotip belirlemesi için 10ml etilen diamin tetra asetik asitli (EDTA) kan örnekleri alınmış ve daha sonraki analitik işlemler için saklanmıştır.

Genotipleme için kullanılan primerler, enzimler ve oluşan fragman boyları tablo 3-1’de verilmiştir.

Tablo 3-1: Genotiplemede kullanılan primerler, enzimler ve oluşan fragman boyları

Polimorfizm	Fragman boyu (bp)	Restriksiyon Enzimi	Kesim boyu (bp)	Primer Dizisi	Isı (°C)	%Agaroz jel 1	%Agaroz jel 2
1A2 *C	596	Ddel	132/464 (mut)	CYP1A P1: 5-GCT ACA CAT GAT CGA GCT ATA C-3 CYP1A P2: 5-CAG GTC TCT TCA CTG TAA AGT TA-3	52,7-64 51,9-64	2,5	2,5
1A2 *D	167	Ndel	149 (mut)	CYP1A P3: 5-TGA GCC ATG ATT GTG GCA TA-3 CYP1A P4: 5-AGG AGT CTT TAA TAT GGA CCC AG-3	54,4-58 53,7-66	3	4
1A2 *E	169	Stul	137 (mut)	CYP1A P5: 5-AAA GAC GGG GAG CCT GGG CTA GGT GTA GGAG-3 CYP1A P6: 5-AGC CAG GGCCAG GGC TGCCCT TGT GCT AAG-3'	68,1-100 71,7-100	3	4
1A2 *F	243	Apal	119/124 (wild)	CYP1A P7: 5-CCC AGA AGT GGA AAC TGA GA-3' CYP1A P8: 5-GGG TTG AGA TGG AGA CAT TC-3'	54,1-60 52,8-54	3	4

3.1. Optimizasyon aşamaları:

Polimeraz zincir tepkimesi (PCR-Polimerase chain reaction) reaksiyon şartlarının optimizasyonlarının sağlanması için $MgCl_2$ titrasyonu yapılmış ve DMSO’nun reaksiyon etkinliğine katkısı incelenmiştir. Sırası ile önce titrasyon şartları, ardından da optimize genotipleme şartları aşağıda belirtilmiştir. Son olarak da her polimorfizm için elde edilen sonuçlardan örnekler verilmiştir.

3.1.1. Titrasyon şartları

Tablo 3-2’de CYP1A2*C için kullanılmış olan titrasyon karışımları ve tablo 3-3’de aynı enzim için titrasyon şartları yer almaktadır.

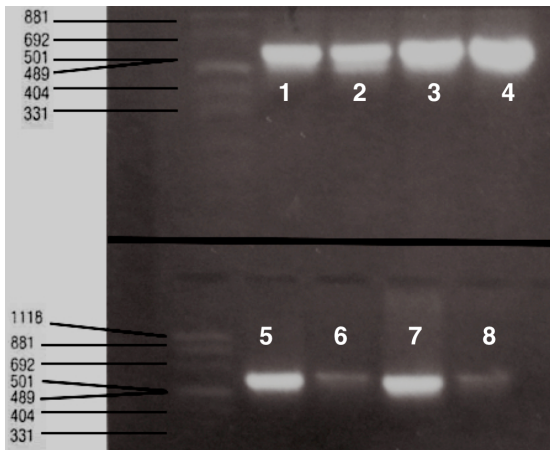
Tablo 3-2: CYP1A2*C için titrasyon karışımı

CYP1A2*C (total: 25µL miks)	x1	x8
PCR reaction buffer (10×)	2,5 µL	20 µL
MgCl ₂	2 µL	16 µL
Primer P1 (10 pmol/µL)	1,25 µL	10 µL
Primer P2 (10 pmol/µL)	1,25 µL	10 µL

Tablo 3-3: CYP1A2*C için titrasyon şartları

Şart	ddH₂O (µl)	MgCl₂(µl)	DMSO(µl)	Miks(µl)
1	16,8	0,5	-	7,2
2	15,8	1	-	7,2
3	15,3	1,5	-	7,2
4	14,8	2	-	7,2
5	13,3	1,5	2	7,2
6	15,3	1,5	-	7,2
7	12,8	2	2	7,2
8	14,8	2	-	7,2

PCR ürünleri% 2.5’luk agaroz jelde görüntülendi. En iyi amplifikasyonu 4’üncü şartın sağladığı gözlemlendi. Şekil 3-1’de amplifikasyon şartlarının sonuçları verilmiştir.



Şekil 3-1: CYP1A2*C için amplifikasyon sonuçları

Tablo 3-4’de CYP1A2*D için kullanılmış olan titrasyon karışımları ve tablo 3-5’de aynı enzim için titrasyon şartları yer almaktadır.

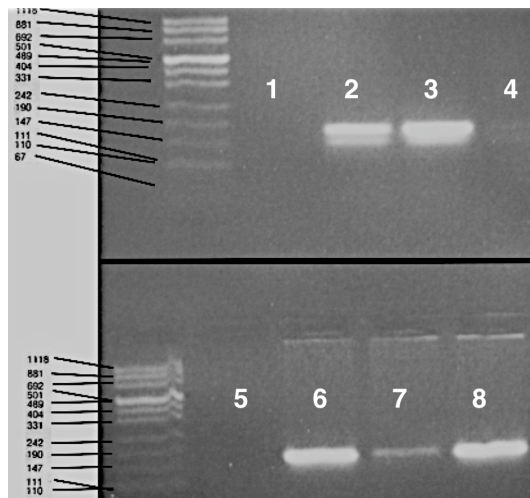
Tablo 3-4: CYP1A2*D için titrasyon karışımı

CYP1A2*D (total: 25 µL Miks)	x1	x8
PCR reaction buffer (10×)	2,5 µL	20 µL
MgCl ₂	2 µL	16 µL
Primer P3 (10 pmol/µL)	1,25 µL	10 µL
Primer P4 (10 pmol/µL)	1,25 µL	10 µL

Tablo 3-5: CYP1A2*D için titrasyon şartları

Şart	ddH₂O (µl)	MgCl₂(µl)	DMSO(µl)	Miks(µl)
1	16,8	0,5	-	7,2
2	15,8	1	-	7,2
3	15,3	1,5	-	7,2
4	14,8	2	-	7,2
5	13,3	1,5	2	7,2
6	15,3	1,5	-	7,2
7	12,8	2	2	7,2
8	14,8	2	-	7,2

PCR ürünleri% 3’lük agaroz jelde görüntülendi. En iyi amplifikasyonu 8’inci şartın sağladığı gözlemlendi. Şekil 3-2’de amplifikasyon şartlarının sonuçları verilmiştir.



Şekil 3-2: CYP1A2*D için amplifikasyon sonuçları

Tablo 3-6’de CYP1A2*E için kullanılmış olan titrasyon karışımları ve tablo 3-7’de aynı enzim için titrasyon şartları yer almaktadır.

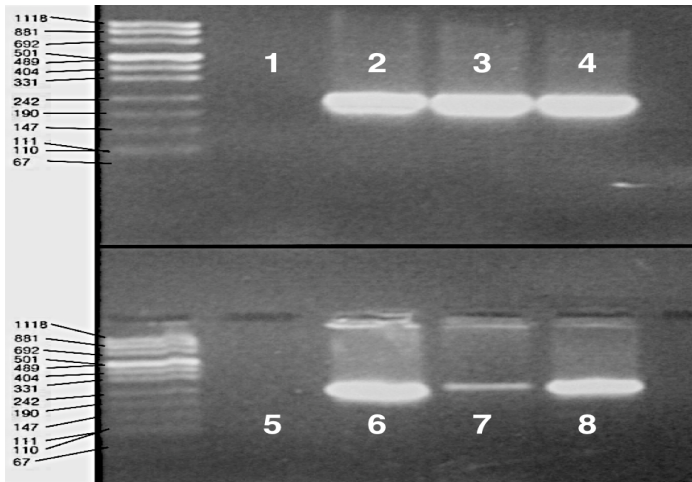
Tablo 3-6: CYP1A2*E için titrasyon karışımı

CYP1A2*E (total: 25 µL miks)	x1	x8
PCR reaction buffer (10×)	2,5 µL	20 µL
MgCl ₂	2 µL	16 µL
Primer P5 (10 pmol/ µL)	1,25 µL	10 µL
Primer P6 (10 pmol/ µL)	1,25 µL	10 µL

Tablo 3-7: CYP1A2*E için titrasyon şartları

Şart	ddH₂O (µl)	MgCl₂(µl)	DMSO(µl)	Miks(µl)
1	16,8	0,5	-	7,2
2	15,8	1	-	7,2
3	15,3	1,5	-	7,2
4	14,8	2	-	7,2
5	13,3	1,5	2	7,2
6	15,3	1,5	-	7,2
7	12,8	2	2	7,2
8	14,8	2	-	7,2

PCR ürünleri% 3'lük agaroz jelde görüntüldü. En iyi amplifikasyonu 8'inci şartın sağladığı gözlemlendi. Şekil 3-3’de amplifikasyon şartlarının sonuçları verilmiştir.



Şekil 3-3: CYP1A2*E için amplifikasyon sonuçları

Tablo 3-8’de CYP1A2*F için kullanılmış olan titrasyon karışımları ve tablo 3-9’de aynı enzim için titrasyon şartları yer almaktadır.

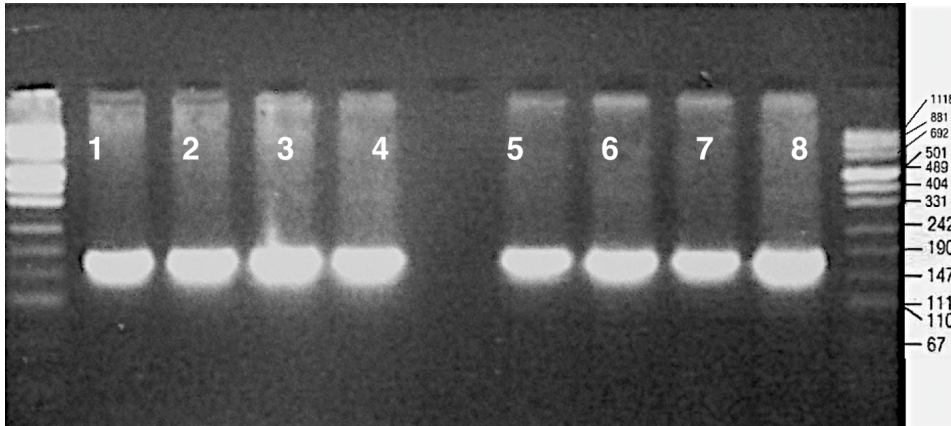
Tablo 3-8: CYP1A2*F için titrasyon karışımı

CYP1A2*F (total: 25 µL miks)	x1	x8
PCR reaction buffer (10×)	2,5 µL	20 µL
MgCl ₂	2 µL	16 µL
Primer P7 (10 pmol/ µL L)	1,25 µL	10 µL
Primer P8(10 pmol/ µL)	1,25 µL	10 µL

Tablo 3-9: CYP1A2*F için titrasyon şartları

Şart	ddH₂O (µl)	MgCl₂(µl)	DMSO(µl)	Miks(µl)
1	16,8	0,5	-	7,2
2	15,8	1	-	7,2
3	15,3	1,5	-	7,2
4	14,8	2	-	7,2
5	13,3	1,5	2	7,2
6	15,3	1,5	-	7,2
7	12,8	2	2	7,2
8	14,8	2	-	7,2

PCR ürünleri% 3’lük agaroz jelde görüntülendi. Tüm şartların iyi amplifikasyon sağladığı gözlemlendi. Şekil 3-4’de amplifikasyon şartlarının sonuçları verilmiştir.



Şekil 3-4: CYP1A2*E için amplifikasyon sonuçları

3.1.2. Optimize genotipleme şartları:

PCR cihazında kullanılan programlar: Touch Down PCR metodu kullanımı esnasında ilk 35 siklüste 64°C’deki yapışma ısısı her siklüsde 1°C aşağıya çekilmiş ve böylelikle ilk ürünler elde edilmiştir. Reaksiyonun ikinci aşamasında ise, fagmanlar 48 °C yapışma ısısı kullanılarak elde edilmiştir. Aşağıda kullanılmış olan program verilmektedir.

