

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ VE AKUT MİYELOİD
LÖSEMİ VAKALARINDA *CYP2B6* GENİ G15631T GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mehmet BERKÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Serap YALIN

MERSİN – 2007

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ VE AKUT MİYELOİD
LÖSEMİ VAKALARINDA *CYP2B6* GENİ G15631T GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mehmet BERKÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Serap YALIN

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE BB (MB) 2005-3 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

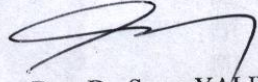
Tez No:

MERSİN – 2007

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş olan 'Akut Lenfoblastik Lösemi ve Akut Miyeloid Lösemi Vakalarında CYP2B6 Geni G15631T Gen Polimorfizminin Araştırılması' adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi .../.../2007

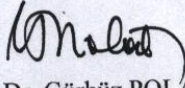


Doç. Dr. Serap YALIN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Başkanı

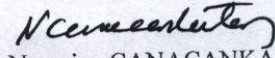


Doç. Dr. Gürbüz POLAT

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



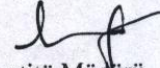
Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulununtarih vesayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Biyokimya eğitimim süresince ve bu tezin oluşma aşamasında daima yanımda olup bilgisini, tecrübesini, bilimsel desteğini, sabrını ve anlayışını eksik etmeyen değerli hocam ve danışmanım Sn. Doç. Dr. Serap YALIN'a,

Hasta takip formunun oluşturulmasında ve bilimsel danışmanlıkta yardımını esirgemeyen Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı Başkanı ve dekanımız Sn. Prof. Dr. Atilla YALÇIN'a,

Manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim başta Sn. Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN olmak üzere tüm Biyokimya Anabilim Dalı çalışanları ve Eczacılık Fakültesi öğretim elemanlarına,

Hasta kanlarının toplanması sırasında ellerinden geldiğince yardımcı olan başta Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Gülten AKTUĞLU olmak üzere tüm Cerrahpaşa Hematoloji çalışanlarına,

Kontrol kanlarının toplanmasında bizlere yardımcı olan Mersin İl Sağlık Müdürlüğü çalışanlarına,

Deney aşamalarındaki katkılarından dolayı Arş. Gör. Seda TEZCAN'a, istatistiksel analizler aşamasındaki katkılarından dolayı Arş. Gör. Seval KUL'a,

Ve son olarak bugünlere gelmemde en büyük desteği sağlayan AİLEME sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Mehmet BERKÖZ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Lösemi	4
2.1.1. Tanım	4
2.1.2. Tarihçe	4
2.1.3. Sınıflandırma	4
2.1.3.1. Akut lösemiler	5
2.1.3.1.1. Akut Miyeloid Lösemi	7
2.1.3.1.1.1. Akut Miyeloid Lösemilerin Etiyolojisi	8
2.1.3.1.1.2. Akut Miyeloid Lösemilerin Sınıflandırılması	8
2.1.3.1.1.3. Akut Miyeloid Lösemilerde Klinik ve Laboratuvar Özellikler	10
2.1.3.1.1.4. Akut Miyeloid Lösemilerde Tanı	10
2.1.3.1.1.5. Akut Miyeloid Lösemilerde Prognostik Faktörler	11
2.1.3.1.1.6. Akut Miyeloid Lösemilerde Tedavi	12
2.1.3.1.2. Akut Lenfoblastik Lösemi	13
2.1.3.1.2.1. Akut Lenfoblastik Lösemilerin Etiyolojisi	13

2.1.3.1.2.2. Akut Lenfoblastik Lösemilerin Sınıflandırılması	13
2.1.3.1.2.3. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Klinik ve Laboratuvar Özellikler	15
2.1.3.1.2.4. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Tanı	16
2.1.3.1.2.5. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Prognostik Faktörler	16
2.1.3.1.2.6. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Tedavi	17
2.1.3.1.2.7. Akut Lösemiler ve Genetik Yatkınlık	17
2.2. Ksenobiyotik Metabolizması	18
2.2.1. Faz I Reaksiyonları	18
2.2.1.1. Oksidasyon (Yükseltgenme)	19
2.2.1.2. Redüksiyon (İndirgenme)	19
2.2.1.3. Hidroliz (Kırılma)	20
2.2.2. Faz II Reaksiyonları	20
2.2.3. Sitokrom P450 Enzimleri	21
2.2.3.1. Sitokrom P-450 Enzim Sisteminin Reaksiyon Mekanizması	26
2.2.3.2. Sitokrom P-450 Sistemine Etki Eden Faktörler	27
2.2.3.2.1. Kimyasal Maddenin Yapısal Özelliği	27
2.2.3.2.2. Tür Farklılığı	28
2.2.3.2.3. Yaş	28
2.2.3.2.4. Cinsiyet	29
2.2.3.2.5. Beslenme ve Yaşam Tarzı	29
2.2.3.2.6. Patolojik Durumlar	30
2.2.3.2.7. Hamilelik	30
2.2.3.2.8. Hormonlar	30
2.2.3.2.9. Kimyasal Maddelerle Etkileşim	31
2.2.3.2.10. Genetik ve Polimorfizm	31
2.2.4. CYP Polimorfizmi ve Kanseri	32
2.2.5. CYP2B6 Geninin Yapısı	33
2.2.5.1. CYP2B6 Enziminin Substratları	35

2.2.5.2. CYP2B6 Enziminin İndükleyicileri	45
2.2.5.3. CYP2B6 Enziminin İnhibitörleri	47
2.2.5.4. CYP2B6 Enziminin Ekspresyonu	48
2.2.5.5. <i>CYP2B6</i> Geninin Polimorfizmleri	49
2.2.5.6. <i>CYP2B6</i> Geninin Farmakogenetiği	50
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	52
3.1. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı	52
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	52
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	52
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	53
3.2.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler	54
3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar	54
3.2.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar	56
3.3. Kullanılan Yöntemler	57
3.3.1. DNA İzolasyonu	57
3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Uygulaması	59
3.3.3. Agaroz Jel Elektroforez Tekniği	61
3.3.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması	61
3.3.4. PCR Ürünlerinin BsrI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi	62
3.3.5. Genotip Tayini	63
3.3.6. İstatistiksel Analiz	64
4. BULGULAR	64
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
7. KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Miyeloid seriyi oluşturan hücreler	7
Şekil 2.2. Lenfoid seriyi oluşturan hücreler	7
Şekil 2.3. İlaç ve ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu	21
Şekil 2.4. Sitokrom P-450 enzimlerinin reaksiyon basamakları	27
Şekil 2.5. CYP2B6 geninin 19. kromozom üzerindeki lokalizasyonu	34
Şekil 2.6. CYP2B6 geninin Ekspresyonunun Organlara Göre Dağılımı	49
Şekil 4.1. 578 bp'lik CYP2B6 gen parçalarının PCR sonrasında agaroz jel elektroforez görüntüsü	65
Şekil 4.2. CYP2B6 G15631T gen bölgesinin PCR ürününün BsrI restriksiyon enzimi ile kesiminden elde edilen sonuçlar	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Lenfoblastlarla myeloblastlar arasındaki yapısal farklar	6
Çizelge 2.2. AML'de FAB Sınıflandırılması	9
Çizelge 2.3. AML'de iyi prognoz ve kötü risk faktörleri	12
Çizelge 2.4. ALL'de FAB sınıflandırılması	14
Çizelge 2.5. ALL'de iyi prognoz ve kötü risk faktörleri	17
Çizelge 2.6. Sitokrom P-450 enzim aileleri, alt aile sayıları, içerdikleri gen sayıları ve fonksiyonları	23
Çizelge 2.7. Sitokrom P-450 enzimleri ve substratları	24
Çizelge 2.8. Endobiyotik metabolizmasında rol alan enzimler ve substratları	25
Çizelge 2.9. Sitokrom P-450 enzimleri ve vücutta bulunma oranları	25
Çizelge 2.10. Sitokrom P-450 enzimleri ve metabolize ettikleri ilaç ve kimyasalların dağılımı	26
Çizelge 2.11. <i>CYP2B6</i> geninin eksonlarının boyutları ve pozisyonları	34
Çizelge 2.12. <i>CYP2B6</i> enziminin metabolizasyonunu üstlendiği ilaçlar, kullanım alanları ve kimyasal yapıları	37
Çizelge 2.13. <i>CYP2B6</i> enzimi tarafından metabolize edilen bazı ksenobiyotikler	42
Çizelge 2.14. <i>CYP2B6</i> enzimi tarafından metabolize edilen bazı endojen maddeler	45
Çizelge 2.15. <i>CYP2B6</i> gen polimorfizmleri	49
Çizelge 2.16. <i>CYP2B6</i> haplotipleri	50
Çizelge 3.1. <i>CYP2B6</i> genindeki polimorfizmin PCR ile belirlenmesinde kullanılan primerler	60
Çizelge 3.2. <i>CYP2B6</i> 15631 G>T bölgesine spesifik PCR bileşenleri	60
Çizelge 3.3.: <i>CYP2B6</i> polimorfizmi için PCR koşulları	61

Çizelge 4.1.: Hasta ve kontrol grubunda kadın, erkek sayısı ve yaş ortalamaları	64
Çizelge 4.2. Akut lösemi ve kontrol gruplarında <i>CYP2B6</i> G15631T polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları	66
Çizelge 4.3. ALL ve kontrol gruplarında <i>CYP2B6</i> G15631T polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları	66
Çizelge 4.4. AML ve kontrol gruplarında <i>CYP2B6</i> G15631T polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları	67
Çizelge 4.5. Kontrol ve ALL gruplarında <i>CYP2B6</i> 15631. pozisyonunda G ve T allellerinin frekansları	67
Çizelge 4.6. Kontrol ve AML gruplarında <i>CYP2B6</i> 15631. pozisyonunda G ve T allellerinin frekansları	67
Çizelge 4.7. Kontrol ve akut lösemi gruplarında <i>CYP2B6</i> 15631. pozisyonunda G ve T allellerinin frekansları	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

7 EFC	7-etoksi-4-triflorometilkumarinin
AFHL	Akut farklılaşmamış hücreli lösemi
AHH	Aromatik halka hidroksilasyonu
AIDS	Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	Akut Miyeloid Lösemi
ANA	Anti-nükleer Antikor
APNH	Aminofenilnorharman
ARA-C	Sitozin Arabinosid
AZIN	Azinfosmetil
bp	Baz çifti
CaCl₂	Kalsiyum klorür
CAR	Yapısal androstan reseptörü
CYP	Sitokrom P450
DDT	Dikloro Difenol Trikloroetan
DIC	Yaygın Damar içi Pıhtılaşma
EBV	Epstein-Barr Virusü
EDTA	Etilendiamin Tetraasetikasit
eo	Eozinofil
Et-Br	Ethidium bromide
FAB	French-American-British sınıflandırma sistemi
GİS	Gastrointestinal Sistem
GST	Glutasyon S-Transferaz
HBV	Hepatit B Virüsü
HCV	Hepatit C Virüsü
HGP	İnsan Genom Projesi
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HMG-CoA	3-hidroksi-3-metilglutaril Koenzim A
HPV	İnsan Siğil virüsü
hPXR	İnsan taşıyıcı X reseptörü
HSV	İnsan Uçuk Virüsü
HTLV	İnsan T Lenfotropik Virüs
inv	İnversiyon
kDa	Kilodalton
KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
KML	Kronik Miyeloid Lösemi
LDH	Laktat Dehidrogenaz
MDS	Miyelodisplastik Sendrom
MTHFR	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NAT2	N-Asetil Transferaz 2
NNK	4-(metilnitrozamin)-1-(3-piridil)-1-butanon
NQO1	NADP(H) Kinon Oksidoredüktaz

OR	Odds oranı
PAR	Paration
PAS	Periodik Asit Schiff
PBREM	Fenobarbitale yanıtı düzenleme modülü
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Perox	Miyeloperoksidaz
Ph	Philadelphia kromozomu
PVC	Polivinilklorid
PXR	Taşıyıcı X Reseptörü
RXR	Retinoik Asit X Reseptörü
SB	Sudan Black
SDS	Sodyum Dedosil Sülfat
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
t	Transversiyon
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
TCDD	Tetraklorodibenzo-p-dioksin
TdT	Terminal Deoksinükleotidil Transferaz
ThioTEPA	N,N'-Trietilenetiofosforamid
UV	Ultraviole
VDR	Vitamin D Reseptörü

ÖZET

Akut Lenfoblastik Lösemi ve Akut Miyeloid Lösemi Vakalarında *CYP2B6* Geni G15631T Gen Polimorfiminin Araştırılması

Akut lösemiler klinik ve patolojik açıdan çok iyi bilinmesine rağmen bu kompleks hastalığa genlerin etkileri net değildir. Bilinen gen polimorfizmleri tek nükleotidlik baz çifti tarafından değiştirilen gen formları olup lösemiye yakalanma yatkınlığında değişmelere yol açmakta ve bu varyasyonlar beslenme, diğer çevresel kirlleticiler ve kişisel bağışıklık fonksiyonlarıyla etkileşerek lösemiye hassasiyette önemli bir belirleyici olmaktadır.

Ksenobiyotik ve ilaç metabolize edici enzimler olarak da adlandırılan biyotransformasyon enzimleri, karsinojenik, mutajenik ve neoplastik etkilerini düzenlemede önemli bir rol oynamakla beraber fitokimyasallar ve terapötik ilaçlar gibi ksenobiyotiklerin ve steroidler gibi endojen bileşiklerin metabolizmasını üstlenir.

Sitokrom P450 (CYP) enzimleri biyotransformasyon enzimlerinin temel grubudur. Bu enzim sistemindeki genetik polimorfizmler karsinojen maruziyetiyle bir araya gelince kansere olan hassasiyet etkilenebilmektedir.

CYP2B6 geni CYP ailesinin en az bilinen formlarından biridir. Enzim aktivitesi, ekspresyonu ve polimorfizmleri hakkında araştırma mevcuttur fakat akut lösemiye yakalanma riski ile hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı *CYP2B6* gen polimorfizmiyle akut lösemiler arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığını araştırılmasıdır. Bu amaçla periferik kan örneklerinden Poncz metoduyla genomik DNA'ları izole ettik. Gene spesifik primerler kullanılarak genomik DNA'ya PCR uyguladık ve genotipleme için BsrI restriksiyon enzimini kullandık. Sonuçlar ki-kare ve lojistik regresyon analizi ile belirlendi.

CYP2B6 G15631T polimorfizminde GG ve GT genotipi sırasıyla ALL hastalarında % 40,9 ve % 59,1, AML hastalarında % 50 ve % 50 ve kontrol grubunda ise % 67 ve % 33 olarak bulunmuştur. TT genotipi ise hem kontrol hem de hasta gruplarında tespit edilmemiştir. Lojistik regresyon analizi *CYP2B6* G15631 polimorfizmi ve akut lösemiler arasında anlamlı bir bağlantı olduğunu ortaya çıkarmıştır ($p < 0.05$).

Anahtar Kelimeler : Akut Lenfoblastik Lösemi, Akut Miyeloid Lösemi, *CYP2B6*, polimorfizm

ABSTRACT

Investigation of *CYP2B6* gene G15631T gene polymorphism in acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia cases

Although the clinical and pathological aspects of acute leukemias are well known, the effect of genes that influence susceptibility to this complex disease is not clear. Certain gene polymorphisms, altered forms of genes that differ by a single nucleotide base-pair, have been shown to change the risk of development of leukemia and these variations can interact with diet, other environmental exposures, and individual immune function to be major determinants of susceptibility.

Biotransformation enzymes, also referred to as xenobiotic or drug-metabolizing enzymes, play a major role in regulating the toxic, mutagenic and neoplastic effects of chemical carcinogens, as well as metabolizing other xenobiotics (phytochemicals and therapeutic drugs) and endogenous compounds (steroid hormones).

Cytochrome P450 (CYP) enzymes are the main groups of biotransformation enzymes. Genetic polymorphisms in these enzyme systems can influence cancer susceptibility when coupled with the relevant carcinogen exposures.

CYP2B6 is one of the less known form of CYP gene family. There is a few research about its enzyme activity, expression and polymorphisms but there is no study that shows the susceptibility to the risk of acute leukemias.

The aim of this study was to explain whether there was any relationship between *CYP2B6* polymorphism and acute leukemias or not. For this purpose we isolated genomic DNA from peripheral blood samples by using Poncz's method. PCR was applied to genomic DNA by using gene specific primers and for genotyping we used BsrI restriction enzyme. Results were determined by chi-square and logistic regression analyses.

The frequencies of *CYP2B6* G15631T polymorphism GG and GT genotypes were % 40,9, % 59,1 in acute lymphoblastic leukemia patients, % 50, % 50 in acute myeloid leukemia patients and % 67, % 33 in controls, respectively. TT genotype didn't detect both in control and cases. Logistic regression analyses revealed a significant association between the *CYP2B6* G15631T polymorphisms (GT) and acute leukemias.

Keywords : Acute lymphoblastic leukemia, Acute myeloid leukemia, *CYP2B6*, polymorphism

1. GİRİŞ

Gün geçtikçe sanayi ve teknolojik bakımdan gelişen ve değişen dünya şartları hiç kuşku yok ki pek çok sorunu da peşi sıra getirmektedir. Bunların başında küresel ısınma ve çevre kirliliği yer almaktadır. Hergün isteyerek veya istemeyerek binlerce kimyasal maddeyi vücudumuza almaktayız. Bu maddelerden bir kısmının insan vücuduna önemli ölçüde zararı olmamasına rağmen, büyük bir kısmının toksik, teratojenik, mutajenik ve hatta karsinojenik olduğu bilinmektedir. Eksojen olarak alınan bütün bu maddelerin detoksifikasyonuna yani vücuttan temizlenmesi işleme ksenobiyotik mekanizması denilmektedir (1,2).

Ksenobiyotik mekanizmasında rol alan çeşitli enzimler vardır ve bu enzimlerin en önemlileri Sitokrom P450 (CYP) ve Glutatyon S-Transferaz (GST)'dir. Spesifik bir CYP enzimini kodlayan ilk gen yaklaşık 10 yıl önce tanımlanmıştır. Bu genin izole edilmesiyle de bu enzimlerin amino asit dizileri belirlenebilmiştir. Bu bilgi kullanılarak, farklı enzimler amino asit dizilerine göre yapısal olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmadaki enzimler hem yapı hem fonksiyonel olarak birbirlerine yakın enzimlerdir (3).

CYP enzimleri, steroidogenik ve ksenobiyotik CYP enzimleri olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Ksenobiyotik CYP enzimleri steroidogenik enzimlerden bir milyar yıl sonra gelişmiştir ve hücrede endoplazmik retikulumda yerleşmiştir. Ksenobiyotik adı, vücuda yabancı maddelerin metabolizmasında bu enzimlerin görevli olması nedeniyle verilmiştir. Ksenobiyotik CYP enzimleri (familya 1, 2, 3, 4), bitki-hayvan farklılaşması döneminde steroidogenik CYP enzimlerinden, transferaz enzimleriyle eş zamanlı türemiştir. Bu enzimler bitkilerin oluşturduğu diyet toksinlerini yıkar ve eliminasyon için ilaçları biyotransformasyona uğratar. Steroidogenik CYP enzimleri (familya 7, 11, 17, 19, 21, 27), tek hücreli organizmaların hücre zarı bütünlüğü içindir; farklılaşmış organizmaların gelişiminin hormonal düzenleyicileridir ve etki ettiği maddeler konusunda özgündürler. Ayrıca steroidlerin, safra asitlerinin, kolesterolün ve prostaglandinin sentezinde de rol alırlar (3,4).