Tablo 3-10’daki döngüler CYP1A2 genotiplemeleri için optimize edilmiştir.

Tablo 3-10: PCR şartları

Denaturasyon	95 °C - 5dk
Siklüsler	35x 95 °C - 30 sn
	64 °C - 1dk→↓1°C
	72 °C - 30 sn
	30x 95 °C -30 sn
	48 °C - 1dk
Elongasyon	72 °C - 10 dk

PCR reaksiyon karışımının içeriği tablo 3-11’de verilmiştir:

Tablo 3-11:PCR karışımının içeriği

25 µL Miks	
dH ₂ O	13,8 µL
PCR reaction buffer (10×)	2,5 µL
MgCl ₂	2 µL
Primer F (10 pmol/µL)	1,25 µL
Primer R (10 pmol/µL)	1,25 µL
dNTP (2.5 mmol/L)	2 µL
Taq polym.(5U/µL)	0,2 µL
Templ DNA (100ng/ µL)	2 µL

PCR ürününün restriksiyon enzimi ile sindirilmesinde kullanılan karışımın içeriği tablo 3-12’de verilmiştir.

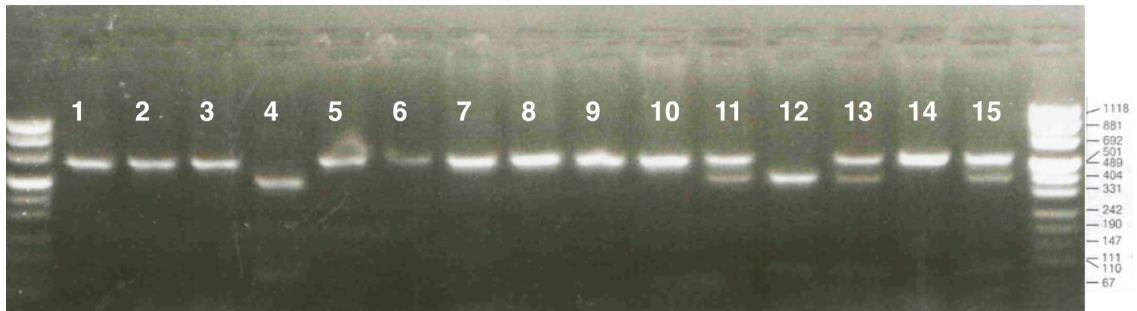
Tablo 3-12: PCR ürününü restriksiyon enzimi ile sindirmede kullanılan karışım

25 µL Miks	
dH ₂ O	11,5 µL
10X RE tamponu	2,5 µL
Restriksiyon enzimi(RE)	1 µL
PCR ürünü	10 µL

3.1.3. Genotipleme örnekleri

Şekil 3-5, 3-6, 3-7 ve 3-8’de elde edilen sonuçlardan örnekler verilmiştir. PCR ürünleri genotipleme yapılabilmesi için Tablo 3-1’de gösterilen restriksiyon enzimleri ile sindirilerek, yine bu tabloda gösterilen ikinci bir agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

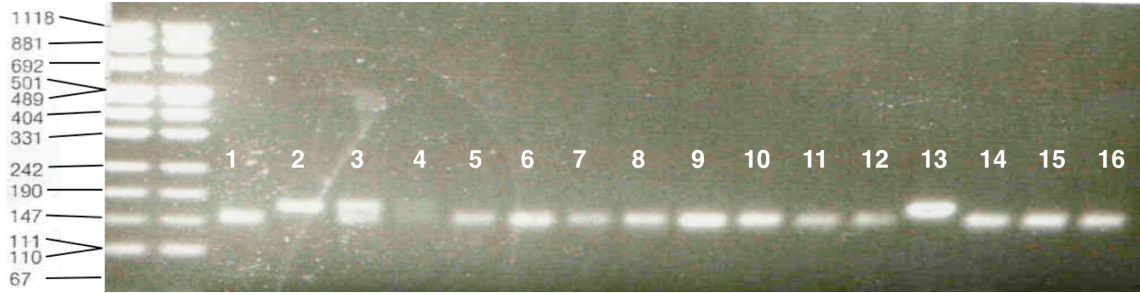
CYP1A2*C genotiplemesi için DdeI restriksiyon enzimi kullanılmıştır. Bu enzim 596 bazlı PCR ürününü 132 ve 464 bazında iki fragmana bölmektedir. Restriksiyon enzimi mutant bazı tanımaktadır. Böylelikle enzim kesimi gerçekleştiğinde, eğer birey 596 bazlık bir fragman taşıyorsa homozigot normal, 596, 464 ve 132 bazlık fragmanlar gözleniyorsa heterozigot olarak mutasyon taşıyıcısı ve sadece 464 ve 132 fragmanlarını taşıyorsa homozigot mutant olarak genotiplenmiştir. Agaroz jellerde genellikle 596 ve 464 bazlık fragmanlar iyi seçilmekte ancak 132 bazlık fragman küçük oluşu nedeniyle iyi seçilememektedir.



Şekil 3-5: CYP1A2*C Genotipleme Sonuç Örnekleri

4 ve 12. örnekler heterozigot polimorfik, 11,13 ve 15. örnekler heterozigot, kalan örnekler ise homozigot normal olarak izlenmektedir.

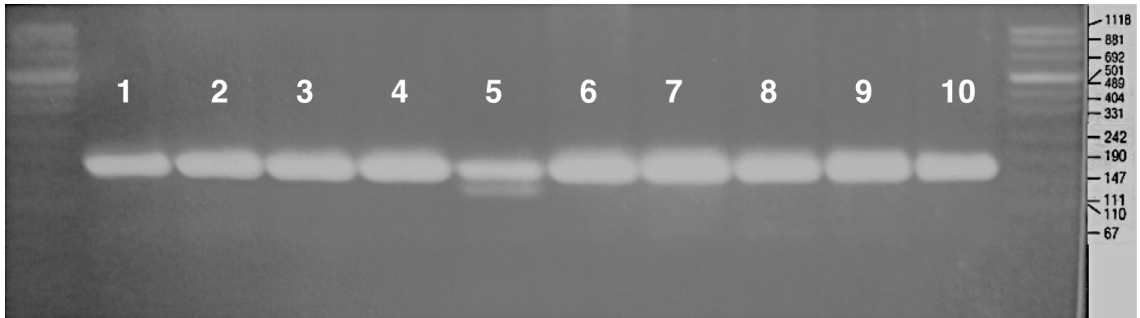
CYP1A2*D genotipleme için NdeI restriksiyon enzimi kullanılmıştır. Bu enzim 167 bazlı PCR ürününü 149 ve 18 bazında iki fragmana bölmektedir. Restriksiyon enzimi mutant bazı tanımaktadır. Böylelikle enzim kesimi gerçekleştiğinde, eğer birey sadece 167 bazlık bir fragman taşıyorsa homozigot normal, 167 ve 149 bazlık fragmanlar gözleniyorsa heterozigot olarak mutasyon taşıyıcısı ve sadece 149 bazlık fragmanı taşıyorsa homozigot mutant olarak genotiplenmiştir. Agaroz jellerde genellikle 167 ve 149 bazlık fragmanlar iyi seçilmekte ancak 18 bazlık fragman küçük oluşu nedeniyle jelde gözlenmemektedir.



Şekil 3-6: CYP1A2*D Genotipleme Sonuç Örnekleri

2 ve 13 numaralı örnekler homozigot normal, 3 numaralı örnek heterozigot, diğer örnekler ise homozigot polimorfik olarak izlenirken, 4 numaralı örnekte yeterli amplifikasyon sağlanamadığı görülmektedir

CYP1A2*E genotipleme için StuI restriksiyon enzimi kullanılmıştır. Bu enzim 169 bazlık PCR ürününü 137 ve 32 bazında iki fragmana bölmektedir. Böylelikle enzim kesimi gerçekleştiğinde, eğer birey sadece 169 bazlık bir fragman taşıyorsa homozigot normal, 169 ve 137 bazlık fragmanlar gözleniyorsa heterozigot olarak mutasyon taşıyıcısı ve sadece 137 bazlık fragmanı taşıyorsa homozigot mutant olarak genotiplenmiştir. Agaroz jellerde genellikle 169 ve 137 bazlık fragmanlar iyi seçilmekte ancak 32 bazlık fragman küçük oluşu nedeniyle jelde gözlenmemektedir.



Şekil 3-7: CYP1A2*E Genotipleme Sonuç Örnekleri

5 numaralı örnek heterozigot olduğu görülürken diğer tüm örneklerin homozigot normal olarak izlenmektedir.

CYP1A2*F genotiplemesi için ApaI restriksiyon enzimi kullanılmıştır. Bu enzim 243 bazlık PCR ürününü 119 ve 124 bazınlarında iki fragmana bölmektedir. Restriksiyon enzimi normal alleli tanımaktadır. Böylelikle enzim kesimi gerçekleştiğinde, eğer birey sadece 243 bazlık bir fragman taşıyorsa homozigot mutant, 243, 119 ve 124 bazlık fragmanlar taşıyorsa heterozigot olarak mutasyon taşıyıcısı ve sadece 119 ve 124 bazlık fragmanları taşıyorsa homozigot normal olarak genotiplenmiştir. Agaroz jellerde genellikle 119 ve 124 bazlık fragmanların arasındaki farkın küçük oluşu nedeniyle jelde iki fragman ayrı biçimde gözlenmemektedir. Böylece heterozigot örnekler iki fragman biçiminde gözlenmiştir.



Şekil 3-8: CYP1A2*F Genotipleme Sonuç Örnekleri

3 ve 8 numaralı örnekler homozigot polimorfik, 4,5,10,11,17 ve 18 numaralı örnekler heterozigot, kalan örnekler homozigot normal olarak izlenirken, 7 ve 9 numaralı örneklerde yeterli amplifikasyonun sağlanamadığı görülmektedir.

3.2. Hardy-Weinberg dengelerinin hesaplanması

Genotipleme sonucu elde edilen frekansların Hardy-Weinberg dengesine (HWE) uygun olup olmadığı Münih Teknik Üniversitesi İnsan Genetiği Enstitüsü'nün <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl> adresindeki kullanımı serbest programı ile hesaplanmıştır.

3.3. İstatistik Hesaplamaları

Elde edilen alel frekanslarının birbirleri ile kıyaslanmasında STATA programının güncel sürümü olan 11.nci sürümü kullanılmıştır. Elde edilen frekanslar grupların örneklem sayılarına göre, ki-kare testine uygun hale getirilmiş, bu aşamada ortaya çıkan ondalık sayılar 0,50 ve üzerinde ise yukarıya, 0,49 ve altında ise de aşağıya yuvarlanarak tam sayılar elde edilmiş ve bu değerler ile ki-kare testi uygulanmıştır. Bazı grupların örneklem sayılarının oldukça düşük olduğu göz önünde bulundurularak yanıltıcı sonuçlardan kaçınmak amacı ile Yates düzeltmesi kullanılmamıştır.

Gruplar küçük olduğundan aynı test, frekanslar örneklem sayılarına oranlanmadan, sadece yüzdelik değerleri kullanılarak bir kez daha yapılmış; ancak bu sonuçlar bilimsel değerleri şüpheli olduğundan bulgular bölümünde verilmeyip, sadece önem arz edenleri tartışma kısmına dahil edilmiştir.

3.4. Forest Grafikleri

Tartışma bölümünde diğer çalışmalar ile yapılan kıyaslamalardan sonra bu karşılaştırmalara ait birer Forest grafiği verilmiştir. Bu grafikler meta-analizlerde oldukça sık kullanılmakta ve burada her çalışma için %95 güven aralığını da gösteren bir kare oluşturulurken, meta-analizin tamamı için bir baklava deseni oluşturulmakta, bunun merkezi genel beklenti noktasını ve yatay köşeleri güven aralığını göstermektedir (54). Amaç okuyucunun bir bakışta hem tek tek çalışmalara hem de tüm meta-analize dair hızlı bir şekilde fikir edinmesini sağlamaktır. Grafikteki her karenin büyüklüğü o çalışmanın verilen çalışmalar arasındaki ağırlığını göstermekte ve bunda birinci belirleyici faktör örnek sayısı olmaktadır (54). Bu çalışmada kullanılan Forest grafikleri “Comprehensive Meta Analysis” programı kullanılarak oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

Alınan kanlardan hastalara ait olan iki tanesi ile gönüllülere ait olan on iki tanesi trombüs oluşumu nedeniyle çalışılmadı. Ayrıca tüm örnekler tüm polimorfizmler için amplifiye edilemedi. Güvenilir amplifikasyon sağlanamayan örnekler çalışma dışı bırakıldı. CYP1A2*C polimorfizmi için trombüs oluşanlar dışındaki tüm örneklerin amplifikasyonu sağlanırken, CYP1A2*D polimorfizmi için toplam 16, CYP1A2*E polimorfizmi için bir, CYP1A2*F için de yine bir adet örnek amplifiye edilemedi.

Bulgular verilirken tablolarda **Genotip-0: Homozigot Normal, Genotip-1 Heterozigot, Genotip-2 ise Homozigot polimorfik** yerine kullanılmıştır.

4.1 CYP1A2*C Sonuçları:

Hastalar ve gönüllülerden elde edilen sonuçların tamamı sigara içen ve içmeyen alt gruplarına göre sınıflanmış olarak ham veriler bölümünde verilmiştir.

Elde edilen bu değerlerden Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve **sık alel frekansı 0,90+/-0,019** olarak bulundu. **p=0,884 (Pearson)** Pearson's goodness-of-fit chi-square (degree of freedom = 1).

Bu sonuç HWE ile uyumlu olarak bulundu.

Daha sonra alt grupların Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve bunlar STATA-11 programı kullanılarak chi-kare (χ^2) testi ile birbirleriyle kıyaslandı.

Tablo 4-1, Tablo 4-2 ve Tablo 4-3'de hastalarda elde edilen sonuçlar ile gönüllülerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-1: Hasta ve gönüllülerin toplamalarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Toplam Hasta	23	5	-	28	p=0,604 (Pearson)
A1 Frekans	0,91 +/- 0,036				
A2 Frekans	0,09				
Toplam Gönüllü	71	16	1	88	p=0,926 (Pearson)
A1 Frekans	0,90 +/-0,023				
A2 Frekans	0,10				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,005$ p=0,941

CYP1A2*C polimorfizmi için hastaların tamamında A1 alel frekansı 0,91; A2 alel frekansı ise 0,09 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,604$). Aynı polimorfizm için gönüllülerin tamamında A1 alel frekansı 0,90; A2 alel frekansı ise 0,10 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,926$). Hastaların toplamında elde edilen sık alel frekansı (A1) ile gönüllülerin tamamında elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,005$ ve $p=0,941$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-2: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	11	3	-	14	p= 0,653 (Pearson)
A1 Frekans	0,89 +/- 0,055				
A2 Frekans	0,11				
Sigara İçen Gönüllü	41	8	-	49	p= 0,534 (Pearson)
A1 Frekans	0,92 +/-0,026				
A2 Frekans	0,08				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,47$ $p=0,491$

CYP1A2*C polimorfizmi için sigara içen hastalarda A1 alel frekansı 0,89; A2 alel frekansı ise 0,11 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,653$). Aynı polimorfizm için sigara içen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,92; A2 alel frekansı ise 0,08 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,534$). Sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,47$ ve $p=0,491$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-3: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçmeyen Hasta	12	2	-	14	p= 0,773 (Pearson)
A1 Frekans	0,93 +/-0,047				
A2 Frekans	0,07				
Sigara İçmeyen Gönüllü	30	8	1	39	p= 0,607 (Pearson)
A1 Frekans	0,87 +/-0,039				
A2 Frekans	0,13				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata 11 programı kullanılarak kıkare testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,33$ $p=0,565$

CYP1A2*C polimorfizmi için sigara içmeyen hastalarda elde edilen A1 alel frekansı 0,93; A2 alel frekansı ise 0,07 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu

bulundu ($p=0,773$). Aynı polimorfizm için sigara içmeyen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,87; A2 alel frekansı ise 0,13 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,607$). Sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak kıkare testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,33$ ve $p=0,565$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-4, Tablo 4-5 ve Tablo 4-6'de sigara içen ve içmeyenlerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-4: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamalarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Total Sigara İçen	52	11	-	63	p= 0,448 (Pearson)
A1 Frekans	0,91 +/-0,024				
A2 Frekans	0,09				
Total Sigara İçmeyen	42	10	1	53	p= 0,661 (Pearson)
A1 Frekans	0,89 +/-0,032				
A2 Frekans	0,11				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,10$ $p=0,752$

CYP1A2*C polimorfizmi için sigara içenlerin tümünde A1 alel frekansı 0,91; A2 alel frekansı ise 0,09 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,448$). Aynı polimorfizm için sigara içmeyenlerin tümünde A1 alel frekansı 0,89; A2 alel frekansı ise 0,11 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu ($p=0,661$). Sigara içenlerin tümünde elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içmeyenlerin tümünde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,10$ ve $p=0,752$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-5: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Gönüllü	41	8	-	49	p= 0,534 (Pearson)
A1 Frekans	0,92 +/-0,026				
A2 Frekans	0,08				
Sigara İçmeyen Gönüllü	30	8	1	39	p= 0,607 (Pearson)
A1 Frekans	0,87 +/-0,039				
A2 Frekans	0,13				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,51$ $p=0,474$

CYP1A2*C polimorfizmi için sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı ($A1=0,92 \pm 0,026$) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı ($A1=0,87 \pm 0,039$) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,51$ ve $p=0,474$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-6: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	11	3	-	14	p= 0,653 (Pearson)
A1 Frekans	0,89 +/-0,055				
A2 Frekans	0,11				
Sigara İçmeyen Hasta	12	2	-	14	p= 0,773 (Pearson)
A1 Frekans	0,93 +/-0,047				
A2 Frekans	0,07				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,37$ $p=0,541$

CYP1A2*C polimorfizmi için sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı ($A1=0,89 \pm 0,055$) ile sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı ($A1=0,93 \pm 0,047$) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,37$ ve $p=0,541$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

4.2 CYP1A2*D Sonuçları:

Hastalar ve gönüllülerden elde edilen sonuçların tamamı sigara içen ve içmeyen alt gruplarına göre sınıflanmış olarak ham veriler bölümünde verilmiştir.

Elde edilen bu değerlerden Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve **sık alel frekansı 0,68 $\pm$ 0,031** olarak bulundu. Burada polimorfik alel sık alel olarak bulunmuştur. **p=0,243 (Pearson)** Pearson's goodness-of-fit chi-square (degree of freedom = 1)

Bu sonuç HWE ile uyumlu olarak bulundu.

Daha sonra alt grupların Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve bunlar STATA-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle kıyaslandı.

Tablo 4-7, Tablo 4-8 ve Tablo 4-9'da hastalarda elde edilen sonuçlar ile gönüllülerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-7: Hasta ve gönüllülerin toplamalarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Toplam Hasta	1	13	9	23	p=0,170 (Pearson)
A1 Frekans	0,33				
A2 Frekans	0,67 +/-0,058				
Toplam Gönüllü	7	36	34	77	p=0,562 (Pearson)
A1 Frekans	0,32				
A2 Frekans	0,68 +/-0,036				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,04$ p=0,836

CYP1A2*D polimorfizmi için hastaların toplamında A1 alel frekansı 0,33; A2 alel frekansı ise 0,67 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,170). Aynı polimorfizm için gönüllülerin toplamında A1 alel frekansı 0,32; A2 alel frekansı ise 0,68 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,562). Hastaların toplamında elde edilen sık alel frekansı (A2) ile gönüllülerin tamamında elde edilen sık alel frekansı (A2) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,04$ ve p=0,836 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-8: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	1	7	3	11	p= 0,294 (Pearson)
A1 Frekans	0,41				
A2 Frekans	0,59 +/- 0,087				
Sigara İçen Gönüllü	5	20	18	43	p=0,876 (Pearson)
A1 Frekans	0,35				
A2 Frekans	0,65 +/- 0,051				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,42$ p=0,517

CYP1A2*D polimorfizmi için sigara içen hastalarda A1 alel frekansı 0,41; A2 alel frekansı ise 0,59 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,294). Aynı polimorfizm için sigara içen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,35; A2 alel frekansı ise 0,65 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,876). Sigara içen hastalarda elde edilen sık frekansı (A2) ile sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A2) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,42$ ve p=0,517 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-9: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçmeyen Hasta	-	6	6	12	p= 0,248 (Pearson)
A1 Frekans	0,25				
A2 Frekans	0,75 +/-0,072				
Sigara İçmeyen Gönüllü	2	16	16	34	p= 0,437 (Pearson)
A1 Frekans	0,29				
A2 Frekans	0,61 +/-0,051				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar:
 $\chi^2=0,09$ p=0,770

CYP1A2*D polimorfizmi için sigara içmeyen hastalarda A1 alel frekansı 0,25; A2 alel frekansı ise 0,75 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,248). Aynı polimorfizm için sigara içmeyen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,29; A2 alel frekansı ise 0,61 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,437). Sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A2) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A2) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,09$ ve p=0,770 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-10, Tablo 4-11 ve Tablo 4-12’de sigara içen ve içmeyenlerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-10: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamlarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Total Sigara İçen	6	27	21	54	p= 0,539 (Pearson)
A1 Frekans	0,36				
A2 Frekans	0,64 +/- 0,044				
Total Sigara İçmeyen	2	22	22	46	p= 0,223 (Pearson)
A1 Frekans	0,28				
A2 Frekans	0,72 +/-0,042				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar:
 $\chi^2=0,55$ p=0,459

CYP1A2*D polimorfizmi için sigara içenlerin toplamında A1 alel frekansı 0,36; A2 alel frekansı ise 0,64 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,539). Aynı polimorfizm için sigara içmeyenlerin toplamında A1 alel frekansı 0,28; A2 alel frekansı ise 0,72 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,223). Sigara içenlerin toplamında elde edilen sık alel frekansı (A2) ile sigara içmeyenlerde toplamında edilen sık alel frekansı (A2) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile

karşılaştırıldı. $\chi^2=0,55$ ve $p=0,459$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-11: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Gönüllü	5	20	18	43	p= 0,876 (Pearson)
A1 Frekans	0,35				
A2 Frekans	0,65 +/- 0,051				
Sigara İçmeyen Gönüllü	2	16	16	34	p= 0,437 (Pearson)
A1 Frekans	0,29				
A2 Frekans	0,71 +/- 0,051				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,26$ p=0,611

CYP1A2*D polimorfizmi için sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A2= **0,65** +/- 0,051) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A2=**0,71** +/- 0,051) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,26$ ve $p=0,611$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-12: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	1	7	3	11	p= 0,294 (Pearson)
A1 Frekans	0,41				
A2 Frekans	0,59 +/- 0,087				
Sigara İçmeyen Hasta	-	6	6	12	p= 0,248 (Pearson)
A1 Frekans	0,25				
A2 Frekans	0,75 +/- 0,072				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=1,06$ p=0,304

CYP1A2*D polimorfizmi için sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A2=**0,59** +/- 0,087) ile sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A2=**0,75** +/- 0,072) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=1,06$ ve $p=0,304$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

4.3 CYP1A2*E Sonuçları:

Hastalar ve gönüllülerden elde edilen sonuçların tamamı sigara içen ve içmeyen alt gruplarına göre sınıflanmış olarak ham veriler bölümünde verilmiştir.

Elde edilen bu değerlerden Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve **sık alel frekansı 0,93+/-0,021** olarak bulundu. **p=4,361e-06 (Pearson)** Pearson's goodness-of-fit chi-square (degree of freedom = 1)

Bu sonuç HWE ile **uyumsuz** olarak bulundu.

Daha sonra alt grupların Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve bunlar STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle kıyaslandı.