Bir çok ilaç kendine özgün CYP enzimleri ile metabolize edilir. Bu enzimler için genetik materyal vücuttaki her hücrede taşınır ve vücuttaki çeşitli hücrelerde ifade

edilir. Örneğin CYP2D6 beyinde bulunur, bölgesel olarak dopamininin geri alımının taşınmasıyla ilişkilidir. Buna karşın bu enzimlerin karaciğer ve barsak duvarı haricindeki diğer organlardaki görevleri konusunda bilgimiz çok azdır. Karaciğer ve barsak duvarında bu enzimler, faz I veya ksenobiyotiklerin (diet toksinleri, karsinojenler, mutajenler, son zamanlarda ilaçlar) oksitadif metabolizmasından sorumludur. Bunların varlığı hastaların tedavisinde medikasyonun gelişimi ve kullanımına izin verir (5).

Oksidatif metabolizma; molekül içine atmosferik oksijeni sokarak veya inkorpore ederek bir maddeyi daha polar türlere (örneğin bir metabolite) çevirir. Bazı örneklerde, okside edilmiş ürün son metabolittir. Diğer örneklerde okside edilmiş ürün ara metabolit olup, daha ileri biyotransformasyona uğrar. Bu biyotransformasyonların sonunda idrar veya feçesle atılabilen bir polar metabolit oluşur. Sıklıkla son basamak metabolitin polar bölgesi ile glukuronik asit gibi bir maddenin konjugasyonudur (faz II metabolizma gibi). Konjuge olan ürün suda çözünebilir olup idrarla atılabilir. Sırasıyla faz I ve faz II metabolizmalarla madde elimine edilir (6).

CYP2B6 geni 19q13.2 bölgesinde yer almakta olup bu genin ürünü olan enzim pek çok mutajen, karsinojen ve ksenobiyotiğin parçalanmasını sağlamaktadır. Özellikle karaciğer ve hematolojik malignitelerin oluşmasına yol açan aflatoksin B1, alkol ve nikotinin metabolizmasında rol alan bu enzim, homozigot ya da heterozigot olarak polimorfik olduğu durumlarda ya yeteri kadar aktivite gösteremeyecek, ya normalden fazla aktivite gösterecektir ya da hiç sentezlenemeyecektir. Bunun sonucunda da çeşitli hastalıklara, özellikle de akut lösemiler gibi etiyolojisinde stiren, benzen ve formaldehit gibi çevresel karsinojenlerin önemli bir yer aldığı hastalıklara yatkınlık artabilecek veya tam tersine azalabilecektir (3,6).

Biyotransformasyonda görev alan genler ya prekarsinojenleri karsinojenlere ya da karsinojen maddeleri daha az karsinojenik metabolitlerine dönüştürürler. Bu genlerde meydana gelen muhtemel bir polimorfizm kansere yatkınlığı artırır ya da azaltır. Yapılan epidemiyolojik ve populasyon genetiği çalışmaları da bu veriyi desteklemektedir. Hem ALL (Akut Lenfoblastik Lösemi) hem de AML (Akut Miyeloid Lösemi) tipindeki lösemilerle yapılmış polimorfizm çalışmaları oldukça sınırlıdır. Akut lösemilerle şimdiye kadar *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *NAT2* (N-Asetil Transferaz 2), *MTHFR* (Metilentetrahidrofolat Redüktaz) ve *NQO1* (NADP(H) Kinon Oksidoredüktaz) genleriyle çalışılmış ancak pek çok kimyasal maddenin

biyotransformasyonunda görev alan *CYP2B6* geninin akut lösemi hastalığında risk faktörü olup olmadığına dair herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada *CYP2B6* G15631T gen polimorfizminin akut lösemi hastlığı ile ilişkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lösemi

2.1.1. Tanım

Lösemi, kemik iliğinin lenfopoetik veya hemapoetik kök hücrelerinden veya öncü hücrelerinden kaynaklanan malign bir hastalıktır. Normal miyeloid ya da lenfoid hematopoezin spesifik bir kademesindeki duraklama ve klonal çoğalma sonucu neoplastik hücrelerin kemik iliği ve diğer dokularda toplanması ve periferik kanda birikmesi ile karakterize bir kan hastalığı olan lösemnin etiyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber, tedavi edilmediğinde ölümlle sonuçlanabilmektedir. Lösemnin kelime anlamı “kanda beyazlaşma”dır. Lösemik hücrelerin kemik iliği dışındaki dokularda birikmesiyle oluşan kitleler myeloblastom veya lenfoblastom olarak adlandırılmış olup bu tarz tutulumların en sık görüldüğü yerler, merkezi sinir sistemi, cilt, paranazal sinüsler, kemik, meme dokusu, gonadlar ve lenf dokusudur. Sonuçta eritrosit, granülosit ve trombosit yapımı azalır ve halsizlik, çabuk yorulma, solukluk gibi anemiye bağlı belirtiler, nötropeniye bağlı infeksiyonlar ve trombositemiye bağlı kanamalar meydana gelir (7,8).

2.1.2. Tarihçe

Lösemnin tanımlanması ilk kez Wirchow tarafından yapılmış ve ileri evrede kronik lösemili ve yüksek lökositozu olan bir hastada gösterilmiştir. Daha sonraları 1870’de Neuman, kemik iliğini tutan bir hastalık olarak tanımlamış ve 1889’de Ebstein, akut lösemiye ayrı bir hastalık olarak tarif etmiştir (7).

2.1.3. Sınıflandırma

Lösemiler hücre tipi ve lösemik hücrelerin maturasyon durumları göz önüne alınarak sınıflandırılır. Çoğalan hücre grubunun immatür veya matür olmasına göre akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılırlar. Akut lösemiler, immatür hücrelerin kemik iliğini

doldurması ve tedavisiz hastalarda hızlı ve ölümcül seyri ile karakterize bir lösemi formudur. Ancak kronik lösemilerde gidişat daha yavaştır ve başlangıçta matür lökositler mevcuttur. Lösemiler ayrıca yapısal olarak hastalığa tutulan hücre dizisinin tipine göre miyeloid ve lenfoid olarak sınıflandırılırlar. Bu durumda lösemiler temel olarak 4 sınıfa ayrılırlar. Bunlar; AML, ALL, KML ve KLL'dir (7,9).

2.1.3.1. Akut Lösemiler

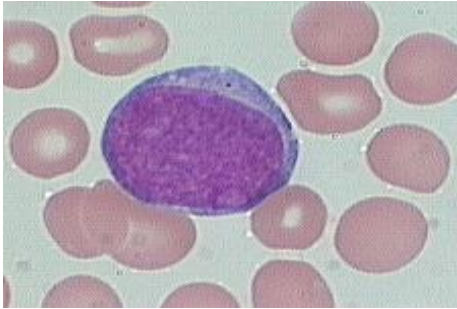
Akut lösemilerde immatür hematopoetik veya lenfoid öncü hücreler hâkimdir. Matür hücrelerin azlığı ve lökosit öncülerinin birikimi söz konusudur. Çoğalan hücreler yapısal, sitokimyasal, immünolojik ve sitogenetik özelliklere göre AML ve ALL olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Adından da anlaşılacağı gibi AML, myeloblastların olgunlaşmalarındaki duraklamalar sonucu meydana gelirken, ALL ise lenfoblastların olgunlaşmaları esnasındaki duraklamalar sonucunda meydana gelir. ALL çocuklarda en sık görülen lösemi formuyken, erişkinlerde ise AML daha sık görülür ve genellikle 65 yaş civarında pik yapar. Bunların dışında akut farklılaşmamış hücreli lösemi (AFHL) veya kök hücreli lösemi de diğer akut lösemi tipleri arasındadır. Bundan birkaç sene öncesine kadar akut lösemilerin sınıflamasında yaygın olarak “ French – American – British” (FAB) sınıflandırma sistemi kullanılmaktaydı. Bu yöntem hücrelerin morfolojik ve sitokimyasal özelliklerine dayanmaktadır. Son birkaç yıldır ise immünolojik fenotiplendirme, sitogenetik ve enzim çalışmalarından da sınıflamada yararlanılmaktadır.

Sağlıklı myeloblast hücreleri ilk önce promyelosit, ardından miyelosit ve en sonunda metamiyelositlere dönüşürken daha sonra farklılaşarak monosit, eozinofil, nötrofil ve bazofilleri meydana getirerek miyeloid seriyi tamamlarlar. Sağlıklı lenfoblast hücreleri ise lökositlere dönüşerek lenfoid seriyi oluştururlar. Myeloblastlarla lenfoblastlar arasındaki yapısal farklar Çizelge 2.1.'de özetlenmiştir (10).

Çizelge 2.1. Lenfoblastlarla myeloblastlar arasındaki yapısal farklar (Hücrelerin boyanması Romanowsky boyaları olan Wright, Wright-Giemsa ve May-Grünwald-Giemsa ile yapılmıştır).

	Lenfoblastlar	Myeloblastlar
Hücre Büyüklüğü	10-20 µm	14-20 µm
Çekirdek şekli	Yuvarlak ve oval	Yuvarlak ve oval
Kromatin ağı	Düzenli, homojen	Gevşek, köpüksü
Çekirdekçik	0-2 adet ve belirsiz	2-5 adet belirgin
Çekirdek zarı	Düzenli ve yuvarlak	Düzensiz
Çekirdek/sitoplazma oranı	Yüksek	Düşük
Sitoplazma rengi	Mavi	Mavi-gri
Genişliği	Dar	Çok geniş
Granüller	Yok	Var
Vakuol	0-orta derece	Yok
Nukleol	0-2	2-4
Auer Çomağı	Yok	Var-Yok
Periodik Asit Schiff (PAS)	++	±
Peroksidaz	-	+++
Sudan Black	-	+++
Esteraz	±	+

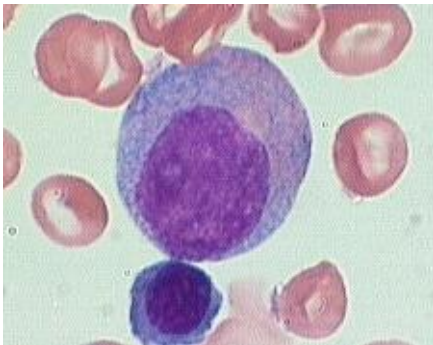
Miyeloid seriyi oluşturan myeloblastlar, promyelositler, miyelositler, metamiyelositler ve farklılaşma sonucunda oluşan monosit, nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller Şekil 2.1.'de gösterilmiştir. Lenfoid seriyi oluşturan lenfoblastlar ile lenfositler ise Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



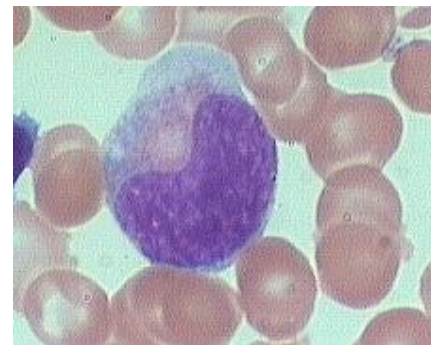
a) Myeloblastlar



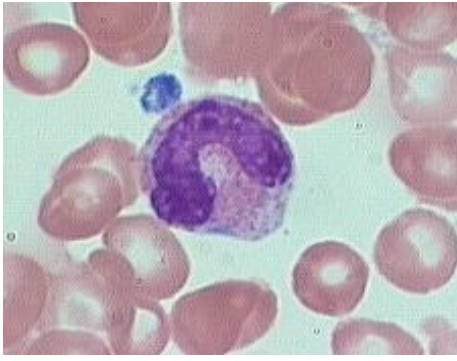
b) Promyelosit



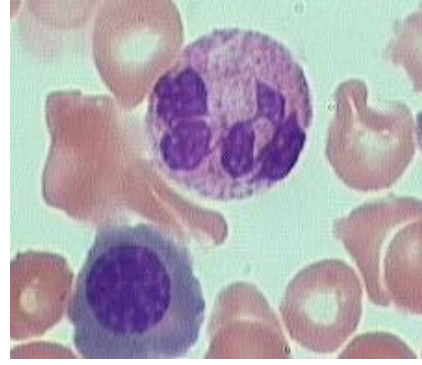
c) Miyelosit



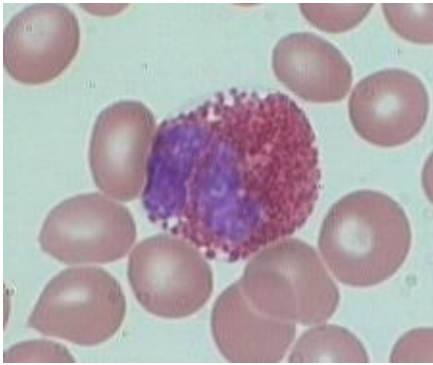
d) Metamiyelosit



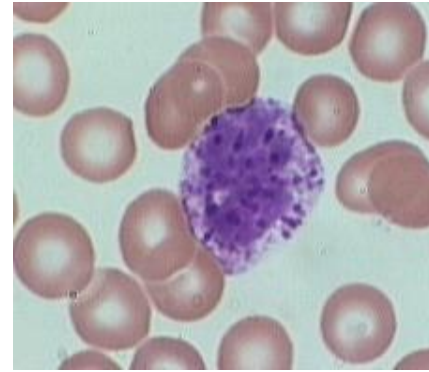
e) Monosit



f) Nötrofil

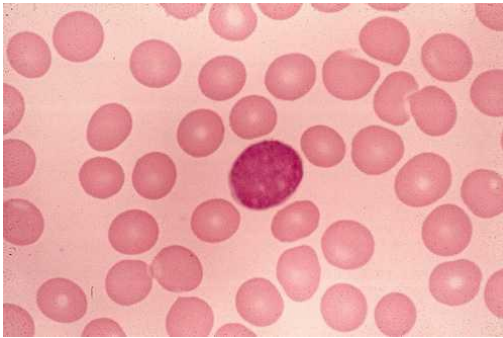


g) Eozinofil

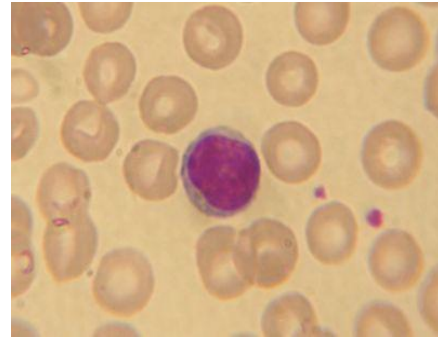


h) Bazofil

Şekil 2.1. Miyeloid seriyi oluşturan hücreler



a) Lenfoblast



b) Lenfosit

Şekil 2.2. Lenfoid seriyi oluşturan hücreler

2.1.3.1.1. Akut Miyeloid Lösemi

Hastalık miyeloid prekürsörlerden (myeloblast, promyeloblast, monoblast, eritroblast ve megakaryoblast) dolayı meydana gelmektedir. Normalde bu hücreler farklılaşıp eritrosit, nötrofil, monosit ve trombositleri oluştururlar. Anemi, hepatosplenomegali ve chloroma (granülositik sendrom) gözlenmekle beraber kemik

iliğinde blast oranının % 30'dan fazla olması AML için spesifik bir klinik bulgudur. Sitoplazma içinde ince asidofil granüller ve bazen “Auer Body” denilen asidofilik çomakçıklar mevcuttur. AML'nin görülme sıklığı cinsiyete bağlı olarak değişkenlik göstermeyip çocukluk dönemi lösemilerin % 20'sini, yetişkin dönem (15-60 yaş arası) lösemilerin % 80'ini oluşturur. AML'de remisyon oranı 1960'da % 20, 1980'lerde % 40 iken, 2000'li yıllarda radyoterapi ve kemoterapi olanaklarıyla bu oran % 70'e çıkmıştır (11,12).

2.1.3.1.1.1. Akut Miyeloid Lösemilerin Etiyolojisi

Çevresel ve genetik etkenler AML etiyojisinde önemli rol oynarlar. Çevresel etkenler de fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üçe ayrılırlar. Kimyasal ajanların en önemlileri benzen, sigara, kemoterapötik ilaçlar (alkilleyici ajanlar ve topoizomerez II inhibitörleri), kloramfenikol ve fenilbutazondur. Fiziksel ajanlar olarak ise iyonize ve non-iyonize radyasyon örnek gösterilebilir. Özellikle iyonize radyasyon hücrede öncül nükleotidlerin yapısında değişikliğe neden olmaktadır. Bu da kromozomlarda kırılmalara, ring kromozom, disentrik kromozom ve sayısal anomalilere neden olarak AML insidansını arttırmaktadır. Ayrıca bazı virüslerin de AML oluşmasında rol oynayabileceği yönünde düşünceler mevcuttur (12,13).

AML etiyojisinde rol oynayan genetik faktörler ise Down sendromu, Bloom sendromu, Monozomi 7, Klinefelter, Turner sendromu, Nörofibromatozis ve Konjenital dismorfik sendrom gibi konjenital defektlerdir. Ayrıca Falconi anemisi, diskeratoz konjenita, Schwachmann-Diamond sendromu, Amegakaryositik trombositopeni, Myelopoezin konjenital bozukluğu, Diskeratozis Konjenita, Blackfan-Diamond Sendromu, Kostman sendromu, Wiskott-Aldrich Sendromu, agammaglobinemi ve ailevi aplastik anemi gibi kemik iliği hastalıkları da AML oluşununda rol oynarlar (13,14).

2.1.3.1.1.2. Akut Miyeloid Lösemilerin Sınıflandırılması

1985'de son halini alan FAB sınıflamasına göre AML'ler M1'den M7'ye kadar 7 gruba ayrılmıştır. En az sıklıkla rastlanılan AML alt tipi M6 olup, M4 ve M5 alt tipleri

özellikle 2 yaşından daha küçük çocuklarda görülmektedir. Ayrıca son zamanlarda FAB sınıflamasına akut farklılaşmamış lösemiye ifade eden M0 kategorisi eklenmiştir. Bu alt tipte kemik iliği %30'un altında miyeloblast içerebilmektedir. FAB sınıflama yöntemi temelde morfolojiye dayanır. Bu yüzden ALL ile ayırım yapılamayan durumlarda histokimyasal boyama kullanılabilir. Löseminin miyelositik orijinli olup olmadığı miyeloperoksidaz ve Sudan Black boya ile anlaşılırken, monositik farklılaşmayı anlamak için ise nonspesifik esterazla boyanılır. AML'de blastlar birkaç istisna tip haricinde Periodik Asit Schiff (PAS) boyama ile negatif sonuç verir. Sınıflandırma için bazen yüzey immunglobulinlerinden de faydalanılır. AML'nin FAB sınıflaması ve M0'dan M7'ye kadar olan alt tiplerinin yapısal ve klinik özellikleri Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir (15,16).