Tablo 4-13, Tablo 4-14 ve Tablo 4-15'de hastalarda elde edilen sonuçlar ile gönüllülerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-13: Hasta ve gönüllülerin toplamalarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Toplam Hasta	25	1	2	28	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	0,91 +/-0,051				
A2 Frekans	0,09				
Toplam Gönüllü	77	8	2	87	p= 0,008 (Pearson)
A1 Frekans	0,93 +/-0,022				
A2 Frekans	0,07				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,43$ p=0,513

CYP1A2*E polimorfizmi için hastaların toplamında A1 alel frekansı 0,91; A2 alel frekansı ise 0,09 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumsuz bulundu (**p< 0,001**). Aynı polimorfizm için gönüllülerin toplamında A1 alel frekansı 0,93; A2 alel frekansı ise 0,07 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumsuz bulundu (**p=0,008**). Hastaların toplamında elde edilen sık alel frekansı (A1) ile gönüllülerin tamamında elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,43$ ve p=0,513 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-14: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	14	-	-	14	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	1,00 +/- 0,000				
A2 Frekans	0,00				
Sigara İçen Gönüllü	43	2	2	47	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	0,94 +/-0,032				
A2 Frekans	0,06				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar:
 $\chi^2=0,94$ p=0,332

CYP1A2*E polimorfizmi için sigara içen hastalarda A1 alel frekansı 1,00; A2 alel frekansı ise 0,00 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumsuz bulundu (**p<0,001**). Aynı polimorfizm için sigara içen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,94; A2 alel frekansı ise 0,06 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumsuz bulundu (**p<0,001**). Sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,94$ ve p=0,332 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-15: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçmeyen Hasta	11	1	2	14	p= 0,005 (Pearson)
A1 Frekans	0,82 +/-0,096				
A2 Frekans	0,18				
Sigara İçmeyen Gönüllü	34	6	-	40	p= 0,608 (Pearson)
A1 Frekans	0,93 +/-0,028				
A2 Frekans	0,07				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar:
 $\chi^2=2,04$ p=0,154

CYP1A2*E polimorfizmi için sigara içen hastalarda A1 alel frekansı 0,82; A2 alel frekansı ise 0,18 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumsuz bulundu (**p=0,005**). Aynı polimorfizm için sigara içmeyen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,93; A2 alel frekansı ise 0,07 olarak bulundu ve bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,608). Sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=2,04$ ve p=0,154 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-16, Tablo 4-17 ve Tablo 4-18’de sigara içen ve içmeyenlerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-16: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamalarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Total Sigara İçen	57	2	2	61	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	0,95 +/-0,025				
A2 Frekans	0,05				
Total Sigara İçmeyen	45	7	2	54	p= 0,032 (Pearson)
A1 Frekans	0,90 +/-0,033				
A2 Frekans	0,10				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,83$ p=0,361

CYP1A2*E polimorfizmi için sigara içenlerin toplamında A1 alel frekansı 0,95; A2 alel frekansı ise 0,05 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumsuz bulundu (p<0,001). Aynı polimorfizm için sigara içmeyenlerin toplamında A1 alel frekansı 0,90; A2 alel frekansı ise 0,10 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumsuz bulundu (p=0,032). Sigara içenlerin toplamında elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içmeyenlerin toplamında elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,83$ ve p=0,361 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-17: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Gönüllü	43	2	2	47	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	0,94 +/-0,032				
A2 Frekans	0,06				
Sigara İçmeyen Gönüllü	34	6	-	40	p= 0,608 (Pearson)
A1 Frekans	0,93 +/-0,028				
A2 Frekans	0,07				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,04$ p=0,838

CYP1A2*E polimorfizmi için sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1=0,94 +/-0,032) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1=0,93 +/-0,028) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,04$ ve p=0,838 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-18: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırılması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	14	-	-	14	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	1,00 +/- 0,000				
A2 Frekans	0,00				
Sigara İçmeyen Hasta	11	1	2	14	p< 0,001 (Pearson)
A1 Frekans	0,82 +/-0,096				
A2 Frekans	0,18				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=3,36$ p=0,067

CYP1A2*E polimorfizmi için sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1=**1,00** +/-0,000) ile sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1= **0,82** +/-0,096) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=3,36$ ve p=0,067 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

4.4 CYP1A2*F Sonuçları:

Hastalar ve gönüllülerden elde edilen sonuçların tamamı sigara içen ve içmeyen alt gruplarına göre sınıflanmış olarak ham veriler bölümünde verilmiştir.

Elde edilen bu değerlerden Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve **sık alel frekansı 0,74+/-0,030** olarak bulundu. **p= 0,570 (Pearson)** Pearson's goodness-of-fit chi-square (degree of freedom = 1)

Bu sonuç HWE ile uyumlu olarak bulundu.

Daha sonra alt grupların Hardy-Weinberg dengesine göre alel frekansları hesaplandı ve bunlar STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle kıyaslandı.

Tablo 4-19, Tablo 4-20 ve Tablo 4-21'de hastalarda elde edilen sonuçlar ile gönüllülerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-19: Hasta ve gönüllülerin toplamlarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Toplam Hasta	14	11	3	28	p= 0,708 (Pearson)
A1 Frekans	0,70 +/-0,064				
A2 Frekans	0,30				
Toplam Gönüllü	50	31	6	87	p= 0,692 (Pearson)
A1 Frekans	0,75 +/-0,033				
A2 Frekans	0,25				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,12$ p=0,731

CYP1A2*F polimorfizmi için hastaların toplamında A1 alel frekansı 0,70; A2 alel frekansı ise 0,30 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,708). Aynı polimorfizm için gönüllülerin toplamında A1 alel frekansı 0,75; A2 alel frekansı ise 0,25 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,692). Hastaların toplamında elde edilen sık alel frekansı (A1) ile gönüllülerin tamamında elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,12$ ve p=0,731 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-20: Sigara içen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	6	6	2	14	p= 0,803 (Pearson)
A1 Frekans	0,64 +/-0,094				
A2 Frekans	0,36				
Sigara İçen Gönüllü	28	15	4	47	p= 0,349 (Pearson)
A1 Frekans	0,76 +/-0,047				
A2 Frekans	0,24				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,84$ p=0,358

CYP1A2*F polimorfizmi için sigara içen hastalarda A1 alel frekansı 0,64; A2 alel frekansı ise 0,36 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,803). Aynı polimorfizm için sigara içen gönüllülerde A1 alel frekansı 0,76; A2 alel frekansı ise 0,24 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,349). Sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,84$ ve p=0,358 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-21: Sigara içmeyen hasta ve gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçmeyen Hasta	8	5	1	14	p= 0,859 (Pearson)
A1 Frekans	0,75 +/-0,084				
A2 Frekans	0,25				
Sigara İçmeyen Gönüllü	22	16	2	40	p= 0,673 (Pearson)
A1 Frekans	0,75 +/-0,047				
A2 Frekans	0,25				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar:
 $\chi^2=0,07$ p=0,788

CYP1A2*F polimorfizmi için sigara içmeyen hastalarda A1 alel frekansı 0,75; A2 alel frekansı ise 0,25 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,859). Aynı polimorfizm için sigara içmeyen gönüllülerde de A1 alel frekansı 0,75 ve A2 alel frekansı ise 0,25 olarak bulundu; bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu (p=0,673). Sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,07$ ve p=0,788 olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-22, Tablo 4-23 ve Tablo 4-24’de sigara içen ve içmeyenlerde elde edilen sonuçlar alt gruplara ayrılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4-22: Sigara içen ve içmeyenlerin toplamalarının karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Total Sigara İçen	34	21	6	61	p= 0,319 (Pearson)
A1 Frekans	0,73 +/-0,043				
A2 Frekans	0,09				
Total Sigara İçmeyen	30	21	3	54	p= 0,785 (Pearson)
A1 Frekans	0,75 +/-0,041				
A2 Frekans	0,11				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar:
 $\chi^2=0,07$ p=0,790

CYP1A2*F polimorfizmi için sigara içenlerin toplamında A1 alel frekansı 0,73; A2 alel frekansı ise 0,27 olarak bulundu; bu sonuç HWE ile uyumlu bulundu (p=0,319). Aynı polimorfizm için sigara içmeyenlerin toplamında A1 alel frekansı 0,75; A2 alel frekansı ise 0,25 olarak bulundu ve bu sonuç da HWE ile uyumlu bulundu. Sigara içenlerin toplamında elde edilen sık alel frekansı (A1) ile sigara içmeyenlerin

tamamında elde edilen sık alel frekansı (A1) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,07$ ve $p=0,790$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-23: Sigara içen ve içmeyen gönüllülerin karşılaştırması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Gönüllü	28	15	4	47	p= 0,349 (Pearson)
A1 Frekans	0,76 +/-0,047				
A2 Frekans	0,24				
Sigara İçmeyen Gönüllü	22	16	2	40	p= 0,673 (Pearson)
A1 Frekans	0,75 +/-0,047				
A2 Frekans	0,25				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,03$ $p=0,862$

CYP1A2*F polimorfizmi için sigara içen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1=**0,76** +/-0,047) ile sigara içmeyen gönüllülerde elde edilen sık alel frekansı (A1=**0,75** +/-0,047) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,03$ ve $p=0,862$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4-24: Sigara içen ve içmeyen hastaların karşılaştırılması

Genotip	0	1	2	Total	p değeri
Sigara İçen Hasta	6	6	2	14	p= 0,803 (Pearson)
A1 Frekans	0,64 +/-0,094				
A2 Frekans	0,36				
Sigara İçmeyen Hasta	8	5	1	14	p= 0,859 (Pearson)
A1 Frekans	0,75 +/-0,084				
A2 Frekans	0,25				

Buradan elde edilen sık alel frekansları Stata-11 programı kullanılarak χ^2 testi ile birbirleriyle karşılaştırıldılar: $\chi^2=0,70$ $p=0,403$

CYP1A2*F polimorfizmi için sigara içen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1=**0,64** +/-0,094) ile sigara içmeyen hastalarda elde edilen sık alel frekansı (A1=**0,75** +/-0,084) STATA 11 programı kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0,70$ ve $p=0,403$ olarak bulundu; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

5 TARTIŞMA

Birçok klinik çalışma CYP polimorfizmi ile ilaç yanıtı ve atılımı arasında bağlantı kurmuştur. Örnek olarak, Obase ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada astım hastaları ile sağlıklı gönüllülerin karşılaştırılması sonucu, CYP1A2 5'uç yan bölgesinde homozigot polimorfizmi bulunan hastaların, heterozigot ve homozigot normal genotip saptanan hastalara göre teofilin atılımının oldukça yavaş olduğu saptanmıştır (55). Sigara içimi ve CYP2D6 genotipinin ikisi de tiyoridazin plazma düzeyini etkilemektedir (56). Trazadon'un kararlı plazma düzeyi sigara içenlerde belirgin olarak daha düşüktür (57). Romatoid artritli hastalarda CYP1A2*F polimorfizminin leflunomid nedenli organ toksisitesini etkilediği ve homozigot polimorfik olanlarda riskin diğerlerine göre 9,7 kat arttığı gösterilmiştir. Bu tarz çalışmalar ama özellikle de Sachse C. ve arkadaşlarının 1999 yılındaki çalışmasında aynı genetik varyasyon ile sigara içenlerde %40 aktivite farkı gözlenirken, içmeyenlerde aktivite farkı oluşmadığının saptanması (18), bu çalışma için yol gösterici olmuş ve çalışma planlanırken hem sağlıklı gönüllülerle bipolar hastalardaki CYP1A2 polimorfizm sıklığının hem de sigara içen ve içmeyen kişilerdeki polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Yukarıda verilmiş olan sonuçlarda da görüldüğü gibi hiç bir grubun karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Buradan CYP1A2 polimorfizm sıklığının gerek sigara içiciliğinden, gerekse bipolar hastalığın nedenlerinden bağımsız olduğu sonucu çıkmaktadır. Ancak burada göz önünde bulundurulması gereken bir etmen de gruplardaki (özellikle hasta gruplarındaki) örnek sayısının azlığıdır. Çünkü aynı sonuçları yüzde olarak alıp, her grupta 100 örnek varmış gibi bir projeksiyon yaparak uygulanan χ^2 testi sonucunda bazı gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır. CYP1A2*C ve CYP1A2*F polimorfizmlerinde gruplar arasında bu projeksiyon ile de istatistiki anlamlı bir fark bulunamazken, CYP1A2*D polimorfizminde sigara içen ve içmeyen hastalar arasındaki karşılaştırmada ve CYP1A2*E polimorfizminde ise sigara içen ve içmeyen hastalar arasında, sigara içen hastalar ve gönüllüler arasında ve sigara içmeyen hasta ve gönüllüler arasında anlamlı farklar gözlenmiştir. Burada elde edilen veriler Tablo 5-1, Tablo 5-2, Tablo 5-3 ve Tablo 5-4'de verilmiştir.