Çizelge 2.2. AML'de FAB Sınıflaması

FAB subtipi	%	Morfoloji	Perox/ SB	Diğer
M ₀ (Undiferansiye Lösemi)	2-3	İmmatur morfoloji	-/-	Uniform hücreler
M ₁ (Miyeloblastik Lösemi) Az diferansiye	20	Azurofilik granül veya Auer rod içeren az blast	+/-	% 10-15 vakada Ph kromozomu pozitif
M ₂ (Miyeloblastik Lösemi) Diferansiyasyon var	25-30	Azurofilik granül veya Auer rod sıklıkla bulunur	+/+	En sık görülen tip
M ₃ (Promyelositik Lösemi) Hipergranüler varyant	8-10	Hipergranüler, Auer rod içeren promyelositler	+/+	DIC sıklıkla, prognozu en iyi tip, retinoik asite yanıt
M ₄ (Myelomonositik Lösemi)	20-25	Granulositik ve monositik blastlar	+/-	Miyeloblastlar M ₂ 'ye benzer
M ₅ (Monositik Lösemi)	10-	M5a farklılaşmamış M5b farklılaşmış	-/-	Diş eti hiperplazisi
M ₆ (Eritrolösemi)	5	Eritroblastlar	+/-	MDS'a sekonder gelişir, eritrositlerde PAS (+), ANA ve Coombs pozitifliği
M ₇ (Megakaryoblastik Lösemi)	1-2	Megakaryoblastlar	-/-	Down sendromu ile birliktelik, kemik iliğinde fibrozis

FAB sınıflamasına göre sınıflandırılmayan AML'lerde immün fenotip yöntemi ile belirlenen miyeloid markırlardan faydalanılır. CD33, CD13, CD15, CD11b, CD14 ve CD36 AML' li olguların %90'dan fazlasında eksprese edilmektedir. Bununla ayırıcı tanıya gidemediği durumlarda trombosit antijenleri de AML'nin tipini belirlemede kullanılır. Akut lösemilerin sınıflaması esas olarak morfolojik ve histokimyasal özellikler baz alınarak yapılırsa da ALL' lerin % 4-25' i miyeloid antijen, AML' lerin % 11-28'i lenfoid antijen eksprese eder. Miyeloid markır varlığının prognozu kötü yönde etkilediğine dair çalışmalar olmasına rağmen, prognoza etki etmediğini ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (17-21).

2.1.3.1.1.3. Akut Miyeloid Lösemilerde Klinik ve Laboratuvar Özellikler

AML'de tanıya yardımcı olan ve hastayı doktora gitmeye sevk eden bulgu ve semptomlar, kemik iliğinin blastlarla infiltrasyonu ile gerçekleşen anemi, nötropeni ve trombositopenidir. Gelişen anemi sonucunda yorgunluk, baş ağrısı, kulak çınlaması, baş dönmesi ve konjestif kalp yetmezliği meydana gelir. AML sonucu oluşan anemi genellikle normokromik ve normositik olup hemoglobin değerleri 2,7-14,3 g/dL arasındadır (ortalama 7 gr/dL). Gelişen trombositemi sonucunda hemoraji, peteşi, ekimoz, burun kanaması ve gingival kanama meydana gelir. Daha az sıklıkta, ürogenital sistem, MSS kanamaları, pulmoner ve retinal kanamalar görülebilir. Trombosit sayısı 20000/mm³'ün altına düştüğü zaman kanama riski artar. Blast sayısının >100000 /mm³ olduğu durumlarda lökostaz ortaya çıkar ve MSS veya akciğerde kanamalar meydana gelebilir. Ayrıca muayenede cilt ve mukozalar soluktur. Yeni tanı alan AML'li çocukların yarısında trombosit sayısı 50.000'in altındadır. AML'nin M3 tipinde promyelositik granüllerin tromboplastin aktivitesinin yüksek olmasına bağlı olarak yaygın damariçi pıhtılaşma (DIC) meydana gelebilir.

AML'de lökosit sayısı değişkenlik göstermekle beraber olguların dörtte birinde 100.000 /mm³'ü geçer. M4-M5 tiplerinde yüksek lökosit, M3 tipinde ise düşük lökosit söz konusudur. Nötrofil sayısı genellikle 1000/mm³'ün altındadır. Nötrofil sayısının 200/mm³'ün altına indiği durumlarda ise akciğer, sinüs, gingiva, diş ve deride bakteriyel enfeksiyonlar meydana gelir.

AML'li hastaların yarısından fazlasında hepatosplenomegali gözlenir. Masif büyümüş lenf nodları genellikle M4-M5 tipteki AML hastalarında görülür. Olguların yarısında MSS tutulumu vardır. Baş ağrısı, kusma, papiller ödem ve kranial sinir paralizisi AML'nin meningial infiltrasyonuna bağlı olarak gelişir. AML'de ekstramedullar tutulum % 20-40 civarındadır ve en sık deri, MSS, dişeti, yumuşak doku ve kemikte görülür. Bazı hastalarda ciddi eklem veya kemik ağrısı artriti taklit eder. Proptozis veya nörolojik bulgular santral sinir sistemi lösemisinin özellikleridir. Gigival hiperplazi daha çok M4 ve M5 tipinde görülür, bu tiplerin santral sinir sistemini infiltre etmeye eğilimleri fazladır. AML'nin diğer semptomları ise eklem ağrısı, kemik ağrısı ve kilo kaybıdır (14,16).

2.1.3.1.1.4. Akut Miyeloid Lösemilerde Tanı

Tanı periferik yayma ve kemik iliği incelemesi ile konulur. Kemik iliği incelemesinde tanı % 30 ve üzerinde miyeloid blastların saptanmasıyla konmaktadır. Bazı araştırmacılar için % 25'lik blast oranı tanı koymada yeterli olduğu şeklindedir. Ancak hastaların % 10'unda periferik yaymada blast bulunmaz. İmmunfenotiplendirme de ayırıcı tanıda son yıllarda önem kazanmıştır. Akut promyelositer lösemide koagülasyon testleri de yapılmalıdır, çünkü bu hastalarda yaygın damar içi pıhtılaşması artmıştır. AML'de peroksidaz ve Sudan-black boyama testi pozitifdir; ALL de ise negatifdir. Monoblastik lösemide nonspesifik esterazlar ile hücre sitoplazması boyanabilir. Folik asid ve vitamin B12 eksikliği ile oluşan megaloblastik kemik iliği değişiklikleri AML ile karışabilir (15).

2.1.3.1.1.5. Akut Miyeloid Lösemilerde Prognostik Faktörler

Prognoza etki eden çok az faktör tespit edilmiştir. Bazılarının tedavinin etkinliği, remisyona girme oranı ve remisyonda kalış süresi üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. AML için iyi prognostik ve kötü risk faktörleri Çizelge 2.3.'de gösterilmiştir (14,16).

Çizelge 2.3. AML’de iyi prognoz ve kötü risk faktörleri

Faktör	İyi Prognoz Kriterleri	Kötü Risk Faktörleri
Lökosit Sayısı	< 100.000/mm ³	> 100.000/mm ³
Sitogenetik	t (8;21), t(9;11) / AML M3, inv(16) / AML M4 Down sendromu	Monozomi 7 (7q-), trizomi 8, 5 ve 7. kromozom anomalileri
Sekonder AML varlığı (MDS veya kemoterapi sonrası)	Olmaması iyi	Olması kötü
Tam remisyonla sonuçlanan tedavi kürü sayısı	1	1’den fazla, tedaviye geç yanıt
Hastanın Yaşı	2-60	<2, >60
FAB Subtipi	M ₁ ve M ₂ (Auer cisimciği (+) ise), M ₃ ve M _{4eo} subtipleri	AML M ₀ , M ₄ , M ₅ , M ₆ , ve M ₇ subtipleri
Ekstramedüller ve MSS tutulumu	Olmaması iyi	Olması kötü
Çoklu ilaç direnci	Olmaması iyi	Olması kötü
Laboratuvar bulguları	LDH’in düşük olması	LDH’in yüksek olması

2.1.3.1.1.6. Akut Miyeloid Lösemilerde Tedavi

İndüksiyon ve postremisyon tedavisinden oluşur. AML M₃’ün tedavisi ayrı olarak değerlendirilir. Kalıcı remisyon sağlamak için indüksiyon tedavisi sonrası kemik iliği trasplantasyonu ya da postremisyon yüksek doz sitosin arabinosid (ARA-C) önerilmektedir. M3 subtipde ise DIC yüzünden erken mortalite yüksek olmasına rağmen uzun dönem yaşam açısından en iyi prognoza sahiptir. Retinoik asitlerin tedavide kullanılması ile %90 tam remisyonlar elde edilmekte ama bu remisyonlar kalıcı olmamaktadır. Önerilen tedavi retinoik asit ve bunu takiben kemoterapidir. AML’de tam remisyon oranı % 40-70 arasındadır. AML’de kesin remisyon kriterleri şunlardır; hastanın klinik olarak herhangi bir sorununun olmaması, hemoglobin, lökosit ve trombosit sayısının normal olması, periferde blast olmaması ve kemik iliğinde blast sayısının %5’in altında olmasıdır. Bu kriterler sağlandıktan sonra tam remisyon bahsetmek mümkün olabilir (15).

2.1.3.1.2. Akut Lenfoblastik Lösemi

Lenfoblastların maturasyon aşamasında kesintiye uğraması ve çoğalması ile karakterize olan fatal seyirli bir lösemi tipidir. Hastalık kemik iliği kökenli olup, lösemik hücreler T lenfoblast veya B lenfoblastların özelliklerini taşırlar. ALL'deki lösemik lenfoblastlar, miyeloblastlardan daha küçük olup yaklaşık 10-15 µm çapındadırlar. Genellikle dar bazofil ve granülsüz bir sitoplazması bulunur ve hücre çekirdeği yuvarlak ya da kıvrımlıdır. ALL, lösemi tipleri içinde tedaviye en iyi yanıt veren gruptur. Tüm çocukluk çağı lösemilerinin ise % 15-20'sini meydana getirirler. Hastalık, erkeklerde kızlara nazaran daha sık gözlenir. ALL, ilk pikini 2-5 yaşları arasındaki çocuklarda, ikinci pikini ise 69 yaşından sonra erişkinlerde yapar. Hastalığın prognozu 2-10 yaş arasındaki kız çocuklarında iyiyken, erkeklerde ve diğer yaş gruplarında ise nispeten daha kötüdür. Lökosit sayısının aşırı artması, miyeloid antijenin varlığı, periferik yaymada blastların bulunması ve kemik iliğinde aşırı derecede blastların bulunması (> %5) hastalığın prognozunu kötüleştirir (22).

2.1.3.1.2.1. Akut Lenfoblastik Lösemilerin Etiyolojisi

ALL etiyojisinde de AML'ye benzer şekilde genetik faktörler önemli rol oynarlar. Bunların başında Trizomi 21 (Down sendromu), Falconi anemisi, Bloom sendromu, Rubenstein Taybi sendromu, Schwachmann Sendromu ve Ataksia Telenjektazi gelir (22,23).

Bazı parenteral maruziyetler de ALL etiyojisinde önemli bir yer kaplar. Bunlardan en önemlileri intrauterin radyasyon ve annenin sigara içmesidir. Ayrıca mesleki faktörler, immunolojik faktörler, viral ajanlar, iatrojenik faktörler ve çevresel faktörler de ALL oluşumuna yol açabilirler. Bunlara ek olarak malign hastalıklara sekonder olarak gelişen ALL'ler de mevcuttur (24,25).

2.1.3.1.2.2. Akut Lenfoblastik Lösemilerin Sınıflandırılması

Son halini 1981'de alan FAB sınıflandırmasına göre Akut Lenfoblastik Lösemiler; ALL L1, ALL L2 ve ALL L3 olmak üzere üç gruba ayrılırlar:

FAB L1: Hücreler homojen ve küçük olup, sitoplazmaları hafif bazofilik ve dardır. Çekirdek sınırları düzenlidir ve koyu boyanır. Çekirdekçik yoktur ya da çok küçük ve belirsizdir.

FAB L2: Hücreler heterojen ve daha büyük olup, sitoplazmaları daha geniştir. Değişken derecelerde bazofilik boyanır. Çekirdek sınırları düzensizdir ve çekirdekçik belirgin olup, bir veya daha fazla sayıdadır.

FAB L3: Hücreler homojen ve büyük olup, sitoplazmaları koyu bazofilik ve geniştir. Sitoplazmada belirgin vakuolizasyon vardır. Çekirdek yuvarlak, sınırları düzenlidir. Çekirdekçik büyük ve belirgin olup veziküller içerir. Bu hücrelerde mitoz sıktır. Genellikle yüzey immunglobulin yapısı (B-cell ALL) içerir ve Burkitt lenfoma ile benzerlik gösterir. Bu yüzden ALL L3, Burkitt lenfomasının lösemik şekli olarak da bilinir (26). Çizelge 2.4.'de ALL'nin FAB sınıflaması ve L1'den L3'e kadar olan alt tiplerinin yapısal ve klinik özellikleri gösterilmiştir (22,23).

Çizelge 2.4. ALL'de FAB sınıflandırması

Tip	Morfoloji	PAS	Prognoz	Diğer
L1	Küçük, homojen, çekirdek/sitoplazma oranı yüksek, belirsiz, tek çekirdekçikli hücreler	++	İyi	Çocuklarda sık
L2	Büyük, çekirdek/sitoplazma oranı düşük, belirgin, birden çok çekirdekçikli hücreler	+	Orta	Yetişkinde sık
L3	Tektip, bazofilik vakuollu, büyük veziküller çekirdekçik içeren hücreler	-	Kötü	Burkit lenfomanın lösemik formu olup nadiren görülür

Çocukluk çağı ALL olgularının yaklaşık %85-86' sı ALL L1, %13-14'ü ALL L2 ve %1'i ALL L3 tipindeyken erişkinlerde ise en sık L2 tipine rastlanmaktadır. Yapılan araştırmalar ALL' de FAB sınıflandırmasının hastalığın remisyonu, indüksiyonu, hastalısız sağkalım ile toplam sağkalım süresi açısından oldukça belirgin bir prognostik faktör olduğunu göstermiştir. ALL L1'li hastalar daha yüksek remisyon indüksiyon oranı, uzamış remisyon ve sağkalım oranı gösterirler. ALL L2

morfolojisindeki hastalar ise diğer prognostik faktörlerden bağımsız olarak daha yüksek relaps oranına ve kötü prognoza sahiptirler. ALL L3'lü hastalar ise en kötü prognoza sahiptirler.

ALL'li hastaların yaklaşık yarısının hücrelerinde PAS boyası ile reaksiyona giren büyük bloklar halinde glikojen inklüzyonları vardır. Lenfoblastlarda, granülositik ve monositik enzimler bulunmadığından dolayı peroksidaz, sudan black, klorasetat esteraz ve nonspesifik esteraz gibi sitokimyasal boylarıyla reaksiyon vermezler. ALL'li olguların % 90 gibi büyük bir çoğunluğunda lösemik lenfoblastlar "Terminal deoksiniükleotidil Transferaz (TdT)" adı verilen bir nükleer enzim içerirler. AML'li hastalarda ise TdT pozitifliği çok nadirdir (27).

2.1.3.1.2.3. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Klinik ve Laboratuvar Özellikler

Akut lösemnin en önemli klinik belirti ve bulguları kemik iliğinin ya da diğer organların lösemik hücrelerce infiltrasyonu, normal hematopoezin ve etkilenen organ fonksiyonlarının bozulmasıyla ortaya çıkar. ALL'deki kan tablosu AML'ye oldukça benzer. Hastalık ALL'li çocuklarda genellikle herhangi bir belirti vermeden birdenbire ağır bir klinik tablo şeklinde başlar. Belirtilerin başlaması ile tanının konması arasında geçen süre birkaç gün ile birkaç hafta arasında değişir. Kemik iliği yetmezliği ilk bulgulardan birisidir ve bunu ekstramedüller infiltrasyon izler. Ateş (% 43-61), kanama (% 24-55), solukluk (% 39-55), purpura, peteşi (% 70), halsizlik (% 30), iştahsızlık (% 17-33), abdominal ağrı (% 9-19) ve kemik-eklem ağrısı (% 31-38) ALL'nin en önemli semptomlarıdır. Hastalarda kemik iliği yetmezliğine bağlı kanama dışında nötropeni nedeniyle enfeksiyona eğilim de artmıştır. Mukoza kanamaları ise trombosit sayısı $20.000/mm^3$ altına düşünce belirginleşir. Kemik korteksine ve eklem kompartmanına lösemik hücre infiltrasyonu nedeniyle kemik ve eklem ağrıları meydana gelir. Lenfadenopati ve çeşitli derecelerde hepatosplenomegali görülür.

Laboratuvar bulgusu olarak kemik iliği yetmezlik bulguları olan trombositopeni, nötropeni ve normositik anemi görülür. Bunlara ek olarak lökositoz da görülebilir. Bunların çoğu immatür lenfoblastlara aittir ve periferik yayma ile kolayca gösterilebilir (22,24).

2.1.3.1.2.4. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Tanı

Lösemi tanısı, periferik kan ve kemik iliği bulgularıyla kolayca konabilse de nadiren bazı hastalıklarla karışabilmektedir. Bu hastalıkların başında enfeksiyöz mononükleoz, aplastik anemi ve lökomoid reaksiyonlar gelmektedir. Enfeksiyöz mononükleaz da ateş, halsizlik, lenfadenopati, splenomegali ve lenfositöz bulguları vardır. Trombositopeni ve immün hemolitik anemi görülebilir. Bu hastalıkta atipik lenfositlerin görülmesi karakteristik bulgudur. Spesifik virolojik tetkikler ile tanı konulur. Lökomoid reaksiyon, özellikle sepsis boğmaca, sifiliz, Down sendromu, akut hemoliz, granülatöz hastalıklar, kemik iliğine metastatik tümörlerde görülebilir. Altta yatan hastalığın düzeltilmesi ile lökomoid reaksiyon düzelir. Çocuklarda ateş, artralji, artrit veya ekstremitelerde ağrısı juvenil romatoid artrit ile karıştırılabilir. Anemi, lökositöz ve hafif splenomegali her juvenil romatoid artritli çocukta vardır. Kemik ağrıları nedeniyle artrit veya osteomyelit ile karıştırılabilir. Pansitopeni ve ateş çocukluk çağında aplastik anemi ve ALL'de sık görülen semptomlardandır. Ancak aplastik anemide lenfadenopati ve hepatosplenomegali görülmez. Aplastik anemide kemik iliği hiposellüler, normal prekürsörler azalmış, küçük lenfositler görülür. Myeloproliferatif sendromlar ve prelösemik durumlarda kemik iliği dismyelopoetik özelliktedir. Kemik iliğinde infiltrasyon yapan malignansilerden nöroblastoma çocukluk çağının en sık solid tümörü olup %70 kemik iliğine infiltrasyon yapar (25).

Lösemi tanısı tek başına periferik yayma ile yapılmaz. Çünkü osteopetrozis, myelofibrosis, granülatöz enfeksiyonlar, sarkoid, Epstein Barr virüsü enfeksiyonu, akut viral enfeksiyonlar, boğmaca, sifiliz gibi enfeksiyonlarda lösemi ile karışan periferik yayma bulguları vardır. Bu nedenle lösemi tanısı kemik iliği muayenesi ile konulur. Normal kemik iliğinde blast sayısı %5'den azdır. Lösemi tanısı koymak için kemik iliği incelemesinde hücrelerin minimum %25'inin lenfoblast olması gerekir.