Tablo 5-1: Sigara içen ve içmeyen hastalarda CYP1A2*D polimorfizm frekansının karşılaştırması

CYP1A2*D	Alel 1	Alel 2
Sigara içen hastalar	59	41
Sigara içmeyen hastalar	75	25
Güven Aralığı: 0,250-0,914	$\chi^2=5,79$	p=0,016

Aynı karşılaştırma frekanslar grupların n sayılarına oranlanarak yapıldığında $\chi^2=1,06$ p=0,304 olarak bulunmuş ve anlamlı fark saptanmamıştı; oysa frekans oranları sabit tutularak grupların n sayıları 100'e amplifiye edilerek karşılaştırıldığında tabloda görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($\chi^2=5,79$ ve p=0,016).

Tablo 5-2: Sigara içen ve içmeyen hastalarda CYP1A2*E polimorfizm frekansının karşılaştırılması

CYP1A2*E	Alel 1	Alel 2
Sigara içen hastalar	100	0
Sigara içmeyen hastalar	82	18
Güven Aralığı: 5,641	$\chi^2=19,78$	p<0,001

Aynı karşılaştırma frekanslar grupların n sayılarına oranlanarak yapıldığında $\chi^2=3,36$ p=0,067 olarak bulunmuş ve anlamlı fark saptanmamıştı; oysa frekans oranları sabit tutularak grupların n sayıları 100'e amplifiye edilerek karşılaştırıldığında tabloda görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($\chi^2=19,78$ ve p<0,001).

Tablo 5-3: Sigara içen hastalar ve gönüllülerde CYP1A2*E polimorfizm frekansının karşılaştırılması

CYP1A2*E	Alel 1	Alel 2
Sigara içen hastalar	100	0
Sigara içen gönüllüler	94	6
Güven Aralığı: 1,631	$\chi^2=6,19$	p=0,013

Aynı karşılaştırma frekanslar grupların n sayılarına oranlanarak yapıldığında $\chi^2=0,94$ p=0,332 olarak bulunmuş ve anlamlı fark saptanmamıştı; oysa frekans oranları sabit tutularak grupların n sayıları 100'e amplifiye edilerek karşılaştırıldığında tabloda görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($\chi^2=6,19$ ve $p<0,013$).

Tablo 5-4: Sigara içmeyen gönüllü ve hastalarda CYP1A2*E polimorfizm frekansının karşılaştırılması

CYP1A2*E	Alel 1	Alel 2
Sigara içmeyen hastalar	82	18
Sigara içmeyen gönüllüler	93	7
Güven Aralığı: 0,116-0,919	$\chi^2=5,53$	p=0,019

Aynı karşılaştırma frekanslar grupların n sayılarına oranlanarak yapıldığında $\chi^2=2,04$ p=0,154 olarak bulunmuş ve anlamlı fark saptanmamıştı; oysa frekans oranları sabit tutularak grupların n sayıları 100'e amplifiye edilerek karşılaştırıldığında tabloda görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($\chi^2=5,53$ ve $p<0,019$).

CYP1A2*E polimorfizminde 3 grup karşılaştırmasında bu projeksiyonda anlamlı farklar elde edilmesi, her ne kadar sigara içen hasta grubundaki değerlerin %100 bulunması nedeniyle iki gruptaki güven aralığının tek rakamdan ibaret olmasına neden olsa da, özellikle bu enzim polimorfizmi sıklığının sigara içiciliği ile olası ilişkisi

açısından daha büyük örnek sayıları ile tekrar çalışılması gerekliliği yönünde uyarıcı niteliktedir.

CYP1A2*E Sonuçları'nın HWE ile uyumsuz olarak bulunması, enzim kesimleri oluşturulurken referans olarak kullanılan çalışma ile uyumlu olduğundan (58), bu çalışmada uygulanan yöntemlerdeki bir hatayı değil, toplumda yoğunlaşmaya neden olan faktörler veya çevresel etmenleri işaret ettiği düşünülmüştür.

CYP1A2 polimorfizmleri açısından farklı topluluklarda farklı dağılımlar gözlenebilmektedir. CYP1A2*1C polimorfizmi Beyaz ırkta Asyalılara göre daha nadir görülürken (59), özellikle Türklerde(%4), Japon(%21) ve Çinlilere(%25) göre anlamlı olarak düşük bulunmuş, Mısırlılar(%7) ve Türklerde ise görece bir uyum gözlenmiştir (55,58,60,61).

CYP1A2*1D aleli Beyaz ırkta Asyalı ve Afrikalılara göre daha nadirdir (18,62). Beyaz ırkta bu alelin frekansı 0,04 ila 0,08 arasında saptanmışken, bu oran Japonlarda 0,42-0,44 ve Mısırlılarda 0,40 bulunmuştur. Türklerde yapılmış tek çalışmada bu oran çok yüksek (0,92) bulunmuştur (18,58-61,63).

Bilgen T. ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada (60) elde ettikleri sonuçları diğer toplumlarda elde edilen çalışmalar ile karşılaştırmışlar ve CYP1A2*C polimorfizm frekansında Japon ve Çinliler ile Türkler arasında anlamlı fark saptarken, Mısırlılar ile Türkler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (60). CYP1A2*D polimorfizm frekansında hem Japonlar hem de Mısırlılar ile anlamlı fark bulunmuştur. CYP1A2*E polimorfizm frekansında Japonlar ile anlamlı fark saptanırken, Mısırlılar ile anlamlı bir fark bulunmamıştır. CYP1A2*F polimorfizm frekansında Japon ve Etiyopyalılar ile anlamlı fark bulunurken, Mısırlılar, Çinliler ve Beyaz ırk ile anlamlı bir fark bulunmamıştır (60).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da hem diğer toplumlarda elde edilenler hem de Bilgen ve arkadaşlarının Türk toplumunda elde ettikleri sonuçlar ile karşılaştırıldı.

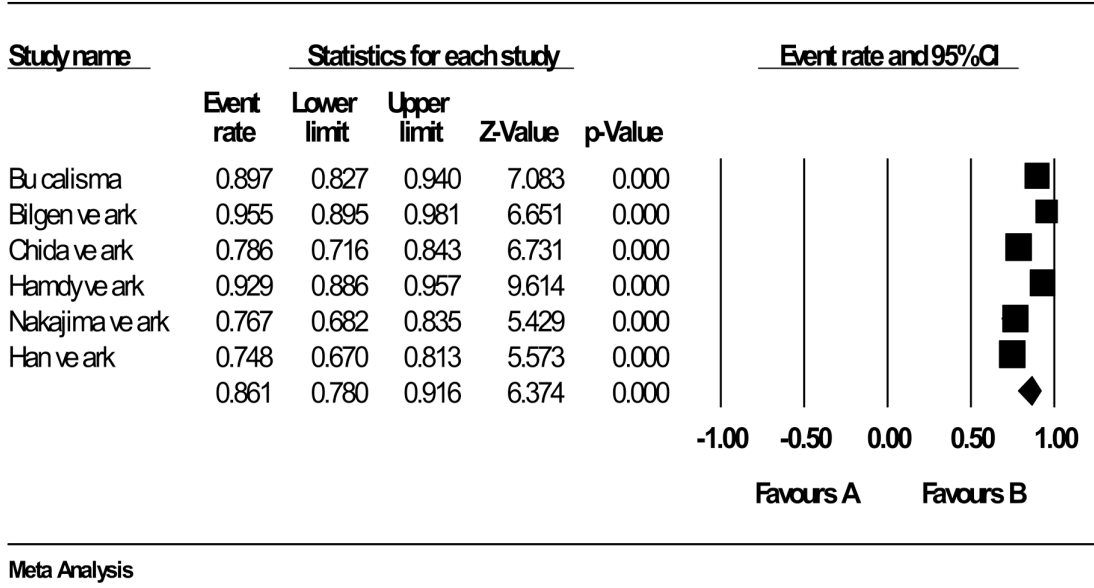
CYP1A2*C polimorfizm frekanslarının χ^2 testi ile karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler Tablo 5-5 verilmiştir.

Tablo 5-5: Farklı çalışmalarda CYP1A2*C polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması

CYP1A2*C	Bilgen(60) (n=110)	Chida(58) (n=159)	Hamdy(61) (n=212)	Nakajima(17) (n=116)	Han(64) (n=139)
G Aleli	0,96	0,79	0,97	0,77	0,75
A Aleli	0,04	0,21	0,03	0,23	0,25
Güven aralığı	0,075 - 1,129	1,074 - 5,067	0,277 - 1,608	1,199 - 6,024	1,380 - 6,505
χ^2	3,86	5,31	1,06	6,94	9,26
p değeri	0,049	0,021	0,303	0,009	0,002

Bu çalışmada CYP1A2*C için **G alel frekansı 0,90**; A alel frekansı ise 0,10 olarak bulunmuştur. Tabloda ilk iki satırda verilen değerler adı geçen çalışmanın alel frekansı, alt satırlar ise **bu çalışma** ile adı geçen çalışmanın istatistiki karşılaştırma sonuçlarıdır.

Burada Chida (58), Nakajima (17) ve Han (64) ve ark. nın yaptığı çalışmalar ile bu çalışmada elde edilen çalışmalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ve bu çalışmada G alel frekansının daha yüksek bulunduğu gözlenirken, Hamdy ve ark. 'nın (61) yaptığı çalışma ile anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bilgen ve ark. 'nın (60) yaptığı çalışma ile yapılan karşılaştırmada ise istatistiksel olarak çok ender gerçekleşen bir durumla karşılaşmış olup; güvenlik aralığına bakıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunurken, p değeri ise anlamlı bir fark göstermektedir. Ancak söz konusu p değeri de 0,0494 gibi çok sınırda bir değer olduğundan, güvenlik aralığını daha ön planda değerlendirilerek bu iki çalışma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı kanaati ön plana çıkmıştır. “Comprehensive Meta Analysis” programı kullanılarak oluşturulan Forest grafiği Şekil 5-1’de görülmektedir.



Şekil 5-1: CYP1A2*C karşılaştırmasının Forest Grafiği

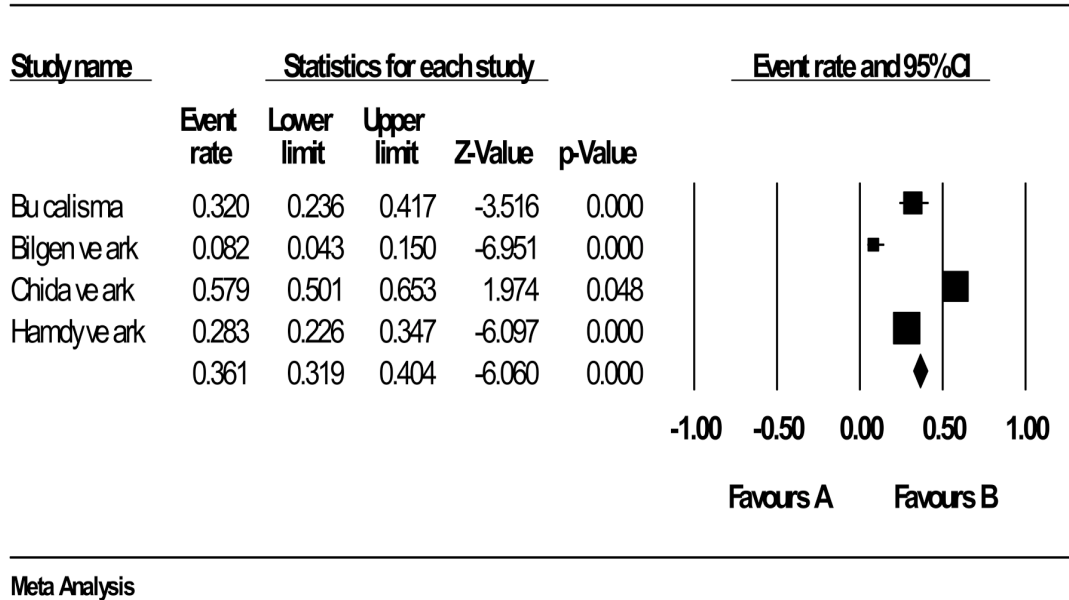
CYP1A2*D polimorfizm frekanslarının χ^2 testi ile karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler Tablo 5-6 verilmiştir.