2.1.3.1.2.5. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Prognostik Faktörler

ALL'de en önemli prognostik faktör etkili tedavidir. Çok küçük çocuklarda veya 10 yaşından büyüklerde tedaviye yanıt iyi değildir. Lökosit sayısı yüksek olan hastaların standart tedaviye yanıtları iyi değildir, rekürrens oranı fazladır (23,24).

Çizelge 2.5. ALL’de iyi prognoz ve kötü risk faktörleri

Faktör	İyi Prognoz Kriterleri	Kötü Risk Faktörleri
Hücre tipi	erken pre-B, null ALL	B.ALL
cALLa	(+)	(-)
Lökosit sayısı	<10.000/mm ³	>50.000/mm ³
Yaş	3-5 yaş	<2 veya >10 yaş
Cinsiyet	Kız	Erkek
SSS tutulumu	(-)	(+)
Organomegali	(-)	(+)
Mediastinal kitle	(-)	(+)
Filadelfiya (Ph) kromozomu varlığı	(-)	(+)

2.1.3.1.2.6. Akut Lenfoblastik Lösemilerde Tedavi

ALL vakalarında kemoterapi ile %95 oranında remisyon sağlanır. İlk 4 haftada remisyon sağlanmayan vakalarda prognoz iyi değildir. Çok yoğun indüksiyon tedavisi morbidite ve mortaliteyi arttırır. Bu nedenle hastalar tedavinin başında iyi veya risk grubu olarak ayrılarak remisyon indüksiyon protokolü ona göre seçilir. Kötü risk grubunda (lökosit sayısının yüksek olması T veya B tipi lenfoblast olması, Ph kromozomunun pozitif olması, SSS, mediasten infiltrasyonunun olması) daha agressif protokol uygulanır (23).

2.1.3.1.2.7. Akut Lösemiler ve Genetik Yatkınlık

Hergün yüzlerce ilaç ve kimyasalı isteyerek veya istemeyerek vücudumuza almaktayız. Bu kimyasallar vücuda alındığı andan itibaren biyotransformasyona uğrayarak parçalanırlar. Bu transformasyon sonucunda vücuda alınan kimyasallar ya prokarsinojen ön maddeleri daha karsinojen aktif maddelere metabolize ederler ya da daha az karsinojen metabolitlere parçalanırlar. Biyotransformasyonda rol oynayan

enzimler ise vücutta genler tarafından kodlanırlar. Bu genlerdeki mutasyonlar ve polimorfizmler sonucunda enzim sentezinde artma yada azalma meydana gelebilir. Bu enzimler eğer akut lösemi patogenezinde rol oynayan bir kimyasalın veya ilacın metabolizmasını üstleniyorsa sonuçta akut lösemiye yatkınlığı arttırabilir veya tam tersine koruyucu rol üstlenebilir. Bu konuda yapılan araştırmalarda *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *GSTT1* ve *GSTM1* genlerinin lösemiye yatkınlığı arttırdığı tespit edilmiştir (1,2,23,24).

2.2. Ksenobiyotik Metabolizması

Organizmaya dışarıdan giren yabancı maddelere ksenobiyotik (yunanca “xenos” =yabancı) denilmektedir. Son zamanlarda artan sanayileşme ve kentleşmenin bir sonucu olarak canlılar pek çok ksenobiyotiklerle karşı karşıya kalmaktadır. Bu maddeler genelde lipofilik yapıda olup lipid membranlardan geçerek lipoproteinlerle vücut sıvılarına taşınırlar. Lipofilik ksenobiyotikler çok çabuk emilir ancak fizyolojik pH’da iyonize olamadıklarından dolayı çok az itrah edilirler. Canlı organizma bu toksik etkiyi ortadan kaldırmak için lipofilik yapıdaki ksenobiyotikleri hidrofilik bileşiklere dönüştürür. Büyük oranda enzimatik olarak gerçekleşen bu reaksiyonlara biyotransformasyon denilmektedir. Biyotransformasyonun yer aldığı organlar karaciğer başta olmak üzere akciğer, böbrek, barsak, deri, testis, plasenta ve böbreküstü bezlerdir. Kimyasal maddelerin enzimatik olarak transforme edilip hidrofilik metabolitlere dönüşmesi Faz I, bu hidrofilik moleküllerin endojen maddelerle birleşip inaktif hale dönüşmesi ise Faz II reaksiyonlarını oluştururlar (28,29).

2.2.1. Faz I Reaksiyonları

Faz I reaksiyonları genelde ksenobiyotiklerin -OH, -NH₂ ve -SH gruplarına enzimatik yolla birtakım moleküller bağlanarak daha polar yapıların oluştuğu ve hidrofilik özelliğın arttığı reaksiyonlardır. Faz I enzimleri lipofilik maddeleri polarize ederek Faz II enzimleri tarafından tanınabilmelerini sağlarlar. Bu reaksiyonlar organizma için zararlı olan birçok kimyasal maddenin yanı sıra safra asitleri, yağ asitleri, hormonlar ve prostaglandin gibi endojen maddelerin metabolizmasında rol

oyunlar. Faz I reaksiyonları oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz reaksiyonlarını içerir (28).

2.2.1.1. Oksidasyon (Yükseltgenme)

Oksidasyon tepkimeleri biyotransformasyonun büyük bir kısmından sorumludur. Ksenobiyotiklerin % 90-95'i bu yolla metabolize olurlar ve yükseltgenmeden sonra aktivasyon oluşur. Yükseltgenme tepkimeleri mikrozomal ve non-mikrozomal enzim sistemleri tarafından gerçekleştirilirler.

1) Mikrozomal enzim sistemleri

- a) CYP içeren monooksijenazlar
- b) Flavin içeren monooksijenazlar

2) Non-mikrozomal enzim sistemleri

- a) Sitolik enzimler (Alkol dehidrogenaz, Aldehit dehidrogenaz)
- b) Mitokondriyel enzimler (Monoamin oksidaz, Diamin oksidaz, Ksantin oksidaz, Histaminaz)

Önemli oksidasyon reaksiyonlarından bazıları şunlardır; alifatik hidroksilasyon (yan zincir oksidlenmesi), aromatik halka hidroksilasyonu (AHH), -N, -O, -S dealkilasyon, desülfürasyon, α -metilli aminlerin oksidatif deaminasyonu, -N, -S, -P oksidasyon (sülfidril oluşumu), -N hidroksilasyon, oksidatif deaminasyon, epoksit oluşumu ve desülfürasyon ve ester kırılması.

2.2.1.2. Redüksiyon (İndirgenme)

Oksidasyon tepkimelerinden daha seyrek rastlanan redüksiyon tepkimeleri; azo gruplarının aminlere, nitro gruplarının amin ve hidroksilaminlere ve aldehidlerin alkollere dönüşmesi reaksiyonlarını içerirler.

Önemli redüksiyon reaksiyonlarından bazıları; aldehitlerin ve ketonların alkollere dönüşüm reaksiyonları, azo ve nitro gruplarının aminlere dönüşüm reaksiyonları, nitro gruplarının hidroksilaminlere dönüşüm reaksiyonları, disülfürlerin indirgenmesi, çift bağların indirgenmesi ve As^{+5} 'in As^{+2} 'e indirgenmesidir.

2.2.1.3. Hidroliz (Kırılma)

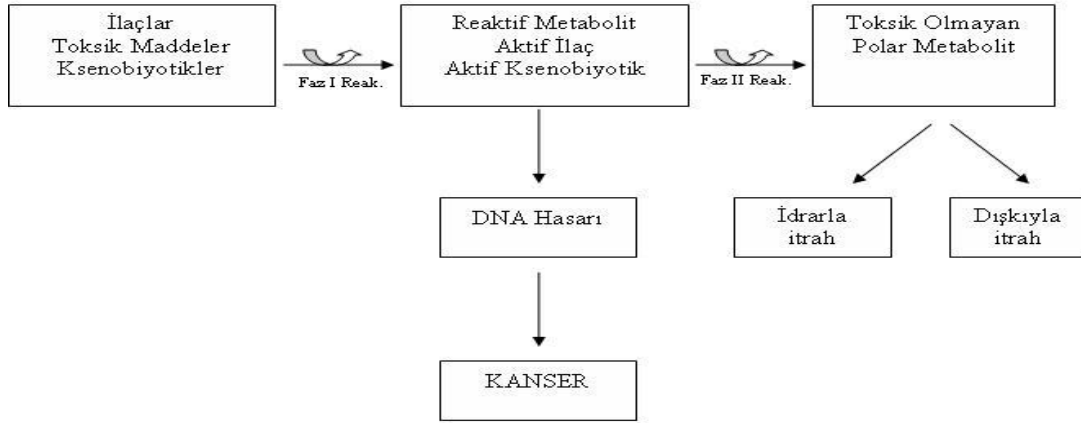
Hidrolitik reaksiyonlar sadece Faz I reaksiyonlarda görülür ve enerjiye gereksinim duymazlar. Hidroliz enzimleri, plazmada, karaciğerde, intestinal mukozada, böbrekte, kaslarda ve sinir dokusunda bulunur. Dekarboksillenme, glikozidlerin hidrolizi, -O, -N ve -S dealkilasyonu ve esterlerin ve amidlerin hidrolizi önemli hidroliz reaksiyonları arasındadır.

2.2.2. Faz II Reaksiyonları

Faz II reaksiyonlarında ksenobiyotik veya metabolitine kovalent bağla bir radikal veya molekül bağlanır. Bu konjugasyon sonucunda daha polar metabolitler oluşarak idrarla atılımı kolaylaşır. Faz II reaksiyonlarından bazıları; glukuronik asitle birleşme, -N ve -O metilasyonu, -N asetilasyonu, sülfat ve glutatyon konjugasyonu ve amino asit konjugasyonudur (29). Faz II reaksiyonlarda görev alan non-mikrozomal enzimler şunlardır:

- | | |
|--|-----------------------------------|
| a) -N asetil transferaz | e) Sulfonil transferaz |
| b) Glukuronil transferaz | f) Metil transferaz |
| c) Glutatyon S-transferaz | g) Tiyopurin metil transferaz |
| d) Uridin difosfat glukuronil transferaz | h) Katekolamin O-metil transferaz |

İlaç ve ksenobiyotiklerin faz I ve faz II reaksiyonlarını içeren biyotransformasyonları Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. İlaç ve ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu

2.2.3. Sitokrom P450 Enzimleri

Sitokrom P450 enzimleri biyotransformasyon yapan enzimlerin önemli bir kısmını oluştururlar. Bu enzim grubu tamamen tanımlanmış olup karma fonksiyonlu oksidazlar veya monooksijenazlar olarak da adlandırılırlar. Sitokrom P450 enzimleri ilaçlar ve diğer ksenobiyotiklerin dışında steroidler, yağ asitleri, prostaglandinler ve biyolojik aminler gibi endojen maddelerin oksidasyonunda ve biyosentezinde görev alırlar (30,31).

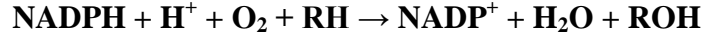
CYP enzimleri insandan hayvana, bitkiden bakteri ve mayalara kadar geniş bir alana yayılmıştır. Bütün canlılarda toplam 2400 tane CYP geni tanımlanmıştır. İnsanda bu sayı 57 iken farede 85'dir. Ancak bunların hepsi ksenobiyotik metabolizmasında rol almamaktadır.

Sitokrom P450 enzim sistemi iki bileşenden oluşur; demir (Fe^{+3}) içeren ve sitokrom P450 de denilen hemoprotein kısım ve NADPH-Sitokrom P450 redüktaz adı verilen flavoprotein kısım. Sitokrom P450, enzim sisteminin substratı ve oksijen bağlayan yeridir. Flavoprotein kısım ise elektron taşıyıcı sistem olarak görev yaparlar.

Sitokrom P450 enzimleri katalizledikleri reaksiyondaki iki oksijenden birini substrata katarken diğerini indirgeyerek su meydana getirir. Sitokrom P450 enzimleri başta karaciğer olmak üzere gastrointestinal kanal mukozasında, akciğerde, böbrekte, ciltte, santral sinir sisteminde, plazma ve eritrositlerde, ağız mukozasında, diş etinde ve

plasentada bulunur. Sitokrom P450 enzimleri ilaçların ve çevresel karsinojenlerin yaklaşık % 50'sinden fazlasını metabolize ederler (32-34).

CYP'nin katalizlediği oksidasyon reaksiyonu:



İndirgenmiş sitokrom P450, CO ile yaptığı kompleksin 450 nm'de maksimum absorbands vermesinden dolayı bu ismi almıştır. Denatüre olan sitokrom P450, 450 nm'deki pikini kaybeder ve diğer hem proteinleri gibi (hemoglobin v.b.) 420 nm'de absorbands verir.

Sitokrom P450'leri mikrozomlardan izole etmek için iyonik ve non-iyonik deterjanlar, sülfidril ajanlar, gliserol ve metal şelatörler gibi denatüre edici ajanlar ile klasik ultrasantrifüj, CaCl₂ ile düşük devirde çöktürme, kolon kromatografisi veya polietil ile düşük devirde çöktürme gibi ayırma metodları kullanılmaktadır (30,32).

Ayrıştırılan sitokrom P450'lerin tanımlanması elektroforez, immunohistokimyasal yöntemler, peptid bağlanması ve amino asit dizilişleri incelenerek yapılır.

CYP enzimlerinin en önemli komponenti olan sitokrom P450'nin çok sayıda izoenzimi mevcut olup her biri farklı genler tarafından kodlanıp sentezlenmektedir. Ayrıca her P450 izoenzimi için belirli substrat, indükleyici ve inhibitörler mevcuttur (31).

Sitokrom P-450 izoenzimleri substrat seçiciliği, katalitik aktiviteleri ve in vitro koşullarda spesifik antikorlar tarafından inaktive edilmelerine göre sınıflandırılırlar. Enzimlerin amino asit dizilimi en az % 36 homolog ise aile olarak kabul edilir. Adlandırmaya göre CYP; Sitokrom P-450'yi, sonrasında gelen sayı ise enzim ailesini ifade eder. Her P450 kendi içinde alt ailelere ayrılır. Alt ailelerin amino asit dizilişi en az % 75 homoloji gösterir ve sayıdan sonra gelen ana harflerle belirtilirler (CYP1A, CYP1B). Harften sonra gelen sayı ise bireysel izoenzimleri tanımlar. Sitokrom P450 proteinlerini kodlayan genlerin meydana getirdiği süper aile de aynı sistematığe göre yapılır ancak italik yazıyla belirtilir (*CYP 2B6*).

İlk üç sitokrom P-450 ailesi ksenobiyotik metabolizmasında rol oynamaktadır. CYP 4 enzim ailesinin de bazı ksenobiyotiklerin metabolizmasında rol aldığı son zamanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Sitokrom P-450 enzimlerinden bazıları

ksenobiyotikleri aktif ara ürünlere dönüştürürler. Bu aktif ara ürünler oldukça toksik ve karsinojenik olup, bunlar Faz II enzimleri tarafından çeşitli endojen moleküllerle (glukuronik asit, sülfat veya glutatyon) konjuge ederek nötralize ederler veya aktif karsinojenik ürünler hücrel komponentlere (DNA, protein vb.) kovalent olarak bağlanarak toksik etki gösterirler. Kimyasal maddelerin aktivasyonu ve detoksifikasyonu arasında bir denge vardır ve bu denge aktivasyon yönüne kaydığında toksik etkiler gözlenir (33,34).

İnsanlarda şimdiye kadar 18 kadar CYP enzim ailesi tespit edilmiş olup bunlardan toplam 57 fonksiyonel gen ve 58 psödogen kodlanmaktadır (Çizelge 2.6.) (32,33).

Çizelge 2.6. Sitokrom P-450 enzim aileleri, alt aile sayıları, içerdikleri gen sayıları ve fonksiyonları

Sitokrom P-450 Enzim Ailesi	Alt Aile sayısı	Fonksiyonel Gen sayısı	Fonksiyonu
CYP1	3	3	Ksenobiyotik Metabolizması
CYP2	13	16	Ksenobiyotik ve Steroid Metabolizması
CYP3	1	4	Ksenobiyotik ve Steroid Metabolizması
CYP4	5	12	Araşidonik asit ve Yağ Asidi Metabolizması
CYP5	1	1	Tromboksan A ₂ sentezi
CYP7	2	2	CYP7A (Safra asit biyosentezi, steroidlerin 7 α -hidroksilasyonu)
			CYP7B (Beyine spesifik 7 α -hidroksilaz)
CYP8	2	2	CYP8A (Prostasiklin Sentezi)
			CYP8B (Safra Asidi Biyosentezi)
CYP11	3	3	Steroid Biyosentezi
CYP17	1	1	Steroid Biyosentezi (17 α -hidroksilaz)
CYP19	1	1	Steroid Biyosentezi (aromataz)
CYP20	1	1	Bilinmiyor
CYP21	1	1	Steroid Biyosentezi
CYP24	1	1	Vitamin D yan zincir reaksiyonu
CYP26	3	3	Retinoik asid hidroksilasyonu

CYP27	3	3	CYP27A (Safra asidi biyosentezi)
			CYP27B (Vitamin D ₃ 'ün 1 α -hidroksilasyonu)
			CYP27C (Bilinmiyor)
CYP39	1	1	24-OH kolesterolün 7 α -hidroksilasyonu
CYP46	1	1	Kolesterolün 24-hidroksilasyonu
CYP51	1	1	Kolesterol biyosentezi (Lanosterol 14 α -demetilaz)

CYP genlerinin ürünleri olan enzimler pek çok ilacın ve ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumludurlar. *CYP* enzimleri ve substratları Çizelge 2.7.'de gösterilmiştir (31,33).

Çizelge 2.7. Sitokrom P-450 enzimleri ve substratları

CYP Enzimleri	Substratları
CYP 1A1	7-etoksiresorufin
CYP 1A2	Verapamil, imipramin, amitriptilin, fenasetin, parasetamol, kafein, teofilin, fenasetin, klozapin, propafenon, dantrolen, klorzaksazon, prokarbazin, tamoksifen, estradiol, lidokain, teobromin
CYP 2A1	Kumarin
CYP 2A6	Nikotin, kumarin
CYP 2B6	Siklofosfamid, 7-etoksiresorufin, diazepam, etilmorfin, kokain, ifosfamid
CYP 2C9	Diklofenak, naproksen, proksikam, S-warfarin, debrizokin, spartain, Dekstrametorfan, tolbutamid, ibuprofen, mefenamik asit, fenotein, tenoksikam, tetrahidrokannabiol, tienilik asit
CYP 2C19	Diazepam, omeprazol, imipramin, amitriptilin, R-warfarin, S-mefenitoin, propranolol, proguanil
CYP 2D6	Amitriptilin, kaptopril, kodein, mianserin, klorpromazin
CYP 2E1	Dapson, etanol, halotan, parasetamol, klorzaksazon
CYP 3A3/4	Alprazolam, sisaprid, terfenadin, kortizol, eritromisin, lidokain, triazolam, dapson, siklosporin, kinidin, kalsiyum kanal blokerleri, siklofosfamid, oleandomasin, ifosfamid, ketakanazol, mikonazol, kortizol, prednizol, testosteron, midezolam
CYP 3A5	Nifedipin, kortizol

Ksenobiyotik CYP enzimleri ilaçların yanı sıra bazı endobiyotiklerin metabolizmasından da sorumludurlar (Çizelge 2.8.) (31,32,34).