Tablo 5-6: Farklı çalışmalarda CYP1A2*D polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması

CYP1A2*D	Bilgen(60) (n=110)	Chida(58) (n=159)	Hamdy(61) (n=212)
T Aleli	0,08	0,58	0,60
del Aleli	0,92	0,42	0,40
Güven aralığı	2,267 - 13,302	0,195 - 0,598	0,184 - 0,535
χ^2	18,91	16,45	21,17
p değeri	<0,001	<0,001	<0,001

Bu çalışmada T alel frekansı 0,32; **del alel frekansı ise 0,68** olarak bulunmuştur. Tabloda ilk iki satırda verilen değerler adı geçen çalışmanın alel frekansı, alt satırlar ise **bu çalışma** ile adı geçen çalışmanın istatistiki karşılaştırma sonuçlarıdır.

Burada yapılan tüm karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklar mevcuttur. Bilgen ve arkadaşlarının çalışmasında Türk toplumunda bu polimorfizmin çok yoğun gözlemlendiği saptanmış ve yayınlanmıştır. Buradan hareketle bu çalışmadaki sonuçların Japon ve Mısır toplumlarına göre anlamlı yüksek bulunması öngörülebilir bir sonuç olmakla birlikte Bilgen ve arkadaşlarının çalışmasına göre anlamlı düşük bulunması öngörülebilir değildir. Bu çalışmada da diğer toplumlara oranla çok sık polimorfik alel saptanmış olmasına rağmen, Bilgen ve arkadaşlarının elde ettiği değere göre oldukça düşüktür. Bu fark Sarp ve arkadaşlarının (65) daha önce belirttikleri gibi Türk toplumunun gerek coğrafi gerek köken olarak oldukça heterojen bir toplum olması ile açıklanabilir. Özellikle Bilgen ve arkadaşlarının çalışmasının görece daha homojen bir toplumdaki oluşan Antalya şehrinde, bu çalışmanın ise çok daha kozmopolit ve heterojen yapıdaki İstanbul'da yapılmış olması göz önüne alındığında bu fark daha açıklanabilir olmaktadır. Elde edilen bu sonuç Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilecek genetik çalışma sonuçlarının oldukça farklı sonuçlar verebileceği konusunda uyarıcı olmalıdır. "Comprehensive Meta Analysis" programı kullanılarak oluşturulan Forest grafiği Şekil 5-2'de görülmektedir.



Şekil 5-2: CYP1A2*D karşılaştırmasının Forest Grafiği

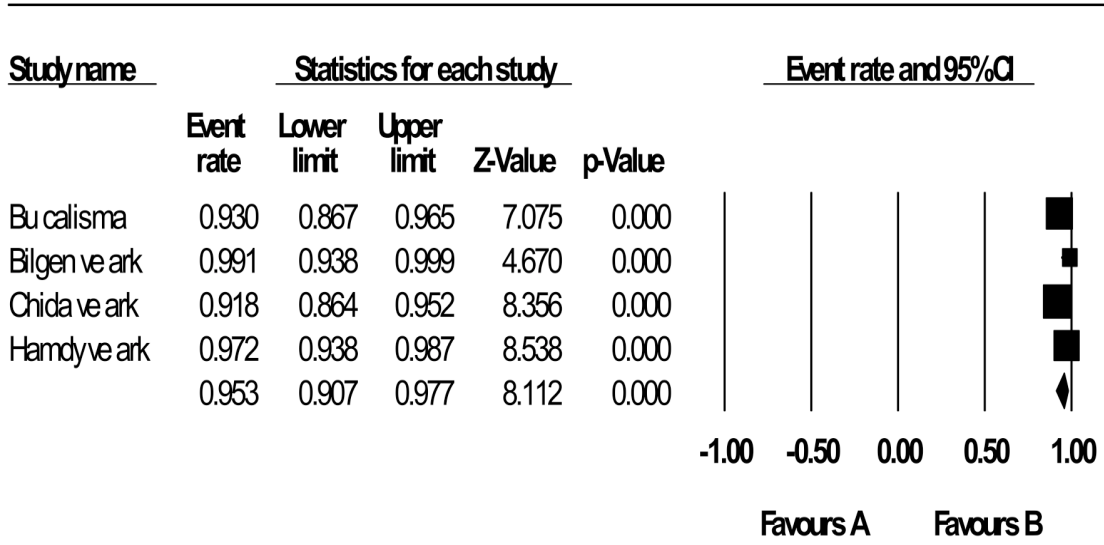
CYP1A2*E polimorfizm frekanslarının χ^2 testi ile karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler Tablo 5-7 verilmiştir.

Tablo 5-7: Farklı çalışmalarda CYP1A2*E polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması

CYP1A2*E	Bilgen(60) (n=110)	Chida(58) (n=159)	Hamdy(61) (n=212)
T Aleli	0,99	0,92	0,97
G Aleli	0,01	0,08	0,03
Güven aralığı	0,003 - 0,948	0,439 - 3,436	0,109 - 1,322
χ^2	5,35	0,14	3,10
p değeri	0,021	0,708	0,078

Bu çalışmada T alel frekansı 0,93; G alel frekansı ise 0,07 olarak bulunmuştur. Tabloda ilk iki satırda verilen değerler adı geçen çalışmanın alel frekansı, alt satırlar ise **bu çalışma** ile adı geçen çalışmanın istatistiki karşılaştırma sonuçlarıdır.

Buradaki istatistiksel olarak anlamlı tek farkın Türk toplumunda yapılan iki çalışma arasında saptanmış olması, diğer taraftan bu çalışma ile Japon ve Mısır toplumlarındaki çalışmalar arasında anlamlı bir fark saptanmamış olmasını açıklamak oldukça zordur. Burada akla en yakın açıklama Bilgen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki (60) A aleli sıklığının sadece %1 olmasının istatistiki bir hataya yol açmış olması, eğer örneklem boyutları büyütülecek olursa bu farkın ortadan kalkacağı yönündedir. “Comprehensive Meta Analysis” programı kullanılarak oluşturulan Forest grafiği Şekil 5-3’de görülmektedir.



Meta Analysis

Şekil 5-3: CYP1A2*E karşılaştırmasının Forest Grafiği

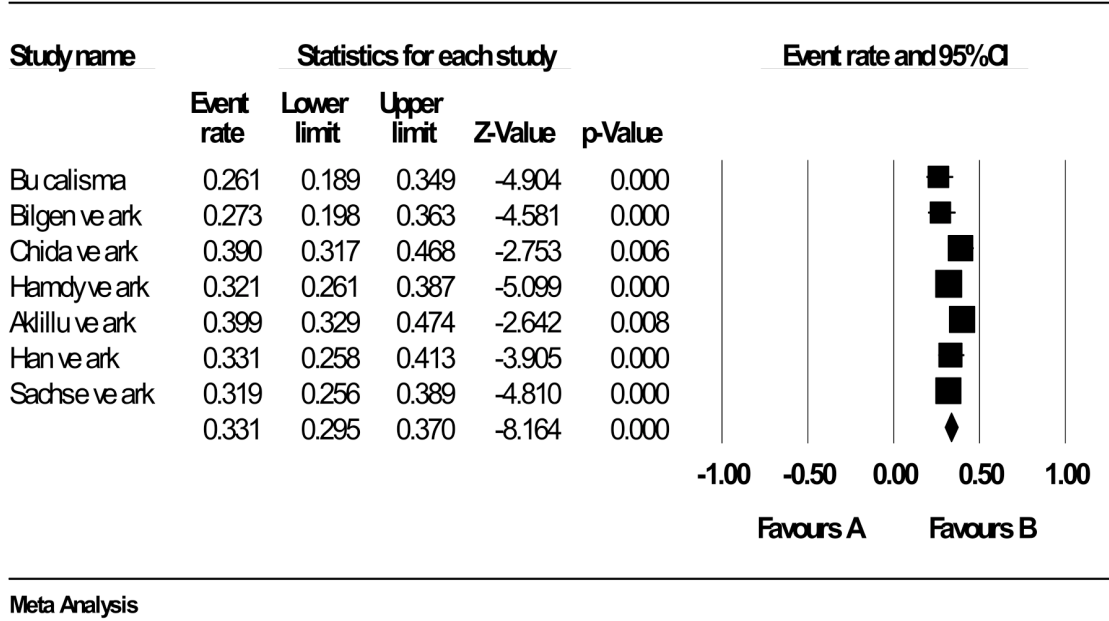
CYP1A2*F polimorfizm frekanslarının χ^2 testi ile karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler Tablo 5-8 verilmiştir.

Tablo 5-8: Farklı çalışmalarda CYP1A2*F polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılması

	Bilgen(60) (n=110)	Chida(58) (n=159)	Hamdy(61) (n=212)	Han(64) (n=139)	Aklillu(66) (n=173)	Sachse(18) (n=185)
C Aleli	0,27	0,39	0,32	0,33	0,40	0,32
A Aleli	0,73	0,61	0,68	0,67	0,60	0,68
Güven aralığı	0,499 - 1,77	0,315 - 0,961	0,459 - 1,357	0,421 - 1,358	0,324 - 0,977	0,457 - 1,388
χ^2	0,04	4,98	0,79	0,98	4,70	0,70
p değeri	0,841	0,026	0,374	0,322	0,030	0,403

Bu çalışmada C-alel frekansı 0,74; A-alel frekansı ise 0,24 olarak bulunmuştur. Tabloda ilk iki satırda verilen değerler adı geçen çalışmanın alel frekansı, alt satırlar ise **bu çalışma** ile adı geçen çalışmanın istatistiki karşılaştırma sonuçlarıdır.

Buradaki karşılaştırma sonuçları Bilgen ve arkadaşlarının sonuçları ile örtüşmektedir. Bu çalışmada da Japon ve Etiyopya toplumlarındaki frekanslar ile istatistiksel anlamlı fark saptanırken, Mısır, Çin ve Alman toplumlarındaki sonuçlar ile anlamlı bir fark saptanmamıştır. “Comprehensive Meta Analysis” programı kullanılarak oluşturulan Forest grafiği Şekil 5-2’de görülmektedir.



Şekil 5-4: CYP1A2*F karşılaştırmasının Forest Grafiği

Bu çalışma sonucunda benzer çalışmaları yaparken daha büyük örneklem grupları oluşturmanın ve mümkün olduğunca farmakogenetik çalışmaların farmakokinetik verilerle desteklenmesinin önemi ortaya çıkmıştır. Ayrıca özellikle Türkiye gibi heterojen toplumlarda farklı lokalizasyonlarda yapılan benzer çalışmalarda dahi farklı genetik dağılımların gözlenebileceğinin unutulmaması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: meta analysis of prospective studies. *J Am Med Assoc* 1998;279:1200-5
2. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacol Ther.* 2007;116:496–526.
3. Gex-Farby M, Balant-Gorgia AE, Balant LP. Therapeutic drug monitoring of olanzapine: the combined effect of age, gender, smoking, and comedication. *Ther Drug Monit* 2003;25:46-53
4. Carrillo JA, Herraiz AG, Ramos SI, Gervasini G, Vizcaino S, Benitez J. Role of the smoking induced cytochrome P450 (CYP) 1A2 and polymorphic CYP2D6 in steady-state concentration of olanzapine. *J Clin Psychopharmacol* 2003;23:119-2
5. Haslemo T, Eikeseth PH, Tanum L, Molden E, Refsum H. The effect of variable cigarette consumption on the interaction with clozapine and olanzapine. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62:1049-53
6. Kalow W ve Tang BK. Caffeine as a metabolic probe: exploration of the enzyme inducing effect of cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther* 1991;49:44-8
7. Botts S, Diaz FJ, Santaro V, Spina E, Muscatello MR, Cogollo M ve ark. Estimating the effects of co-medications on plasma olanzapine concentrations by using a mixed model, *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* (2008), doi:10.1016/j.pnpbp.2008.04.018
8. Basile VS, Özdemir V, Masellis M, Walker ML, Meltzer HY, Lieberman JA ve ark. A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene: association with tardive dyskinesia in schizophrenia. *Molecular Psychiatry* (2000) 5; 410-417
9. Yoshii K, Kobayashi K, Tsumuji M, Tani M, Shimada N, Chiba K. Identification of human cytochrome P450 isoforms involved in the 7-hydroxylation of chlorpromazine by human liver microsomes. *Life Sci* 2000;67:175–84.
10. Carrillo JA, Ramos SI, Herraiz AG, Llerena A, Agundez JA, Berecz R, ve ark. Pharmacokinetic interaction of fluvoxamine and thioridazine in schizophrenic patients. *J Clin Psychopharmacol* 1999;19:494–9.
11. Shin JG, Soukhova N, Flockhart DA. Effect of antipsychotic drugs on human liver cytochrome P-450 (CYP) isoforms in vitro: preferential inhibition of CYP2D6. *Drug Metab Dispos* 1999;27:1078–84.
12. Jibson MD ve Tandon R. An overview of antischizophrenic medications. *CNS News* 2004:109–15 December.
13. Bertilsson L, Carrillo JA, Dahl ML, Llerena A, Alm C, Bondesson U, ve ark. Clozapine disposition covaries with CYP1A2 activity determined by a caffeine test. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38:471–3.
14. Ring BJ, Catlow J, Lindsay TJ, Gillespie T, Roskos LK, Cerimele BJ, ve ark. Identification of the human cytochromes P450 responsible for the in vitro formation of the major oxidative metabolites of the antipsychotic agent olanzapine. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;276:658–66.
15. Zhou SF, Yang LP, Zhou ZW, Liu YH, Chan E. Insights into the Substrate Specificity, Inhibitors, Regulation, and Polymorphisms and the Clinical Impact of Human Cytochrome P450 1A2. *The AAPS Journal*, Vol. 11, No. 3, September

- 2009 (# 2009) DOI: 10.1208/s12248-009-9127-y
16. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem* (2008) 392:1093–1108
 17. Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem* 1999; 125:803-808
 18. Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of the C-A polymorphism in intron I of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 47:445-449
 19. De Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing CYP450-2D6 and CYP450-2C19. *Psychosomatics* 47:1, Jan-Feb 2006
 20. Gerloff T ve Roots I. Bedeutung der Pharmakogenetik für die taegliche Praxis. *Internist (Berl)*. 46(11) 1270-7. Nov; 2005
 21. Lüllman H, Mohr K, Hein L. *Pharmakologie und Toxikologie*. Page 53; Georg Thieme Verlag, 16. Auflage 2006
 22. Pirmohamed M: Pharmacogenetics and pharma- cogenomics. *J Clin Pharmacol* 2001;52:345–347.
 23. De Leon J. Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine for CNS disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2009 Jan;34(1):159-72. Epub 2008 Sep 17.
 24. Steele FR. Personalized Medicine, January 2009, Vol. 6, No. 1, Pages 1-5
 25. The Personalized Medicine Coalition; The Case for Personalized Medicine, 2009, Son erişim tarihi: 24 Mart 2012 <http://www.ageofpersonalizedmedicine.org/objects/pdfs/TheCaseforPersonalizedMedicine.pdf>
 26. The Personalized Medicine Coalition;The Case for Personalized Medicine, 3th edition, 2011, Son erişim tarihi : 24 Mart 2012 http://www.personalizedmedicinecoalition.org/sites/default/files/files/Case_for_PM_3rd_edition.pdf
 27. Fodor SP. 1997 DNA sequencing: massively parallels genomics *Science* 277 393–5
 28. Arranz MJ ve Kapus S; Pharmacogenetics in psychiatry: are we ready for widespread clinical use?; *Schizophr Bull*. 2008 Nov;34(6):1130-44. Epub 2008 Aug 27
 29. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA*. 2001; 286:2270-9.
 30. Blue Cross Blue Shield Technology Evaluation Center. Special Report: Genotyping For Cytochrome P450 Polymorphisms To Determine Drug-Metabolizer Status. Assessment Program. 2004; 19(9):1-34.
 31. De Leon J; Future of Personalized Prescription in Psychiatry; Schwab M, Kaschka WP, Spina E (eds): *Pharmacogenomics in Psychiatry*. Adv Biol Psychiatry. Basel, Karger, 2010, vol 25, pp 118–134
 32. Jain KK. Applications of AmpliChip® CYP450. *Mol Diag*. 2005; 9(3):119-27.
 33. <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/%20Pharmacogenetics/ucm083378.htm#>; Son erişim Tarihi 24 Mart 2012
 34. Cappel K, Arndt M, Carey J: Drugs get smart. *Business Week*, 2005, pp76-85.
 35. Bolonna A, Arranz MJ, Mancama D, Kerwin RW. Phartmacogenomics—can genetics help in the care of psychiatric patients? *International Review of Psychiatry*

- (2004), 16(4), 311-319
36. De Leon J; The future (or lack of future) of personalized prescription in psychiatry. *Pharmacol Res.* 2009 Feb;59(2):81-9. Epub 2008 Oct 17
 37. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci.* 2004 Apr;25(4):193-200.
 38. Arranz MJ ve Kapur S. Pharmacogenetics in psychiatry: are we ready for widespread clinical use? *Schizophr Bull.* 2008 Nov;34(6):1130-44. Epub 2008 Aug 27
 39. Wijnen PA, Op den Buijsch RA, Drent M, Kuijpers PM, Neef C, Bast A, ve ark. Review article: The prevalence and clinical relevance of cytochrome P450 polymorphisms. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:211-9.
 40. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;270:414-23.
 41. Zhou SF, Di YM, Chan E, Du YM, Chow VD, Xue CC ve ark. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab.* 2008;9:738-84.
 42. Gunes A ve Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics.* 2008;9:625-37.
 43. Zhou SF, Liu JP, Chowbay B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact. *Drug Metab Rev.* 2009;41:89-295.
 44. Ma Q. Induction of CYP1A1. The AhR/DRE paradigm: transcription, receptor regulation, and expanding biological roles. *Curr Drug Metab.* 2001;2:149-64.
 45. Ma Q ve Lu AY. CYP1A induction and human risk assessment: an evolving tale of in vitro and in vivo studies. *Drug Metab Dispos.* 2007;35:1009-16.
 46. Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev.* 2002;34:83-448.
 47. Marja-Liisa Dahl. Cytochrome P450 Phenotyping/Genotyping in Patients Receiving Antipsychotics Useful Aid to Prescribing? *Clin Pharmacokinet* 2002; 41 (7): 453-470
 48. Eap CB, Bender S, Jaquenoud Sirot E, Cucchia G, Jonzier-Perey M, Baumann P ve ark. Nonresponse to clozapine and ultrarapid CYP1A2 activity: clinical data and analysis of CYP1A2 gene. *J Clin Psychopharmacol.* 2004;24:214-9.
 49. Ozdemir V, Kalow W, Okey AB, Lam MS, Albers LJ, Reist C ve ark. Treatment-resistance to clozapine in association with ultrarapid CYP1A2 activity and the C>A polymorphism in intron 1 of the CYP1A2 gene: effect of grapefruit juice and low-dose fluvoxamine. *J Clin Psychopharmacol.* 2001;21:603-7.
 50. Melkersson KI, Scordo MG, Gunes A, Dahl ML. Impact of CYP1A2 and CYP2D6 polymorphisms on drug metabolism and on insulin and lipid elevations and insulin resistance in clozapine-treated patients. *J Clin Psychiatry.* 2007;68:697-704.
 51. Flockhart DA. Clinical Pharmacogenetics içinde Atkinson AJ, Abernethy DR, Daniels CE, Dedrick RL, Markey SP. Principles of Clinical Pharmacology, Second Edition, pp.179-195 Academic Press, 2007
 52. Linder MW, Evans WE, McLeod HL. Application of Pharmacogenetic Principles to Clinical Pharmacology içinde Burton ME, Shaw LM, Schentag JJ, Evans WE; Applied Pharmacokinetics & Pharmacodynamics. 4th Edition. pp. 165-185 Lippincott Williams & Wilkins 2006

53. Nozawa M, Ohnuma T, Matsubara Y, Sakai Y, Hatano T, Hanzawa R ve ark. The relationship between the response of clinical symptoms and plasma olanzapine concentration, based pharmacogenetics. *Ther. Drug Monit.* 2008; 30:35-40
54. Lewis S, Clarke M. Forest plots: trying to see the wood and the trees. *BMJ* 2001;322;1479-1480
55. Obase Y, Shimoda T, Kawano T, Saeki S, Tomari SY, Mitsuta-Izaki K, ve ark. Polymorphisms in the CYP1A2 gene and theophylline metabolism in patients with asthma. *Clin Pharmacol Ther.* 2003;73:468-74.
56. Berecz R, de la Rubia A, Dorado P, Fernandez-Salguero P, Dahl ML, Llerena A. Thioridazine steady-state plasma concentrations are influenced by tobacco smoking and CYP2D6, but not by the CYP2C9 genotype. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003;59:45-50.
57. Mihara K, Kondo T, Suzuki A, Yasui-Furukori N, Ono S, Otani K ve ark. Effects of genetic polymorphism of CYP1A2 inducibility on the steady-state plasma concentrations of trazodone and its active metabolite m-chlorophenylpiperazine in depressed Japanese patients. *Pharmacol Toxicol.* 2001;88:267-70.
58. Chida M, Yokoi T, Fukui T, Kinoshita M, Yokota J, Kamataki T. Detection of three genetic polymorphisms in the 5'-flanking region and intron 1 of human CYP1A2 in the Japanese population. *Jpn J Cancer Res.* 1999;90:899-902.
59. Relling MV, Lin JS, Ayers GD, Evans WE. Racial and gender differences in N-acetyltransferase, xanthine oxidase, and CYP1A2 activities. *Clin Pharmacol Ther.* 1992;52:643-58.
60. Bilgen T, Tosun O, Luleci G, and Keser I. Frequencies of Four Genetic Polymorphisms in the CYP1A2 gene in Turkish Population. *Russian Journal of Genetics*, 2008, Vol. 44, No. 8, pp. 989-992
61. Hamdy SI, Hiratsuka M, Narahara K. Genotyping of Four Genetic Polymorphisms in the CYP1A2 Gene in the Egyptian Population. *British J. Clin. Pharmacol.*, 2003, vol. 55, no. 3, pp. 321-324.
62. Skarke C, Kirchhof A, Geisslinger G, Lotsch J. Rapid genotyping for relevant CYP1A2 alleles by pyrosequencing. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005;61:887-92.
63. Soyama A, Saito Y, Hanioka N, Maekawa K, Komamura K, Kamakura S ve ark. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes of CYP1A2 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005;20:24-33.
64. Han, X.M., Ou-Yang, D.S., and Lu, P.X., Plasma Caffeine Metabolite Ratio (17X/137X) in vivo Associated with G-2964A and C734A Polymorphisms of Human CYP1A2, *Pharmacogenetics*, 2001, vol. 11, no. 5, pp. 429-435.
65. Sarp S, Ozunal ZG, Sen S, Uresin AY. A Scan of CYP450 Polymorphism Studies in Turkey in the last decade. *ESF Research Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*, Sant Feliu de Guixols, Spain, 6 - 11 June 2010
66. Aklillu E, Carrillo JA, Makonnen E. Genetic polymorphism of CYP1A2 in Ethiopians Affecting Induction and Expression: Characterization of Novel Haplotypes with Single-Nucleotide Polymorphisms in Intron 1. *Mol. Pharmacol.*, 2003, vol. 64, no. 3, pp. 659-669.