Çizelge 2.8. Endobiyotik metabolizmasında rol alan enzimler, substratları ve reaksiyon tipleri

CYP Enzimleri	Substrat	Reaksiyon Tipi
CYP 1A2	Araşidonik asit	Oksidasyon
	Estradiol, Estron	2-hidroksilasyon
CYP 1B1	Estradiol	4-hidroksilasyon
CYP 2C8	Retinol, Araşidonik Asit	Oksidasyon
CYP 2C9	Retinol, Araşidonik Asit	Oksidasyon
CYP 2E1	Araşidonik asit	Oksidasyon
CYP 3A4	Testosteron, Progesteron	6-β ve 2-β Hidroksilasyon
	Estradiol, Estron	2-hidroksilasyon
CYP 3A7	Dehidroepiandrosteron	16-α Hidroksilasyon
CYP 4A1	Testosteron, Progesteron	6-β ve 2-β Hidroksilasyon
	Yağ asitleri	ω- Oksidasyon

Ksenobiyotik CYP'lerin insan vücudunda bulunma oranları da değişkenlik gösterir (Çizelge 2.9.) (33,34).

Çizelge 2.9. Sitokrom P-450 enzimleri ve vücutta bulunma oranları

CYP enzimleri	Vücutta bulunma oranları
CYP 3	% 31
CYP 2C11	% 16
CYP 2E1	% 13
CYP 1A2	% 13
CYP 1A6	% 8
CYP 2C6	% 6
CYP 2A6	% 4
CYP 2D6	% 2
Diğerleri	% 7

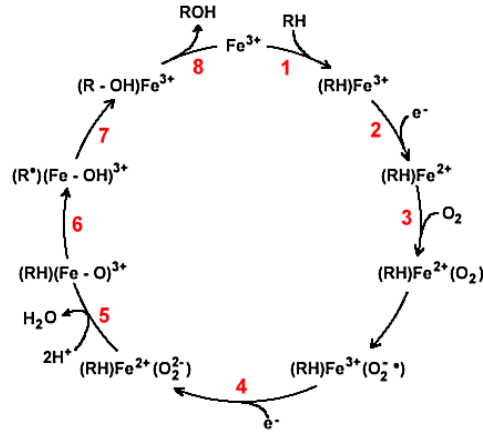
İlaç ve ksenobiyotik biyotransformasyonunda rol alan enzimlerin metabolize ettikleri ilaç sayısına göre oranları da Çizelge 2.10'da gösterilmiştir (32).

Çizelge 2.10. Sitokrom P-450 enzimleri ve metabolize ettikleri ilaç ve kimyasalların yüzdeleri

CYP enzimleri	Metabolize ettikleri maddelerin yüzdeleri
CYP 3A4	% 55
CYP 2D6	% 30
CYP 2C9	% 10
CYP 1A2	% 2
Diğerleri	% 3

2.2.3.1. Sitokrom P-450 Enzim Sisteminin Reaksiyon Mekanizması

Sitokrom P-450 enzim sisteminin önemli komponentlerinden biri olan hem grubunun en önemli fonksiyonu, moleküler formdaki oksijeni reaktif atomik forma dönüştürmektedir. Reaksiyon olmadığı zamanlarda (dinlenme fazında) hem grubunda bulunan demir, +3 değerliklidir (trivalenttir). Reaksiyonun başlangıcında substrat hem grubunun yakınında bir yere bağlanır. Bunun sonucunda +3 değerlik indirgenerek +2 değerlikli hale gelir ve O₂'nin bağlanmasına olanak sağlar. Bu elektron dışında bir elektron daha gruba eklenerek Fe⁺²'yi Fe⁺³'e çevirir ve bağlı oksijeni peroksite indirger. Bu arada formdan bir hidroksil iyonu (OH⁻) uzaklaştırılır. Bu reaksiyon sonucunda reaktif oksijen formu oluşurken, su açığa çıkar. Oluşan reaktif oksijen formundaki demir, +4 değerliklidir (tetravalent) ve aktifleştirilmiş oksijen atomuna sahiptir. Bu oksijen kendisini substratın bir R-H bağına sokarak hidroksil grubunu oluşturur. Daha sonra son ürünün salıverilmesinin ardından orijinal enzim tekrar meydana gelir (Şekil 2.4.) (30,31,33,34).



Şekil 2.4. Sitokrom P-450 enzimlerinin reaksiyon basamakları

2.2.3.2. Sitokrom P-450 Sistemine Etki Eden Faktörler

Sitokrom P-450 enzim sistemi üzerinde birçok faktör etkilidir. Bunlar:

- | | |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| 1) Kimyasal maddenin yapısal özelliği | 6) Patolojik durumlar |
| 2) Tür farklılığı | 7) Hamilelik |
| 3) Yaş | 8) Hormonlar |
| 4) Cinsiyet | 9) Kimyasal maddelerle etkileşim |
| 5) Beslenme ve yaşam tarzı | 10) Genetik ve polimorfizm |

2.2.3.2.1. Kimyasal Maddenin Yapısal Özelliği

Bilindiği gibi bir enzimin aktivitesini belirleyen en önemli öğelerden birisi enzimin aktif bölgesine ulaşabilen substrat konsantrasyonudur. Metabolize olacak kimyasal maddelerin de enzimle bağlanan miktarı, biyotransformasyonun hızını ve yolağını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Kimyasal maddenin, enzimle etkileşen miktarını belirleyen faktörler arasında; kimyasal maddenin yapısı (lipofilik yada hidrofilik olması), dolaşımında bulunma şekli (proteine bağlı veya serbest), dozu, uygulama şekli (oral, inhalasyon, intramuskuler veya intravenöz) ve maruz kalma şekli (oral, inhalasyon) yer alır. Lipofilik maddeler kan dolaşımına, oradan da hücre membranından kolayca geçerek intrasellüler enzimlere ulaşabilirler. Ksenobiyotiklerin

taşıyıcı bir proteine özellikle de albumine bağlanması bu maddelerin parçalanma kapasitesini azaltır (34).

2.2.3.2.2. Tür Farklılığı

Ksenobiyotiklerin biyolojik yarılanma ömrü, organizmanın türü ve soyuna göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bir toksik maddenin yarılanma ömrü ne kadar uzunsa, toksik etkisi de o kadar fazla olur. Örneğin bir uyku ilacı olan hegzobarbitalin yarı ömrü farede 19, sıçanda 140, köpekde 260 ve insanda 360 dakikadır. Yani farmakolojik etkisini en fazla insanda gösterebildiği gibi en fazla toksik etkiyi de yine insan da gösterir.

Türlere göre kimyasal maddenin metabolizma yolunun farklı olması toksik etkiyi etkilemektedir. Örneğin 2-naftilamin, insan ve köpeklerde β -glukoronidaz enzimi varlığında karsinojen bir madde olan 2-naftil hidroksilamine dönüşürken, idrar yolu tümörlerine yol açabilmektedir. Ancak fare ve sıçanlarda bu enzim olmadığından 2-naftil hidroksilamin, glukuronid konjugatı şeklinde vücuttan atılır ve karsinojenik etki göstermez (33,34).

2.2.3.2.3. Yaş

Bir çok enzimin olduğu gibi sitokrom P-450 enzimlerinin de aktiviteleri yeni doğmuş bebeklerde çok düşüktür. Yapılan hayvan deneylerinde de doğumu takip eden birkaç gün içerisinde sitokrom P-450 enzimlerinin hiç olmadığı veya çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle memeli yavruları pek çok ilaç ve kimyasal maddelere karşı daha duyarlıdır. Ancak doğumdan belli bir süre sonra bu enzimlerin aktiviteleri normal seviyesine gelir.

Erişkinlerde yapılan çalışmalarda ise sitokrom P-450 enzimlerinin aktivitesinin yaşla ters orantılı olarak değişim gösterdiği ve yaşlılarda, gençlere nazaran oldukça düşük olduğu görülmüştür. Ancak yaşın, sitokrom P-450 enzim sistemi üzerindeki etkisi genel kanaat ile bu şekilde olmasına rağmen iki farklı mekanizmanın olduğu varsayılmaktadır. Bunlardan birincisi; CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 ve CYP3A3/4 enzimlerini içeren ve doğumdan sonra minimum seviyede olan ve yaş ile

beraber yükselen, daha sonra da yaşlılıkta tekrar düşüşe geçen gruptur. İkincisi ise özellikle CYP2E1'i içeren ve doğumdan sonra hızla azalan ve yaşla beraber yükselişe geçen gruptur (32,34).

2.2.3.2.4. Cinsiyet

Deney hayvanlarında kimyasallara karşı duyarlılık iki cinsiyette farklılık gösterebilmektedir. Mesela dişi sıçanların heksobarbütallerin etkisi altında daha fazla uyudukları tespit edilmiştir. Ayrıca organikfosfatlı bir insektisit olan parationun dişilerde daha etkili olduğu görülmüştür. Erkek farelerin kloroform sonucunda oluşan nefrotoksisiteye daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Dişi sıçanlara eksojen olarak testosteron verilmesinin ilaç ve ksenobiyotik biyotransformasyonunu arttırdığı gözlenmiştir.

Erkek ve dişi deney hayvanlarında cinsiyete spesifik CYP izoformları tespit edilmiştir. Her iki cinsiyette de bulunan CYP enzimlerinin ekspresyonunun da erkeklerde, dişilere nazaran % 20-30 daha fazla olduğu görülmüştür. İnsanlarda ise cinsiyete bağımlı değişiklikler görülmemiştir (31,34).

2.2.3.2.5. Beslenme ve Yaşam Tarzı

Beslenme ve yaşam tarzı, ilaç ve kimyasalların biyotransformasyonunda önemli bir yer almaktadır. Kalsiyum, magnezyum, çinko, bakır ve sitokrom P-450 enziminin kofaktörü olan demirin eksikliğinde oksido-redüksiyon tepkimelerinin hızları azalır. Makro ve mikro elementlerin vücuttaki miktarları normale döndüğünde enzimlerin aktiviteleri de normale döner.

Vitamin eksikliğinde de (özellikle B, C ve E vitamin kompleksleri) ilaç biyotransformasyonu negatif yönde etkilenir.

Diyetle alınan proteinin miktarı da ilaç metabolizmasını etkiler. Düşük proteinle beslenen veya malabsorbsiyonu olan sıçanlarda dimetil nitrozaminin karaciğer hasarı yapmadığı veya az yaptığı tespit edilmiştir. Bunun sebebinde dimetilnitrozaminin azalan N-demetilasyonu sonucunda toksik metabolitlerinin azalmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Doymamış yağ ile beslenen sıçanlarda da karaciğer CYP konsantrasyonunun azaldığı ve bunun da serbest yağ asidi peroksidasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (33,34).

2.2.3.2.6. Patolojik Durumlar

Ksenobiyotik metabolizmasında görevli organlar herhangi bir patolojik durumda fonksiyonlarını yapamazlar. Biyotransformasyonda en önemli organ olan karaciğer hasar gördüğünde sitokrom P450 enzim aktivitesi azalır. Ayrıca viral enfeksiyonlar, hepatokarsinoma, schistosomiasis, doğumsal sarılık, kronik hepatit ve alkolik sirozda karaciğer hasar görür ve biyotransformasyon yeteneği azalır. Hepatik kan akımındaki azalmalar da ksenobiyotiğin klerensini ve biyotransformasyonunu etkiler.

Tıkanma sarılığında dolaşıma çıkan safra asitleri, ilaç metabolizmasında rol oynayan bazı enzimleri inhibe ederek biyotransformasyonu yavaşlatır.

Kardiyak patolojilerde, şok, ödem ve hipertansiyonda da biyotransformasyon yavaşlar. Renal disfonksiyonda da ksenobiyotik klerensi azalır. Ayrıca testiküler harabiyet de sitokrom P450 enzim aktivitesini azaltmaktadır (33,34).

2.2.3.2.7. Hamilelik

Gebelik sürecinde bazı deney hayvanlarında sitokrom P-450 enzim aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir (33).

2.2.3.2.8. Hormonlar

Sadece cinsiyet hormonları değil diğer hormonlar da biyotransformasyonun hızını etkileyebilmektedir. Eksojen olarak tiroksin verilen sıçanlarda NADPH-oksidaz ve NADPH-sitokrom redüktaz aktivitesinin arttığı görülmüştür. Tiroidektomize edilen erkek farelerde de hegzobarbitale cevap artar.

Adrenelektomili erkek sıçanlarda aminopirin ve hegzobarbital metabolizmasının bozulduğu tespit edilmiştir. Hipofiz bezinin çıkartılması durumunda ise mikrozomal enzim aktivitesi azalır (31,34).

2.2.3.2.9. Kimyasal Maddelerle Etkileşim

İlaç ve kimyasal madde biyotransformasyonunda rol alan enzimlerin aktiviteleri doğada bulunan yaklaşık 70.000 kimyasal maddenin çeşitli yollarla maruziyeti ile artabilir veya azalabilir. Sonuçta da toksik etki değişkenlik gösterebilir.

Enzim aktivitesindeki artışın sebebinin enzim sentezindeki artıştan dolayı olduğu için aktivite artışına da enzim indüksiyonu denilebilmektedir. Sitokrom P-450 enzimlerini indükleyen 200'den fazla kimyasal madde bildirilmiştir. En çok indüksiyona yol açan maddeler arasında PAH (polisiklik aromatik hidrokarbonlar), fenobarbital, halojenli insektisitler (DDT, aldrin, heksaklorobenzen, lindon, klordan, polikloro ve polibromo bifeniller), steroidler ve benzerleri (testosteron, spironolakton, pregnenolon-16 karbonitril) ve klorlu dioksinler (TCDD) sayılabilir (31,33,34).

Enzim aktivitesindeki azalmanın sebebinin enzim sentezindeki azalmadan dolayı olduğu için aktivite azalmasına da enzim inhibisyonu denilmektedir. Enzim inhibisyonu, özellikle terapötik indeksi dar olan ilaçlar için klinik önem taşırlar (34).

Eğer bir ilaç, kimyasal madde veya kimyasal maddenin metaboliti toksik etki gösteriyorsa, olası bir indükleyici varlığında toksik etki artarken, inhibitör varlığında ise toksik metabolit azalacağından dolayı toksik etki de azalacaktır. Ancak kimyasal maddenin kendisi toksik ve biyotransformasyonu sonucunda oluşan metaboliti daha az toksik ise, ortamda bulunan bir indükleyici varlığında toksik etki azalırken, inhibitör varlığında ise toksik ana maddenin plazma yarı ömrü uzayacağından toksik etki de artacaktır.

2.2.3.2.10. Genetik ve Polimorfizm

İlaç metabolizmasında rol oynayan sitokrom P-450 enzimlerinden birçoğu genetik kontrol altındadır. Bu enzimlerin etkinliğinin bireyler arasında farklılıklar göstermesine polimorfizm denilmektedir. Genetik polimorfizmlerin en sık gözlenen tipi olan tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), genetik koddaki tek baz değişikliği sonucu oluşmaktadır. 2000 yılında sonuçlanan İnsan Genom Projesi'ne (HGP) göre insan

genomunun % 99,9'unun aynı olduğu anlaşılmıştır. Geri kalan % 0,1'lik farklılığın ise SNP'lerden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Bir genetik çeşitliliğe SNP denilebilmesi için toplumun en az % 1'inde gözlenmesi gerekmektedir. 1999 yılında kurulan SNP konsorsiyumu sonucunda 3 milyon civarında SNP tespit edilmiştir. SNP'lerin çoğu, genlerin fonksiyonlarını etkilemezken (non-coding SNP), bazıları ise amino asit dizilimini değiştirerek veya regülatör sekansın fonksiyonunu değiştirerek protein fonksiyonunu etkiler (coding SNP). Bunun sonucunda da enzim aktivitesi veya sentezi artabilir, azalabilir veya tamamen kaybolabilir ve ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu bu durumdan etkilenir. Biyotransformasyonun yavaşlaması durumunda ilaç metabolizması gecikeceğinden dolayı ilaca bağlı toksik reaksiyonlar gözlenirken, biyotransformasyonun hızlanması durumunda ise ilaç metabolizması hızlanarak ilacın yarı ömrü kısalmış ve yetersiz ilaç tedavisi gözlenir. Bu durum özellikle terapötik indeksi dar olan ilaçlarla yapılan tedavilerde önem taşır. Ksenobiyotik maddelerin metabolizmasının genetik polimorfizmler nedeniyle yavaşlamasından dolayı ana maddenin vücutta birikmesine ve metabolitlerine dönüşmesine yol açacaktır. Bu durumda artan toksik maddeler vücutta başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir. Ancak bir kimyasal maddenin kendisi değil de metabolitleri toksik etkili ise o zaman, polimorfizmlerin koruyucu etkisinden bahsetmek söz konusudur (35,36).

Ksenobiyotik maddelerin metabolizmasının genetik polimorfizmler nedeniyle hızlanması durumunda ise vücutta metabolit birikmesi söz konusu olacaktır. Eğer bu durumda oluşan metabolit toksik etkili ise organizmada çeşitli istenmeyen etkilerin gözlenmesi kaçınılmazdır (37).

2.2.4. CYP Polimorfizmi ve Kanser

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sitokrom P-450 enzimlerinin polimorfizmleri ile bazı kanser türleri arasında ilişki tespit edilmiştir. Özellikle akciğer, kolon, mide, meme, over, safra kesesi kanserleri ve hematolojik maligniteler (lösemi, lenfoma) ile yapılan çalışmalarda CYP polimorfizmlerinin çeşitli kanser türleri için predispozon faktör olabileceği bildirilmiştir.

CYP1A1 genindeki polimorfizm sonucunda ALL, ağız, özafagus ve akciğer kanserlerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. *CYP1A2* genindeki polimorfizm sonucunda kolon kanseri, *CYP1B1* genindeki polimorfizm ile lenfoma ve glokom, *CYP2D6* genindeki polimorfizm ile akut lösemiler (ALL ve AML), *CYP2E1* genindeki polimorfizmler ile ALL, lenfoma ve akciğer kanserlerine yatkınlığın arttığı tespit edilmiştir.

Ancak gerek organizmada bulunma yüzdesi gerekse metabolize ettiği ilaçların yüzdesi bakımından küçük bir paya sahip olan *CYP2B6* geni, son yıllarda bilim adamları tarafından oldukça üzerinde durulan bir gen durumundadır. Metabolize ettiği ilaçların sayısının az olmasına rağmen pek çok karsinojenik, teratojenik ve sitotoksik maddenin biyotransformasyonundan sorumludur (36,38).

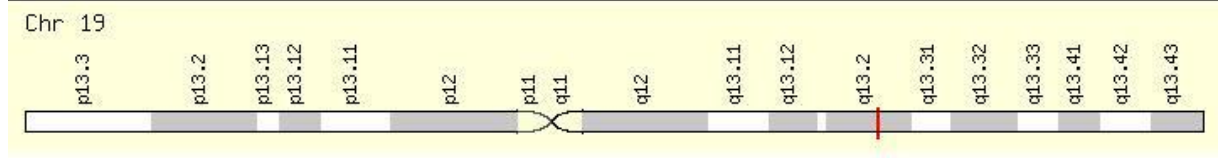
2.2.5. CYP2B6 Geninin Yapısı

Genomik dizilimde *CYP2* gen ailesi (*CYP2A*, *2B*, *2F*, *2G*, *2S* ve *2T*) 19. kromozomun üzerinde kümelenmiş olarak bulunmakta ve *CYP2ABCFGST* bloğunu oluşturmaktadır. Şimdiye kadar *CYP2* ailesine ait 6 fonksiyonel ve 7 psödogen tespit edilmiştir.

Bilinen iki 2B lokusu vardır. Biri fonksiyonel olan *CYP2B6* geni diğeri ise onun paralelinde ve 50 kilobaz ilerisinde bulunan *CYP2B7P* psödogenidir. Bu iki gen, 19q12 ve 19q13.2 kromozomal bölgeleri arasında ve *CYP2A18P* geninin ortasında 112 kilobazlık bir blok halinde bulunur. *CYP2B7P1* fonksiyonel genle nükleotid düzeyinde % 95 benzerlik gösterir. Fakat ekson 7'de oluşan bir Sitozin→Timin mutasyonu sonucunda CGA kodonu TGA'ya dönüşerek erken bir stop kodonuna dönüşür. Bu iki genin etrafındaki diğer *CYP2* ailesinin üyeleri katlanmalar yaparak ve birbirlerinin arasına sıkışarak yer alırlar.

CYP2B6 geni pek çok ilacın, endojen bileşiğin ve kimyasal maddelerin metabolizmasından sorumlu olan *CYP2B6* enzimini sentezlemektedir. *CYP2B6* geni, aynı zamanda sitokrom P450 süperaillesinin 2. ailesinin B subailesinin polipeptid 6'sı olarak da ifade edilir. *CYP2B6* geni ilk defa Yamano ve ark. tarafından 1989 yılında insanlarda tespit edilmiş, kemirgenlerdeki fenobarbütallerle indüklenen *CYP2B*'nin otologu olduğu ve 19q13 bölgesinde yer aldığı bildirilmiştir. *CYP2B6* geninin

bulunduğu kromozom ve genin kromozomal lokalizasyonu Şekil 2.5.'da gösterilmiştir (39,40).



Şekil 2.5. CYP2B6 geninin 19. kromozom üzerindeki lokalizasyonu

CYP2B6 geni 491 amino asit rezidüsü içermekte olup bu genin ürünü olan CYP2B6 proteini 56 kDa ağırlığındadır. *CYP2B6* geni 14 kilobaz (kb) uzunluğunda olup, 9 ekson içeren doğal tip mRNA'ya transkripte olur (Çizelge 2.11). Ayrıca bu gen 8 intron içermektedir. En belirgin özelliklerinden biri 3' UTR bölgesinin oldukça uzun olmasıdır (yaklaşık 1,6 kb). Ayrıca 12,7 kb'lık oldukça uzun non-klasik bir intron 1'i olup bu yapı *CYP2B7P1*'de de mevcuttur (40,41).

Çizelge 2.11. *CYP2B6* geninin eksonlarının boyutları ve pozisyonları

Ekson	Boyut (bazçifti)	Pozisyon
1	178	2002-2179
2	163	14704-14866
3	150	15000-15149
4	161	17608-17768
5	177	19922-20098
6	142	20697-20838
7	188	23001-23188
8	142	23377-23518
9	1751	27349-29099

Diğer *CYP2* ailesinin genleri de *CYP2B6* gibi 9 eksone sahiptir. *CYP2B* subailesine ait genlerden *CYP2B6* ve *CYP2B7P* genleri sadece insanda bulunurken, bu subaileye ait diğer genler ise *CYP2b1* (sıçan), *CYP2b2* (sıçan), *CYP2b3* (sıçan), *CYP2b4* (tavşan), *CYP2b5* (tavşan), *CYP2b9* (fare) ve *CYP2b10* (fare)'dur (42).

İnsan *CYP2B6* ile sıçan *CYP2b1* arasında yapılan çalışmalarda Fenilalanin-107 ve Lösin-363 rezidülerinin aktivitesi için önem taşıdığı anlaşılmıştır. Ayrıca bu çalışmalar sonucunda N-terminal uçtaki farklılığın ekspresyonda farklılaşmaya yol açtığı ve *CYP2B6*'nın ekspresyonunun *CYP2b1*'den fazla olduğu anlaşılmıştır. Tüm CYP enzimleri içinde en az çalışılanı *CYP2B6*'dır. Bunun sebebi ise spesifik antikor, prob ilaç ve inhibitör yetersizliğidir (42,43).

2.2.5.1. CYP2B6 Enziminin Substratları

CYP2B6 enziminin metabolize ettiği ilaçların başında siklofosamid, artemisin, ketamin, propofol, nevirapin, efavirenz ve S-mefentoin gelmektedir. Ancak her geçen gün CYP2B6 tarafından metabolize edilen yeni ilaç ve kimyasallar tespit edilmektedir. Yakın gelecekte tanımlanacak yeni substratlarla CYP2B6 enzimi şimdikilerden çok daha fonksiyonel bir nitelik kazanacaktır (44).

Bir anti-depresan olan ve aynı zamanda sigara tedavisinde kullanılan bir ilaç olan bupropion da CYP2B6'nın substratıdır. Ayrıca prob ilaç olarak da kullanılır. CYP2B6 enzimi testosteron ve androstenedion gibi hormonların hidroksilasyonunu, oksazafosforinlerin (siklofosamid ve ifosamid) 4-hidroksilasyonunu ve 7-etoksi-4-triflorometilkumarinin (7 EFC) O-deetilasyonunu sağlar. Delta(3)-kareni epoksidasyona uğratarak delta (3)-karen epoksite çeririrken bupropionu karaciğerde hidroksilasyona uğratarak hidroksibupropiona çevirir. Hidroksibupropion ilk kez barsaktaki seröz membranda bulunmuştur. Bu da ilacın barsaktan geçerken parçalandığını göstermektedir. Ayrıca hidroksibupropion mukozal membranda da bulunmuş ve buna bağlı olarak da epitel hücrenin apikal membranından geçebileceği anlaşılmıştır (45,46).

Eroin bağımlılığının tedavisinde kullanılan methadonun enantiomerlerinden biri olan (S)-methadonun metabolizmasını üstlenirken diğer enantiomerleri olan (R)-methadon ve (R,S)-methadonun metabolizmasında rol üstlenmez (45,47,48).

CYP2B6 enziminin metabolizması sonucunda bazı maddeler aktif formlarına dönüşürken bazı maddeler ise inaktif hale gelir. Buna örnek olarak CYP2B6 enzimi bupropionu ve sigara dumanında bulunan nitrozamini metabolize ederek aktif hale getirirken nikotini ise inaktive eder. CYP2B6 enzimi nikotini 5'-oksidasyona uğratarak metabolize ederken, 4-(metilnitrozamin)-1-(3-piridil)-1-butanon'un (NNK) α -

hidroksilasyonunu üstlenerek metabolize eder. Nikotini ayrıca N-demetilasyon ile normikotine çevirir (49-52).

CYP2B6 ayrıca önemli bir opioid olan ketobemidonu norketobemidona dönüştürür. Ayrıca bir anti-epileptik olan mefenitoini N-demetilasyon ile nirvanol ve 4-hidroksimefenitoine çevirir (49).

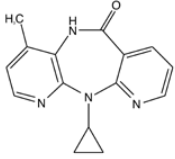
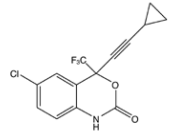
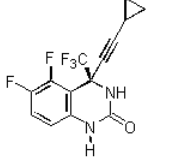
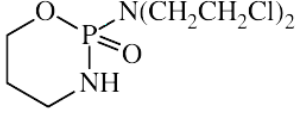
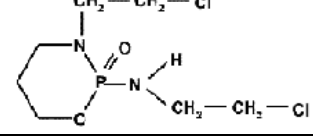
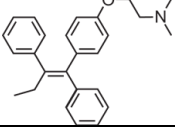
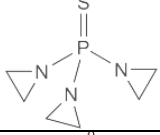
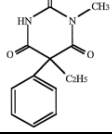
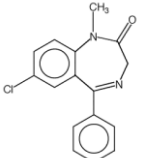
Sedatif hipnotik ve antikonvulsif bir ilaç olan S-mefenitoinin N-demetilasyonunu üstlenerek nirvanol ve 7-hidroksi-4-triflorometilkumarine çevirir. Tıpta analjezik olarak kullanılan ketaminini ise N-demetilasyon ile metabolize eder. Psikiyatride psikostimulan olarak kullanılan benzfetaminin ise N-demetilasyonunu gerçekleştirir (53-56).

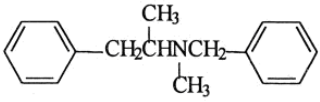
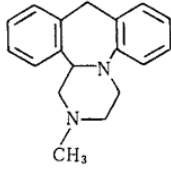
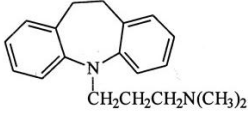
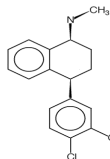
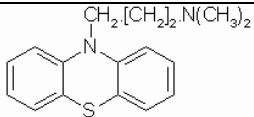
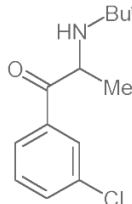
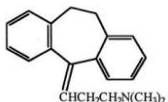
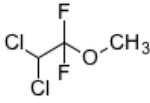
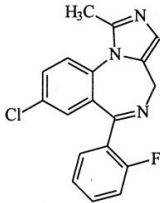
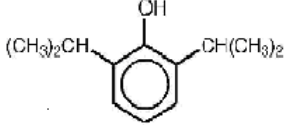
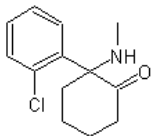
Ayrıca tıpta kullanım alanı olmayan ancak deneysel çalışmalarda kullanılan pentoksiresorufin, 4-klorometil-7-etoksikumarin, 3-siyano-7-etoksikumarin, 7-etoksikumarin ve benziloksiresorufinin O-deetilasyonunu gerçekleştirirken 7-etoksi-4-triflorometilkumarinin O-dealkilasyonunu gerçekleştirir (48,49).

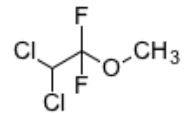
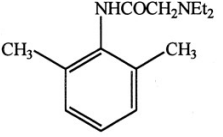
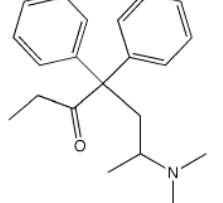
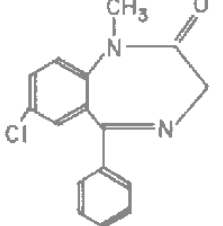
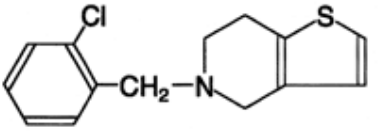
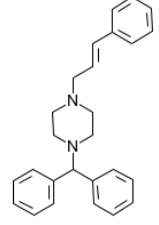
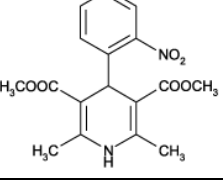
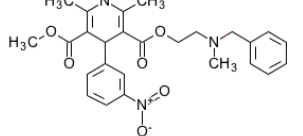
Analjezik olarak kullanılan midazolam ve anti-hipertansif bir ilaç olan bufololun 1-hidroksilasyonunu yapar. Antidepresan bir ilaç olan promazini ise 5-sulfoksidasyona ve N-demetilasyona uğratarak metabolize eder (57-61).

HIV tedavisinde kullanılan efavirenzi ise 8-hidroksilasyon ile 8-hidroksi efavirenze, onu da oksidasyon ile 8,14-dihidroksi efavirenze dönüştürür. CYP2B6 enziminin metabolizasyonunu üstlendiği bazı ilaçların kullanım alanları ve kimyasal yapıları Çizelge 2.12.'de gösterilmiştir (60-68).

Çizelge 2.12. CYP2B6 enziminin metabolizasyonunu üstlendiği ilaçlar, kullanım alanları ve kimyasal yapıları

	İlaçlar	Kullanım Alanları	Kimyasal Yapısı
1	Nevirapin	HIV mediatörü	
2	Efavirenz	HIV mediatörü	
3	DCP 963	HIV mediatörü	
4	Siklofosfamid	Antineoplastik	
5	İfosfamid	Antineoplastik	
6	Z 4-hidroksi tamoksifen	Antineoplastik	
7	Thio TEPA	Antineoplastik	
8	S-mefobarbütal	Sedatif hipnotik, antikonvulsif	
9	Diazepam	Sedatif	

10	Benzfetamin	Psikostimulan	
11	R-mianserin	Antidepressan	
12	İmipramin	Antidepressan	
13	Sertralin	Antidepressan	
14	Promazin	Antidepressan	
15	Buprapion	Antidepressan	
16	Amitriptilin	Antidepressan	
17	Metoksiflurans	Anestezik	
18	Midazolam	Anestezik	
19	Propofol	Anestezik	 C ₁₂ H ₁₆ O
20	Ketamin	Anestezik	

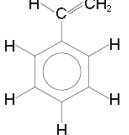
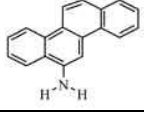
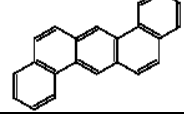
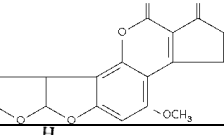
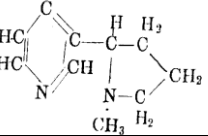
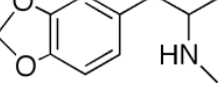
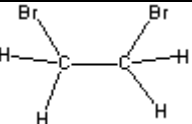
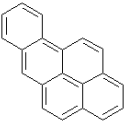
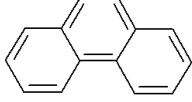
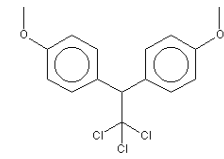
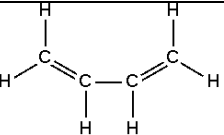
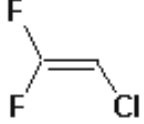
21	Metoksifloran	Anestezik	
22	Lidokain	Analjezik	
23	Methadon	Analjezik	
24	Klopidogrel	Antiiskemik	
25	Tiklopidin	Antiiskemik	
26	Sinerazin	Antiiskemik	
27	Nifedipin	Kalsiyum kanal blokeri	
28	Nikardipin	Kalsiyum kanal blokeri	

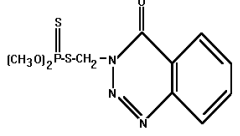
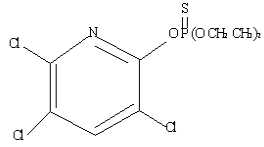
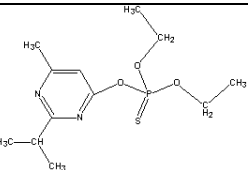
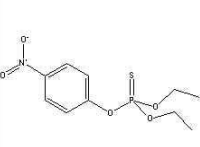
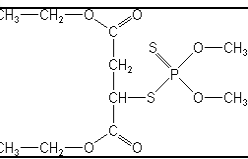
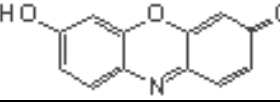
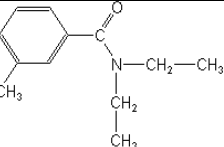
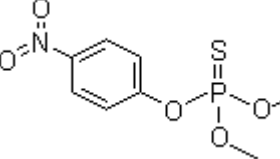
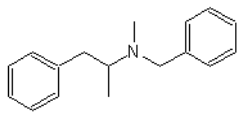
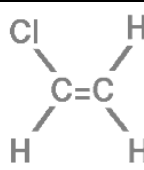
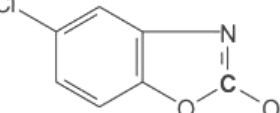
29	İsradipin	Kalsiyum kanal blokeri	
30	BK 8644	Kalsiyum kanal blokeri	
31	Verapamil	Kalsiyum kanal blokeri	
32	Bufuralol	Antihipertansif	
33	Dekstrometorfan	Antitussif	
34	Antipirin	Antipiretik	
35	Artemisinin	Antimalaryal	
36	β -Arteter	Antimalaryal	
37	Selegilin	Antiparkinsoniyer	
38	S-mefenitoin	Antiepileptik	

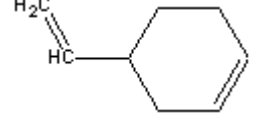
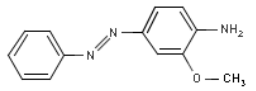
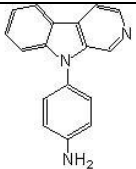
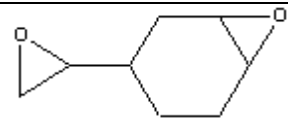
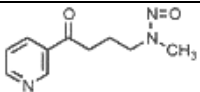
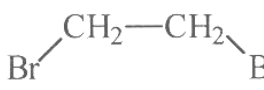
39	RP 73401	PDE-IV inhibitörü	
40	Pentoksiresorufin	Deneysel ilaç	
41	4-klorometil 7-etoksikumarin	Deneysel ilaç	
42	3-siyano 7-etoksikumarin	Deneysel ilaç	
43	7-etoksikumarin	Deneysel ilaç	
44	7-etoksi 4-triflorometilkumarin	Deneysel ilaç	
45	Benziloksiresorufin	Deneysel ilaç	

CYP2B6 enzimi pek çok ilacın metabolizmasını üstlendiği gibi vücutta biriktiği takdirde başta kanser olmak üzere pek çok hastalığa yol açan bazı ksenobiyotiklerin de metabolizmasından sorumludurlar. Özellikle son birkaç yılda CYP2B6 enziminin substratı olan pek çok ksenobiyotik keşfedilmiştir. Bu veri bile CYP2B6 enziminin katalitik aktivitesindeki değişikliklerin bazı kanser türlerine yatkınlığı arttırabileceğini düşündürmektedir. Çizelge 2.13’de bu enzim tarafından metabolize edilen bazı ksenobiyotikler, vücuttaki etkileri ve kimyasal yapıları gösterilmiştir (58-61).