HAM VERİLER

Tüm sonuç tablolarında Genotip **0=Homozigot Normal, 1=Heterozigot ve 2=Homozigot polimorfik** olarak kullanılmıştır

Tablo 0-1: CYP1A2*C polimorfizmi için elde edilen sonuçlar

	CYP1A2*C	Genotip			Toplam
		0	1	2	
Gönüllüler	Sigara içen	41	8	-	49
	Sigara içmeyen	30	8	1	39
	Toplam gönüllü	71	16	1	88
Hastalar	Sigara içen	11	3	-	14
	Sigara içmeyen	12	2	-	14
	Toplam Hasta	23	5	-	28
Toplam	Hasta ve Gönüllüler	94	21	1	116

Tablo 0-2: CYP1A2*D polimorfizmi için elde edilen sonuçlar

	CYP1A2*D	Genotip			Toplam
		0	1	2	
Gönüllüler	Sigara içen	5	20	18	43
	Sigara içmeyen	2	16	16	34
	Toplam gönüllü	7	36	34	77
Hastalar	Sigara içen	1	7	3	11
	Sigara içmeyen	-	6	6	12
	Toplam Hasta	1	13	9	23
Toplam	Hasta ve Gönüllüler	8	49	43	100

Tablo 0-3: CYP1A2*E polimorfizmi için elde edilen sonuçlar

	CYP1A2*E	Genotip			Toplam
		0	1	2	
Gönüllüler	Sigara içen	43	2	2	47
	Sigara içmeyen	34	6	-	40
	Toplam gönüllü	77	8	2	87
Hastalar	Sigara içen	14	-	-	14
	Sigara içmeyen	11	1	2	14
	Toplam Hasta	25	1	2	28
Toplam	Hasta ve Gönüllüler	102	9	4	115

Tablo 0-4: CYP1A2*F polimorfizmi için elde edilen sonuçlar

	CYP1A2*F	Genotip			Toplam
		0	1	2	
Gönüllüler	Sigara içen	28	15	4	47
	Sigara içmeyen	22	16	2	40
	Toplam gönüllü	50	31	6	87
Hastalar	Sigara içen	6	6	2	14
	Sigara içmeyen	8	5	1	14
	Toplam Hasta	14	11	3	28
Toplam	Hasta ve Gönüllüler	64	42	9	115

FORMLAR

18.02.2009 tarihli etik kurul onayı ile birlikte kullanılan gönüllü olur formu:

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Doktorunuz hastalığınızın tedavisi için olanzapine tedavisinin uygun olduğuna karar vermiş bulunuyor.

Bu ilacın tedavi etkisi kişisel özelliklere göre değişiklikler gösterebilmektedir; “Bipolar Bozukluğu olan hastalarda Olanzapine'in farmakokinetik parametrelerine CYP-1A2 enzim polimorfizmi ve sigara kullanımının etkisi” isimli bu çalışmada ilacın kan düzeyinin kişisel özelliklerinize göre nasıl farklılık gösterdiği araştırılmak isteniyor.

Bu çalışmada size ek bir ilaç verilmeyecek, yapılacak tek işlem damar yolu açılarak yirmidört saat boyunca toplam 9 kez kan alınacak ve bu kanlarda ilacın kan düzeyi ve sizin kişisel enzim yapılarınız incelenecektir.

Çalışmaya toplam 30 kişinin katılması planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılıp katılmamakta özgürsünüz, katılmadığınız takdirde bu sizin tıbbi bakım sürecinizi hiç bir şekilde etkilemeyecektir. Eğer katılırsanız herhangi bir safhasında çalışmadan kendi isteğinizle ayrılabilirsiniz, gerektiğinde araştırmacı da sizi çalışmadan çıkarabilir.

Bu çalışmadan dolayı ne size ne de bağlı bulunduğunuz sigorta kurumuna ek bir mali yük getirilmeyecektir.

Sizden alınacak kan örnekleri yalnızca bu çalışmada kullanılacak olup, gelecekte başka çalışmalarda kullanılması olasılığında sizden yeniden izin istenecektir. Tüm kişisel bilgileriniz yasal koşullar saklı kalmak kaydıyla gizli tutulacaktır.

Sayın Dr Sedat Sarp tarafından İstanbul Tıp Fakültesi (kurum adı) Farmakoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

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

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, **Dr. Sedat Sarp, 05324800620** no'lu telefon, **İstanbul Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı; Temel Bilimler Binası Zemin Kat ÇAPA -İSTANBUL** adresinden arayabileceğimi biliyorum.

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

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

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

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

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı-soyadı, İmzası, Görevi

15.12.2011 tarihli etik kurul onayı ile birlikte kullanılan gönüllü olur formu:

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bu çalışmada birçok ilacın metabolizmasında etkili olan ve ilaçlara yanıtta bireyler arası farklılıklara neden olan CYP-1A2 ve CYP-2D6 enzimlerindeki genetik farklılıklar bakılarak Türk toplumunda sağlıklı kişiler ile ‘kronik psikoz’ tanısı almış olan hastalarda bu farklılıkların görülme sıklıkları karşılaştırılacaktır.

Bu çalışmada size ek bir ilaç verilmeyecek, yapılacak tek işlem toplar damar yolu ile tek bir kez 5ml kan alınmasından ibarettir. Bu kanlarda sizin kişisel enzim yapılarınız incelenecektir.

Çalışmaya toplam 130 kişinin katılması planlanmaktadır. (100 sağlıklı birey ve 30 bipolar bozukluk tanılı birey)

Bu çalışmaya katılıp katılmamakta özgürsünüz, katılmadığınız takdirde bu sizin tıbbi bakım sürecinizi hiç bir şekilde etkilemeyecektir. Eğer katılırsanız herhangi bir safhasında çalışmadan kendi isteğinizle ayrılabilirsiniz, gerektiğinde araştırmacı da sizi çalışmadan çıkarabilir.

Bu çalışmadan dolayı ne size ne de bağlı bulunduğunuz sigorta kurumuna ek bir mali yük getirilmeyecektir.

Sizden alınacak kan örnekleri yalnızca bu çalışmada kullanılacak olup, gelecekte başka çalışmalarda kullanılması olasılığında sizden yeniden izin istenecektir. Tüm kişisel bilgileriniz yasal koşullar saklı kalmak kaydıyla gizli tutulacaktır.

Sayın Dr Sedat Sarp tarafından İstanbul Tıp Fakültesi (kurum adı) Farmakoloji Anabilim Dalı’nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, **Dr. Sedat Sarp, 05324800620** no'lu telefon, **İstanbul Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı; Temel Bilimler Binası Zemin Kat ÇAPA -İSTANBUL** adresinden arayabileceğimi biliyorum.

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

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

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

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

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası
Dr. Sedat Sarp

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı-soyadı, İmzası, Görevi

Bakırköy RSHEAH 6. Psikiyatri Kliniği'nden alınan izin:

Prof. Dr. A. Yağız Üresin'in sorumluluğunda Dr. Sedat Sarp tarafından yürütülecek olan "Bipolar Bozukluğu olan hastalarda Olanzapine'in farmakokinetik parametrelerine CYP-1A2 enzim polimorfizmi ve sigara kullanımının etkisi" adlı doktora tezi çalışması için ilgili etik kuruldan onay alınmak kaydı ile, servisimizde yatan hastalardan bilgilendirilmiş onay formu doldurularak rızası alınanların çalışmaya dahil edilmesinde bir sakınca bulunmamaktadır.

BAKIRKÖY RUH ve SINIR HAST.
Doç.Dr. Doğan YEŞİLBURSA
Ruh Sağ. Hast. Uzmanı
Uz. No:2961301381 Dış No:2841

Doç. Dr. Doğan Yeşilbursa
6. Psikiyatri Birimi Şefi

09.02.2009

DETAE Genetik Anabilim Dalı'ndan alınan izin:



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ

Sayı: 09/96

Tarih: 04.06.2009

Sağlık Bilimleri Enstitü Sekreterliğine,

Prof. Dr. A. Yağız Üresin'in sorumluluğunda, Dr. Sedat Sarp tarafından yürütülecek olan "Bipolar Bozukluğu olan hastalarda Olanzapine'in farmakokinetik parametrelerine CYP-1A2 enzim polimorfizmi ve sigara kullanımının etkisi" adlı doktora tezi çalışmasının moleküler genetik kısmının Dr. Mehveş Poda gözetiminde bölümümüz laboratuvarlarında yapılmasında bir sakınca bulunmamaktadır.

Bilgilerinize arz olunur.

Genetik Anabilim Dalı Başkanı,

Prof. Dr. Nihan Erginel-Ünaltuna

ETİK KURUL KARARI

18.02.2009 Tarihli Karar:



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 18/02/2009

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 2

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN'in üstlendiği ve Doktora Öğrencisi Dr.Sedat SARP'ın yürüteceği 2009/427 protokol numaralı "Bipolar Bozukluğu olan hastalarda Olanzapine'in farmakokinetik parametrelerine CYP-1A2 enzim polimorfizmi ve sigara kullanımının etkisi" başlıklı tez çalışma dosyası kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminden desteklenmek şartı ile uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Güher SARUHAN DİRESKENELİ
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN (Oylamaya Katılmadı) **Prof.Dr. Ümit TÜRKOĞLU**
Farmakoloji ve Kli.F. A.D. Biokimya A.D.

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D, Romatoloji Bilim Dalı

Prof.Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Sevinç EMRE (T.Katılmadı)
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D.

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN (T.Katılmadı)
Nöroloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Neşe ÇOLAK
İç Hast.A.D. End. Ve Metabolizma Hast. B.D.

Prof.Dr. Nurhan ENGİNAR (T.Katılmadı)
Farmakoloji ve Kli.F. A.D.

Fatma Ceyda DÖNMEZER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
Hukukçu

15.12.2011 Tarihli Karar:

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	17.10.2011	2	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	TÜRKÇE ETİKET ORNEĞİ					
	SIGORTA					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐				
	II AN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 05	Tarih: 16/11/2011				
	İ.U. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.A.Yağız ÜRESİN'in sorumluluğunda ve Dr.Sedat SARP'ın yürüteceği araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI

19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:

Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒ K ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐	OYLAMAYA KATILMADI
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Pınar SAİP	Onkoloji	İ.U. Onkoloji Enstitüsü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Muhtar ÇOKAR	Deontolog	İstanbul İnsan Kaynağını Geliştirme Vakfı	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	T KATILMADI
Doç.Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dahiliye Kliniği	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Şişli Etfal E. ve Arş. Hst	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.U. Eczacılık Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	T KATILMADI
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	T KATILMADI
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat bölümü	Özel (Ekonomist)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Biyoistatistik	İ.U. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* Araştırma ile ilişkisi

** Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurul onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a.maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

PATENT HAKKI İZNİ

Çalışma kapsamında patent hakkı olan herhangi bir ürün kullanılmamış ve elde edilen sonuçlar için patent başvurusu yapılmamıştır.

TELİF HAKKI İZNİ

Çalışmada değerlendirilen tüm makalelere İstanbul Üniversitesi sistemi üzerinden veya çalışanı olarak yasal kullanım hakkım bulunan Vehbi Koç Vakfı sistemi üzerinden erişilmiştir. Telif hakkı ödenmemiş veya ihlal edilmiş hiçbir yayın kullanılmamıştır. Kullanılan tüm bilgisayar programları kayıtlı yasal sürümlerden oluşmaktadır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sedat	Soyadı	Sarp
Doğ.Yeri	Edirne	Doğ.Tar.	13.06.1968
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	59470037128
Email	sedatsarp@gmail.com	Tel	05324800620

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	1995
Lise	İstanbul Erkek Lisesi	1986

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Aile Hekimliği Uzmanı	Amerikan Hastanesi	2000-2012
2.	Aile Hekimliği Asistanı	Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi	1996-2000
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
Almanca	Çok iyi	İyi	İyi	76	
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi		TOEFL IBT 91/120

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	55,132	57,796	60,459
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Windows tabanlı sistemler ve ofis uygulamaları	Çok iyi
Mac-Os X tabanlı sistemler ve ofis uygulamaları	Çok iyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Sarp S, Ozunal ZG, Sen S, Uresin AY. A Scan of CYP450 Polymorphism Studies in Turkey in the last decade. ESF Research Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics, Sant Feliu de Guixols, Spain, 6 - 11 June 2010

Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Sertifikası – T.C. Sağlık Bakanlığı -2010

ALS Provider Certificate – European Resuscitation Council - 2007

Toksikolojide Temel İlkeler ve Acil Tedavi Yaklaşımları Sertifikası - T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı – 2004

İş Hekimliği Sertifikası – Türk Tabipler Birliği Merkez Konseyi Başkanlığı - 1996

Özel İlgi Alanları (Hobileri)

Bilimkurgu Edebiyatı

Hi-Fi Müzik Sistemleri

Briç