Çizelge 2.13. CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen bazı ksenobiyotikler

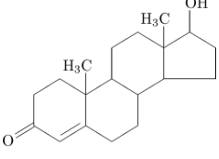
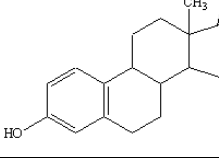
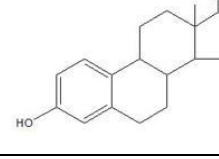
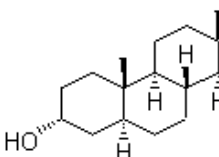
	Ksenobiyotik	Toksik Etkisi	Kimyasal Yapısı	Metabolizması
1	Stiren	Karsinojen		Oksidasyon sonucunda stiren 7,8-dioksit oluşur
2	6-aminokrisen	Az karsinojen		Halka oksidasyonu ve nitro redüksiyon
3	Dibenzo[a,h]ant rasen	Az karsinojen		Oksidasyon
4	Aflatoksin B1	Çok karsinojen		Epoksit Hidroksilasyonu
5	Nikotin	Muhtemelen karsinojen		C-oksidasyonu
6	Metilendioksim et-amfetamin (Ecstasy)	Muhtemel karsinojen		N-hidroksilasyon
7	2-dibromoetan	Karsinojen		Oksidasyon
8	Benzo[a]piren	Karsinojen		Epoksit Hidroksilasyonu
9	Fenantren	Karsinojen değil		Oksidasyon
10	Metoksiklor	Karsinojen değil		Demetilasyon
11	1,3-bütadien	Karsinojen		Oksidasyon
12	2-kloro 1,1-difloroetan	Tümorojen		B-Oksidasyon

13	Azinfos-metil (AZIN)	Tümörejen		
14	Klorprifos (CPF)	Karsinojen değil		
15	Diazinon (DIA)	Karsinojen değil		
16	Paration (PAR)	Muhtemelen karsinojen		Bu grup organik fosfat içeren insektisitler olup desülfürasyon sonucunda osazon oluştururlar
17	Malatıyon	Karsinojen değil		
18	7-benzil oksirezorufin	Karsinojen		
19	Dietiltoluamid (DEET)	Karsinojen değil		
20	Metilmalatıyon	Karsinojen değil		
21	Benzfetamin	Az karsinojen		N-demetilasyon
22	Vinil klorid	Karsinojen		Epoksidasyon sonucunda 2-kloroetilen oksite dönüşür
23	Klorzoksazon	Karsinojen		6-hidroksilasyon

24	4- vinilsiklohehzan	Karsinojen		Epoksidasyon
25	3-metoksi 4- amino azobenzen	Karsinojen		N-hidroksilasyon
27	9-(4- aminophenyl)-9- hidroksi-prido- (3,4-b) indol(Aminofeni lorharman) (APNH)	Mutajenik ve karsinojenik		Anilin ve norharmandan aminofenil norharman sentezler
28	4-vinil-1- siklohehzan	Karsinojen		Epoksidasyon ile vinilsiklohehzan (VCH) 1,2 epoksite, VCH 7,8 epoksite ve VCH diepoksite çevirir
29	4- (metilnitroamin o)-1-(3-piridil)- 1-(butanon) (NNK)	Karsinojen		N-oksidasyon
30	1,2-dibromoetan	Karsinojen ve genotoksik		Oksidasyon ile 2- bromoasetaldehite dönüşür

CYP2B6 enzimi pek çok ilacın ve ksenobiyotiğin metabolizmasını üstlendiği gibi bazı endojen maddelerin de metabolizmasını gerçekleştirir (Çizelge 2.14) (53).

Çizelge 2.14. CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen bazı endojen maddeler

	Endojen Substratlar	Kimyasal Yapısı	Reaksiyon
1	Testosteron		17- β Hidroksilasyon
2	Östron		
3	17- β Östradiol		
4	Androstan		

2.2.5.2. CYP2B6 Enziminin İndükleyicileri

CYP2B6 geninin bilinen ilk indükleyicisi antiepileptik bir ilaç olan fenobarbitaldir. Bu indüksiyon ilk önce kemirgenlerde tespit edilmiş daha sonraları insanlarda da bu durumun geçerli olduğu görülmüştür. *CYP* geninin dolayısıyla da enziminin indükleyicisi olan diğer ilaç ve bileşiklerden bazıları şunlardır (46,53,54,65,66,70):

1. Rifampin (Tüberküloz tedavisinde kullanılan major tüberkülozid bir ilaç)
2. Hiperforin (Sarı kantaron bitkisinden izole edilen antidepresan bir bileşik)
3. Ritonavir (AIDS tedavisinde kullanılan anti-retroviral bir ilaç)
4. Nevirapin (AIDS tedavisinde kullanılan anti-retroviral bir ilaç)
5. Efavirenz (AIDS tedavisinde kullanılan anti-retroviral bir ilaç)
6. Fenitoin (Antiepileptik)
7. Karbamazepin (Antiepileptik)
8. Klotrimazol (İmidazol türevli bir antifungal)

9. Artemisin (Antimalaryal)
10. İzofluran (İnhalant olarak kullanılan anesteziik bir madde)
11. HMG-CoA Redüktaz İnhibitörleri

Anti-retroviral bir ilaç olan efavirenz aynı zamanda *CYP2B6* geninin spesifik invitro probudur (46,53,70).

CYP2B6'nın gen düzeyinde indüksiyon mekanizması oldukça karmaşık olması nedeniyle tam olarak aydınlatılamamıştır. İndüksiyon, *CYP2B6*'nın transkripsiyonel faktörleri olan taşıyıcı X reseptörü (*PXR*), yapısal androstan reseptörü (*CAR*) ve vitamin D reseptörü (*VDR*) tarafından gerçekleşir. Fenobarbitalle indüklenen *CYP2B6*, *CAR* ile etkisini gösterir. Fenobarbital varlığında *CAR* ile genin fenobarbitale duyarlı bölgesi etkileşir. Kemirgenlerde *CYP2B6* geninin fenobarbitalle indüksiyonu, indüklenmiş *CAR*'ın aktivasyonu ve/veya translokasyonu ile gerçekleşir. Ancak bunun insanlarda gerçekleşmesine dair veriler sınırlıdır. İnsanlarda *CAR* aktivasyonu ve seviyesini gösteren anlamlı ve tutarlı bir bağlantı yoktur (71).

CYP2B6'nın ilaçlar tarafından indüklenmesi -1,7 kb bölgesinde yer alan ve 2001 yılında Goodwin ve ark. tarafından keşfedilen fenobarbitale yanıtı düzenleme modülü (*PBREM*) ve -8,5 kb bölgesinde yer alan ve 2003 yılında Wang ve ark. tarafından keşfedilen ksenobiyotiğe yanıtı düzenleme modülü (*XREM*) ile gerçekleşir. İnsan taşıyıcı X reseptörü (*hPXR*) rifampine yanıt için *PBREM*'e bağlanır. *hPXR*, aynı zamanda *CYP3A4*'ün ekspresyonunu birincil olarak düzenler. *CAR* ve *PXR*, *CYP2B6* ve *CYP3A4* genlerinin promotör bölgelerine bağlanarak yanıt oluşmasına yol açar. Kemirgenlerin aksine insanlarda *PXR* aktivatörleri ve *CYP3A* indükleyicileri karaciğerde *CYP2B6* ekspresyonunu düzenler. *PXR* ve *CAR*'ın diğer sitokrom P-450'lerle etkileşmesi farklılıklar arz eder. Tekli yada çoklu çekirdek reseptörleri genel ve farklı yanıt elemanlarının yardımıyla farklı sitokrom P-450 genleriyle etkileşir ve yanıt oluştururlar (72-75).

Yapılan invitro çalışmalarda *CYP2B6*'nın indükleyicileri; karbamazepin, klotrimazol, fenobarbital, fenitoin, rifampisin ve ritanovirdir. Yapılan eksvivo çalışmalarda *CYP2B6*'nın indükleyicileri; karbamazepin, fenitoin ve fenobarbitaldir. İnvivo çalışmalar ise oldukça sınırlıdır. İnvitro deneylerde buprapion metabolizmasının karbamazepinle, ifosfamid metabolizmasının ise fenitoin ile indüklendiği tespit edilmiştir (76,77).

İndüklenme mekanizmasına karşın *CYP2B6* geninin ekspresyonunun yapısal düzenlenmesi hakkında çok az şey bilinmektedir. Şu ana kadar hiçbir sistematik promotör analiz yapılmamıştır ve transkripsiyonu başlatma bölgesi tanımlanmamıştır.

CYP2B6, maymun beyinde de bulunmuş olup nikotin ve bupropion ile indüklenir. Ayrıca yapılan bir başka çalışmada da çevresel stiren kirlenmesinin artması durumunda enzim aktivitesinin de arttığı saptanmıştır. *CYP2B6* geninin polimorfik olduğu durumlar da ise stiren metabolizması azalır (75,78,79).

2.2.5.3. CYP2B6 Enziminin İnhibitörleri

CYP2B6 geninin kimyasal indükleyicileri olduğu gibi inhibitörleri de vardır. Bilinen en spesifik invitro inhibitörü bir antineoplastik olan N,N'-trietilenetiofosforamid (ThioTEPA)'dir. Özellikle siklofosfamidin 4-hidroksilasyonu ThioTEPA tarafından inhibe edilir. *CYP2B6* enziminin 4-hidroksilasyonu orfenadrin tarafından inhibe edilir (80,81). Özellikle de siklofosfamidin ve ifosfamidin metabolizmasında bu inhibisyon geçerlidir. *CYP2B6*'yı inhibe eden diğer ilaçlar ise şunlardır:

1. Paraksetin (Antidepresan)
2. Sertralin (Antidepresan)
3. Nelfinavir (Antidepresan)
4. Ritonavir (Antidepresan)
5. Tiklopidin (Antiagregan)
6. Klopidoğrel (Antiagregan)
7. ThioTEPA (Antineoplastik)
8. Orfenadin (Antiparkinson)
9. Metimazol (Antitiroidal)
10. Desmetilazelastin (Topikal antihistaminik olan azelastinin metaboliti)
11. Mikozanol (Antifungal)
12. Sulkazanol (Antifungal)
13. Tranisipromin (MAO inhibitörü)
14. Metanol
15. Etanol

16. Asetonitril
17. Desetilaminodaron (Aminodaronun N-dealkilasyona uğramış hali)
18. Metirapon (Adrenal yetersizliği belirlemede kullanılan bir madde)
19. α -naftoflavon (Deneyisel ilaç)

Metanol CYP2B6 enzim aktivitesini % 20, etanol % 25 ve asetonitril % 13 oranında azaltır. Dimetil sülfoksit ise enzim aktivitesini değiştirmez (82-84).

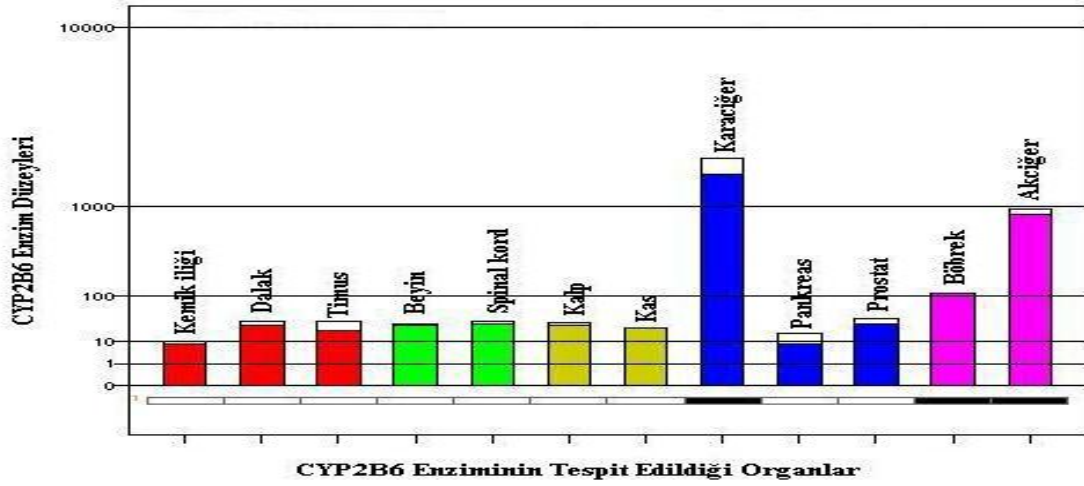
2.2.5.4. CYP2B6 Enziminin Ekspresyonu

CYP2B6 enzim aktivitesi ırktan ırka hatta kişiden kişiye 20 ile 250 kat kadar farklılık gösterebilmektedir. Bunun sebebinin ise regülatör bölgedeki değişikliklerden ve genetik polimorfizmlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Mesela S-mefenitoinin metabolizması 25 kat değişkenlik gösterirken, bupropionun metabolizması 80 kat değişkenlik gösterir; bu nedenle selektif prob olarak bupropion kullanılır (83,84).

Yapılan ilk çalışmalarda CYP2B6'nın pek çok türdeki karaciğer ekspresyonunun ya hiç olmadığı ya da çok az olabileceği söylenmiştir. Ancak immunolojik tekniklerinin gelişmesiyle ve CYP2B6'ya özel ve ileri hassasiyetli antikorların geliştirilmesiyle birlikte CYP2B6'nın karaciğerde eksprese edilen toplam sitokrom P-450 enzimlerinin % 3-5'lik kısmını oluşturduğu görülmüştür.

Yapılan invitro deneylerde CYP2B6'nın mRNA, protein ve katalitik aktivite düzeylerine bağlı olarak karaciğerdeki ekspresyonunun bireyler arasında 100 kata varan değişkenlikler gösterebileceği tespit edilmiştir. Yapılan populasyon çalışmalarında ekspresyondaki bu değişikliğe bağlı olarak siklofosamid, bupropion ve efavirenz gibi CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen ilaçlara karşı yanıtızlık ya da bunun tam tersine toksik etkiler görülebilmektedir.

CYP2B6 enzimi karaciğer dışında böbrek, barsak, akciğer, beyin, deri ve lökositte bulunur (Şekil 2.6). Özellikle akciğerler solunumla alınan toksik maddeler için hedef organlardır. Akciğerler PAH ve NNK gibi bazı pre-karsinojenleri metabolize ederek aktif karsinojen metabolitlere dönüştürebilir (83,84).



Şekil 2.6. *CYP2B6* geninin ekspresyonunun organlara göre dağılımı

2.2.5.5. *CYP2B6* Gen Polimorfizmleri

CYP2B6 genine ait 13 SNP tespit edilmiş olup bunlardan beşi amino asit değişimine neden olur. Kazak ırkında bu polimorfizmler oldukça yaygın olup Japonlarda görülme sıklığı çok daha düşüktür. Sadece eksonlarda değil 5'-kırılma dizisinde ve intronlarda da polimorfizmler belirtilmiştir. Mesela 13072 A>G (K139E) polimorfizmi (*CYP2B6**8) fonksiyon değişikliği yapmayan yeni splicer varyantlar oluşturur. Çizelge 2.15.'de *CYP2B6* genine ait en sık rastlanan polimorfizmler gösterilmiştir (85-92).

Çizelge 2.15. *CYP2B6* gen polimorfizmleri

cDNA	Genomik DNA	Amino asit Değişimi	Bölgesi	Bulunma Yüzdesi
C64T	C64T	Arg22Cys	Ekson 1	% 5,3
G516T	G15631T	Gln172His	Ekson 4	% 28,6
C777A	C18045A	Ser259Arg	Ekson 5	% 0,5
A785G	A18053G	Lys262Arg	Ekson 5	% 32,6
C1459T	C25505T	Arg487Cys	Ekson 9	% 14
C78T	-	-	Ekson 1	% 2,9
G216C	-	-	Ekson 2	% 7,1
A12917T	-	-	Ekson 3	% 7,8
A1190G	-	-	Ekson 8	-
C1268A	-	-	Ekson 8	-
C1330T	-	-	Ekson 9	-
A1382G	-	-	Ekson 9	-
A1402T	-	-	Ekson 9	-

Bu polimorfizmlerin bir ya da bir kaçının birlikte bulunması da farklı haplotiplere yol açmaktadır. En sık rastlanan 9 farklı haplotip tanımlanmıştır (Çizelge 2.16). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda toplam 28 farklı haplotipin varlığı ortaya konulmuştur (84,88).

Çizelge 2.16. *CYP2B6* haplotipleri

Haplotip	cDNA	Genomik DNA
CYP2B6*1 (Wild Tip)	-	-
<i>CYP2B6</i> *2	C64T	C64T
<i>CYP2B6</i> *3	C777A	C18045A
<i>CYP2B6</i> *4	A785G	A18053G
<i>CYP2B6</i> *5	C1459T	C25505T
<i>CYP2B6</i> *6	G516T, A785G	G15631T, A18053G
<i>CYP2B6</i> *7	G516T, A785G, C1459T	G15631T, A18053G, C25505T
<i>CYP2B6</i> *8	A415G	13072A>G
<i>CYP2B6</i> *9	G516T	G15631T

Çoğu kez *CYP2B6* geninin analizi *CYP2B7P* ile kross-reaksiyon vermektedir. En sık rastlanan nonsense *CYP2B6* polimorfizmi 15631 G>T (Q172H) ve 18053 A>G (K262R)'dir. Bunların her ikisi birden *CYP2B6**6 haplotipine yol açar. Bu polimorfizmlerin görülme oranı Ganalı'larda % 50, Afrika kökenli Amerikalı'larda % 30'dur (87,89,91-96).

2.2.5.6. *CYP2B6* Geninin Farmakogenetiği

Bilindiği gibi *CYP2B6* geninin ekspresyonu sonucunda *CYP2B6* enzimi sentezlenmekte bu enzimde pek çok ilacın, ksenobiyotiğin ve endojen maddelerin metabolizmasını üstlenmektedir. Ancak bu genin polimorfik olduğu durumlarda enzim sentezi ya hiç değişmez, ya artar ya da azalır. Bunu belirleyen ise polimorfizmler sonucunda meydana gelen amino asit değişimidir. Ayrıca herhangi bir polimorfizm sonucunda belli bir maddenin metabolizması artarken veya azalırken başka bir ilacın metabolizması değişmeyebilir yani aynı zamanda substrata da bağlı bir mekanizmadır (97).

516 G>T (Q172H) polimorfizmi 7-etoksikumarinin O-deetilaz aktivitesinin hızlandırır. *CYP2B6*4*, *CYP2B6*5*, *CYP2B6*6* ve *CYP2B6*7* polimorfizmleri 7-etoksi 4-triflorometil kumarinin metabolizmasını hızlandırır. *CYP2B6*6* allelini taşıyanlarda siklofosfamidin 4-hidroksilasyonu artar. Bu da tedavi için önem taşır. Çünkü genetik polimorfizmlerin ilaç metabolizmasını etkilediği ve karşıt ilaç reaksiyonuna yol açtıkları tespit edilmiştir (97,98).

Q172H ve K262R'nin polimorfizmleri (*CYP2B6*6*), siklofosfamidin metabolizmasını artırır. K262R polimorfizmi genelde 7-etoksi 4-triflorometil kumarinin metabolizmasını artırır. K262R (*CYP2B6*4*) polimorfizmi varlığında buprapionun metabolizması artar. Bu alleli taşıyanlar sigara içimine erken yaşta başlarlar, sigarayı kolay kolay bırakamazlar, bıraksalar bile tekrar başlama riski yüksektir. Diğer polimorfizmler ise buprapion metabolizmasını etkilemez (97).

1459 C>T (A487C) polimorfizmini taşıyan allellerde (*CYP2B6*5* ve *CYP2B6*7*), *CYP2B6* protein miktarı ve enzim aktivitesi ve dolayısıyla S-mefentoinin N-demetilaz aktivitesi azalır. Bu polimorfizmi homozigot olarak taşıyanlarda protein sentezi 8 kat azalır. Ayrıca enzim aktivitesindeki azalma bayanlarda daha belirgindir. 1459 C>T polimorfizminin görüldüğü bölge, ekson 9'da bulunan substrat tanıma bölgesine oldukça yakındır. Ekson 9'da yer alan diğer polimorfizmler de bu bölgede yer almaktadır (99).

*CYP2B6*5* ve *CYP2B6*6* allelleri *CYP2B6* geninin ekspresyonunu azaltır ve fonksiyonunu değiştirir. Bu durumdan özellikle efavirenz etkilenir ve metabolizması yavaşladığı için efavirenzin yarı ömrü ve dolayısıyla plazma efavirenz konsantrasyonu artar. Bunun sonucunda ilaca karşı direnç gelişir ve MSS yan etkileri gözlenir. İlacın azaltılmasıyla beraber yan etkiler kaybolur. Efavirenz için geçerli olan bu durum nelfinavir için de geçerlidir (99,100).

Son birkaç yıl içinde tespit edilen M64V, G99E ve I391N polimorfizmleri enzim sentezini tespit edilemeyecek kadar düşürür.

CYP2B6 geninin ekson ve intron bölgeleri kadar promotör bölgeleri de oldukça polimorfiktir. Ancak bu bölgedeki hiçbir polimorfizmin tek başına *CYP2B6* geninin transkripsiyonuna etki etmediği görülmüştür. Ayrıca gen üzerinde bulunan *PBREM* ve *XREM* gibi korunmuş bölgelere ait hiçbir polimorfizm hatta hiçbir non-sense mutasyon dahi saptanamamıştır (99,100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Çalışmamızın hasta grubunu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğine başvurmuş, gerek laboratuvar tetkikleri gerekse yapılan kemik iliği biyopsisi sonucunda kesin olarak akut lösemi tanısı konmuş 80 hasta birey oluşturmaktadır. Bu hastalardan 49 tanesi erkek, 31 tanesi ise kadındır. Akut lösemi tanısı konmuş hastaların 44 tanesi ALL, 36 tanesi ise AML tipindedir. ALL'li hastaların 28 tanesi erkek, 16 tanesi ise kadındır. AML'li hastaların ise 21 tanesi erkek, 15 tanesi kadındır. Hasta grubunun genel yaş ortalaması $29,6\pm 16,26$ olarak bulundu. AML'li hastaların yaş ortalaması $34,4\pm 18,13$, ALL'li hastaların yaş ortalaması ise $25,7\pm 13,45$ olarak saptandı.

Kontrol grubu ise Mersin Devlet Hastanesi, Toros Devlet Hastanesi ve Mersin İl Sağlık Müdürlüğüne bağlı laboratuvarlara başvuran ve herhangi bir kalıtsal, edinsel veya kronik rahatsızlığı bulunmayan 100 adet sağlıklı bireyden meydana gelmektedir. Bu kişilerden 61 tanesi erkek, 39 tanesi kadındır. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise $45,67\pm 17,42$ olarak bulundu.

Gerek akut lösemili hastalardan gerekse kontrol grubunu oluşturan bireylerden 5'er mL periferik kan EDTA'lı tüplere alındı ve çalışma gününe kadar $+ 4^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Tüm çalışmalar Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Ayrıca akut lösemili hastaların laboratuvar ve klinik verilerinin tespiti amacıyla hasta takip formu oluşturdu ve hastaların poliklinik ve servis dosyalarına istinaden bu formlar dolduruldu.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- Thermal Cyclers (Techne, Cambridge, UK)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Wealtec, ELITE 300)
- Elektroforez Tankı (Biolab, Mazfill, HU13)

- Jel Görüntüleme Sistemi (Bio-Imaging Systems)
- Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma,2-16K)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik)
- Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
- Etüv (Binder)
- Hassas Terazı (Mettler Toledo)
- Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
- Vorteks (REAX)
- Su Banyosu (GFL-Wasserbad Water Bath)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)
- pH Metre (Mettler Toledo)

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Tris-Hidroklorid (Amresco-0234)
- Magnezyum Klorür (Merck-1.05833)
- Triton X100 (Merck-1.08603.1000)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Merck-1.08421)
- Tris-baz (Amresco-826)
- Borik asit (Riedel de Haen-11606)
- Sodyum Hidroksit (Merck-1.06462)
- Hidroklorik Asit (Merck-1.00314)
- Sodyum Klorür (Merck-1.06404)
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Lauryl Sulfate) (Sigma-L5750)
- Ethidium Bromide (Amresco-X 328)
- Orange G (Sigma O-3756)
- Etanol (Merck 1.00986)
- İzopropanol (2-propanol)(Sigma-I9516)
- Sükroz (Merck-1.07651)
- Agaroz-Basica Le (Prona-081501PR)

- Taq DNA polimeraz (Fermentas-EP0402)
 - 10XPCR Buffer (NH4) (Fermentas-EP0402)
 - 25 mM MgCl₂ (Merck-1.05833)
 - 2mM dNTP Mix (Fermentas-R0192)
 - Proteinaz K (Sigma- P2308)
 - 100 bp marker (100bp DNA Ladder, MBI Fermentas Vilnius, Lithuania)
 - DNase, RNase Free Su (Sigma-W3500)
 - Primerler
- CYP2B6 15631 G>T Bölgesi için Forward Primer Dizisi:
5'-CTGTGTCCTT GACCTGCTGC-3'
 - CYP2B6 15631 G>T Bölgesi için Reverse Primer Dizisi:
5'-TCCAGGAGCA GAATAGACAT GAAG-3'
- Bsr I restriksiyon enzim seti (Fermantas-ER0881)

3.2.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler

3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar

Lysis Buffer

(0,32 M Sukroz, 10mM Tris/HCl pH 7,5; 5mM MgCl₂, % 1 Triton X100)

Sukroz.....10,9 g
 Tris-HCl.....0,157 g
 MgCl₂.....0,1 g
 Triton x100.....1 mL

- Kimyasal maddeler 50 mL distile suda çözüldü.
- pH'sı 7,5'e ayarlandı.

- Distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- Oda ısısında muhafaza edildi.

Fizyolojik Tampon

(0,075M NaCl, 0,025M EDTA)

- NaCl.....0,438 g
- EDTA..... 0,93 g

Tartılan kimyasallar 50 mL distile su içerisinde çözüldü.
Distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
+4°C'de muhafaza edildi.

Tampon A

(10mM Tris/HCl pH 8; 2mM EDTA)

- Tris-HCl.....0,157 g
- EDTA.....0,074 g

Tartılan kimyasallar 50 mL distile su içerisinde çözüldü.
Distile su ile 100 mL'ye tamamlandı ve oda ısısında saklandı.

% 10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)

- SDS.....1 g

Tartılan kimyasal distile su ile 10 mL'ye tamamlandı.
Oda ısısında saklandı.

Proteinaz-K (100 mg/mL)

- Liyofilize 100 mg Proteinaz-K (Sigma)
- 1 mL steril distile su ile çözülerek 100 mg/mL'lik konsantrasyona getirildi.
- 50 µL'lik porsiyonlara ayrıldı.
- -20°C'de saklandı.

Doymuş Sodyum Klorür

- NaCl.....3,5 g
- Tartılan NaCl distile su ile 10 mL'de çözüldü ve oda ısısında muhafaza edildi.

İzopropanol

- Mevcut stok izopropanoldan 50 mL alındı ve -20°C'de muhafaza edildi.

Etil Alkol (100 mL için)

(% 70'lik etil alkol)

- Etil alkol.....70 mL.
- Mevcut stok etil alkolden (%96'lık) 70 mL alındı ve üzerine 24 mL distile su eklendi.

3.2.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar

10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Stok Solüsyonu pH 8,8

Tris Baz.....108 g

Borik Asit.....55 g

EDTA.....8,3 g

- Tartılan kimyasal maddeler distile suda çözüldü ve pH'sı 8,8 'e ayarlandı.
- Distile su ile 1 litre'ye tamamlandı
- Oda ısısında muhafaza edildi.

Elektroforez Yürütme Tamponu (1XTBE)

- 10X TBE stok solüsyonu distile suyla seyreltilerek 1XTBE tamponu hazırlandı. Hazırlanan 1XTBE tamponu elektroforez yürütme tamponu olarak elektroforez tankına konuldu.

% 2 Agaroz Jel Solüsyonu

1XTBE Buffer.....120 mL
Agarose Basica LE Prona2,4 g
Ethidium Bromide.....0,5 µg/mL

Orange G Solüsyonu

- 1mM Na₂EDTA2,232 g
- Orange G200 mg
- Gliserol.....60 mL
- Distile Su40 mL

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3. 1. DNA İzolasyonu

İnsan genomik DNA'sının ekstrasyon, izolasyon ve pürifikasyonuna ilişkin çok çeşitli protokoller geliştirilmiştir. Tam kan örneklerinden DNA izolasyonu Poncz yöntemine göre yapılmıştır (101).

DNA İzolasyonunun Yapılışı

- EDTA'lı tüpe alınan kandan 500 µL alınarak 1,5 µL'lik steril ependorf tüpüne kondu.
- Üzerine 1 mL lysis buffer (0,32 M Sukroz, 10mM Tris/HCl pH 7,5; 5mM MgCl₂, % 1 Triton X100) eklendi ve karıştırıldı.
- Tüpler 5 dakika bekletildi ve 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
- Süre sonunda süpernatant döküldü ve aynı adım bir kez daha tekrarlandı.
- Tüplere 1 mL fizyolojik tampon (0,075M NaCl, 0,025M EDTA) eklendi ve karıştırıldı.
- Bu karışım 13.000 rpm'de 10 saniye santrifüj edildi.
- Süpernatant kısmı atıldı ve dipteki pellet üzerine 300 µL Tampon A (10mM Tris/HCl pH 8, 2mM EDTA) eklenip karıştırıldı.
- Bu karışım üzerine 10 µL SDS ve 25µL Proteinaz-K (100 mg/mL) konulup karıştırıldı.
- Tüpler 65°C'de 45 dakika bekletildi.
- Süre sonunda tüpler oda ısısına getirildi.
- Tüplere 50 µL doymuş sodyum klorür eklendikten sonra 15-20 saniye vortekslendi.
- Tüpler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant steril yeni bir tüpe alındı.
- Süpernatant üzerine eşit hacimde izopropil alkol eklendi.
- Tüpler yavaşça alt üst edilerek DNA'nın ipliksi bir görünüm alışı izlendi.
- 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernetant kısım atılıp pellet halindeki DNA üzerine 1 mL % 70'lik soğuk etil alkol eklenip karıştırıldı.
- Tüpler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı ve tüpler kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek alkol kurutuldu.
- Her tüpe 50 µL distile su eklenerek DNA 37 °C'de çözülmeye bırakıldı (bir gece).
- Elde edilen DNA molekülünün miktarı aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{DNA derişimi } (\mu\text{L}/\text{mL}) = \text{OD}_{260} \times \text{Seyreltme faktörü} \times 50^*$$

*1 cm ışık yollu küvette 1 OD'ye karşılık gelen µg/mL biriminden DNA miktarı.

Hazırlanan ekstrakt çalışılncaya kadar + 4°C’de saklandı.

3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Uygulaması

PCR, tek bir molekül DNA’yı dahi çoğaltabileceğinden, reaksiyon karışımlarının DNA molekülleri ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Bu kontaminasyon, daha önceki PCR reaksiyonu, eksojen DNA veya diğer hücrel materyallerden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, kullanılan sarf malzemelerin ve solüsyonların steril olmasına dikkat edildi. Ayrıca PCR reaksiyonunda, ısı iletiminden kaynaklanabilecek sorunların en az düzeye indirilmesi için, ince duvarlı DNAase ve RNAase enzimlerinden arındırılmış steril 0,5 mL’lik eppendorf tüpleri kullanıldı. Reaksiyonun gerçekleştirilmesi için de Thermal Cycler cihazı ile 0.5-10 µL, 10-100 µL ve 50-200 µL’lik pipetler kullanıldı.

CYP2B6 geninin 15631 bölgesindeki polimorfizm, Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile belirlendi. Çalışmada kullanılan primerler, Haga ve ark. yaptığı araştırma makalelerinden seçildi (102). *CYP2B6* genindeki polimorfizmin PCR ile belirlenmesinde forward ve revers primerler kullanıldı. Her bir örnek için forward ve reverse primer dizileri Çizelge 3.1.’de, *CYP2B6* 15631 G>T bölgesine spesifik PCR bileşenleri ise Çizelge 3.2.’de gösterildi.

Çizelge 3.1. *CYP2B6* genindeki polimorfizmin PCR ile belirlenmesinde kullanılan primerler

Forward Primer Dizisi	Revers primer dizisi	PCR ürünü
5'-CTGTGTCCTTGACCTGCTGC-3'	5'-TCCAGGAGCA GAATAGACATGAAG -3'	578 bp

Çizelge 3.2. *CYP2B6* 15631 G>T bölgesine spesifik PCR bileşenleri

Reaksiyon Bileşenleri	Kullanılacak Miktar (μ L)
Distile Su	24,5
10X PCR Buffer	5
MgCl ₂ (25 mM)	4
dNTP Mix (2 mM)	10
Primer 1 (Forward) (50pmol/ μ L)	2
Primer 2 (Reverse) (50pmol/ μ L)	2
Taq DNA Polimeraz	0,5
Çalışılacak örnek sayısı kullanılan miktarlarla çarpılarak miks oluşturuldu. Bu miksten çalışılacak örnek sayısı kadar 48 μ L'lik porsiyonlar alınarak üzerine DNA örneğinden konuldu ve son hacim 50 μ L'ye tamamlandı.	
DNA örneği	2

Oluşturulan bu PCR karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait ve üzerlerinde numaraları yazılı steril 0,2 μ L'lik PCR tüplerine 48'er μ L konuldu. Daha sonra üzerine 2 μ L DNA örneği konulup cihaza yerleştirildi.

CYP2B6 geni için thermal cycler cihazında PCR koşulları Çizelge 3.3.'deki gibi uygulandı ve PCR ürünleri elektroforez işlemlerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

Çizelge 3.3. *CYP2B6* polimorfizmi için PCR koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Denatürasyon	95	50 sn	37
Primer bağlanması (Annealing)	60	50 sn	
Zincir uzaması (Elongasyon)	72	3 dk	
Muhafaza	4	∞	∞

3.3.3. Agaroz Jel Elektroforez Tekniği

Her bir birey için, PCR işlemi sonrasında *CYP2B6* geninin amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için agaroz jel elektroforez işlemi uygulandı. Bu işlem sonrasında 578 bp'lik tek bir band gözlenmesi gerekiyordu. Hazırlanan jelde yürütülen DNA'ların uzunlukları, büyüklükleri belli (100-1000bp) DNA fragmentleri içeren markır ile kıyaslanarak saptandı.

Tank tamponu olarak TBE, 10X konsantre stok solüsyon şeklinde hazırlandı. Daha sonra 1X olacak şekilde sulandırıldı ve hem tankta hem de agaroz jelin hazırlanması sırasında kullanıldı.

3.3.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması

% 2'lik agaroz jel hazırlandı. Düşük erime sıcaklığına sahip (55-60°C) ve moleküler biyolojik çalışmalar için uygun nitelikte agaroz (Agarose Basica LE, Prona) kullanıldı. 2,4 gr agaroz, 120 mL 1X TBE çözeltisi içerisinde mikrodalga fırında homojen ve şeffaf bir görünüm elde edilinceye kadar ısıtıldı. Buhar çıkması durduktan sonra boyar madde olarak 0,5µg/mL Ethidium bromide (Et-Br) kullanıldı.

Hazırlanan agaroz, TBE ve Ethidium bromide karışımı, jel taraklarını eritmeyecek ısıya düşüncüye kadar soğutuldu. Jel taraklarının yerleştirildiği jel kalıbına yavaşça döküldü. Dökme işlemi sırasında jel içinde hava kabarcıklarının kalmamasına dikkat edildi. Yaklaşık 1 saat kadar oda ısısında soğumaya bırakıldı. Jel tamamen

katılaştıktan sonra taraklar çıkarıldı ve elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankı içerisine yerleştirilen jelin üst kısmını tamamen örtecek şekilde yürütme tamponu ile dolduruldu.

Yürütülecek olan PCR örneklerinden 8 µL alınarak parafilm üzerinde 10 µL Orange G boyası ile iyice karıştırıldı ve kuyucuklara yüklendi. Elde edilen bandın uzunluğunu tespit etmek amacıyla 100 bp'lik markır kullanıldı. Örnekler 120 voltluk akım uygulanarak 50-55 dakika yürütüldü. Elde edilen DNA bantları jel görüntüleme yöntemi sistemi yardımıyla görüntülendi.

3.3.4. PCR Ürünlerinin BsrI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

Bir örnek için enzim kesimi:

Distile Su	9 µL
BsrI (10 U/µL)	1 µL
10X Tampon B	2 µL
PCR Ürünü	8 µL
Total hacim	20 µL

Distile su, BsrI ve Tampon B kullanılarak örnek sayısı kadar miks hazırlandı. Hazırlanan karışımın önce vorteks daha sonra santrifüj kullanılarak homojen bir biçimde karışması sağlandı. 0,2 µL'lik steril PCR tüplerinin her birine 12 µL hazırlanan karışımdan pipetlendi. Karışımların üzerine 8'er µL PCR ürünü eklenerek vorteks ile karıştırıldı ve santrifüj edildi. Tüm örnekler 65°C'de su banyosunda 2 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında örnekler non-spesifik bantların oluşmasını önlemek amacıyla 80°C'de su banyosunda 20 dakika inkübe edilerek enzim inaktivasyonu sağlandı. Kesim ürünleri 0,5 µg/mL ethidium bromide içeren yukarıda anlatılan şekilde hazırlanmış % 3'lük agaroz jelde 120 voltta 2 saat yürütüldü ve jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi.

3.3.5. Genotip Tayini

CYP2B6 genine ait PCR ürünü 578 bp uzunluğundadır. Kesim sonucunda 518 ve 60 bp uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. GG genotipine sahip bireyler için 518 ve 60 bp'lik iki bant, GT genotipine sahip bireyler için 578, 518 ve 60 bp'lik üç bant ve TT genotipine sahip bireyler için ise 578 bp'lik tek bir bant gözlenmektedir.

3.3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 11 (SPSS Inc., Chicago. IL., USA) programı kullanıldı. Tüm parametreler için frekanslar ve yüzde değerleri hesaplandı. Bu frekansların hasta ve kontrol gruplarında görülme sıklıkları arasındaki ilişkiler ki-kare testi ile araştırıldı. Odds oranları (OR) hesaplandı. Yanılma düzeyleri olarak 0,05 değeri seçildi. Bu değere eşit yada küçük p değeri için “parametreler arası ilişkinin istatistiksel açıdan anlamlı” olduğu yorumu yapıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, akut lösemi ile *CYP2B6* G15631T gen polimorfizmi arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla çalışmamızın kontrol grubunu 100 sağlıklı birey meydana getirirken, hasta grubunu ise akut lösemi tanısı almış 80 birey oluşturmaktaydı. Akut lösemili hastaların 44'üne ALL (% 55), 36'sına da AML (% 45) tanısı konuldu.

Yaptığımız çalışmada kontrol grubu olarak 61'i erkek, 39'u kadın olmak üzere toplam 100 sağlıklı bireyi değerlendirmeye aldık (Şekil 4.2.).

Kontrol grubunun yaş ortalaması $45,67 \pm 17,42$, yaş sınırı 16-68, tüm akut lösemili olguların yaş ortalaması $29,6 \pm 16,26$, yaş sınırı ise 5-82 olarak bulundu. ALL tanısı almış hastaların yaş ortalaması $24,4 \pm 18,13$, yaş sınırı 5-58; AML'li hastaların ise yaş ortalaması $25,7 \pm 13,45$, yaş sınırı ise 16-62 olarak saptandı (Çizelge 4.1.).

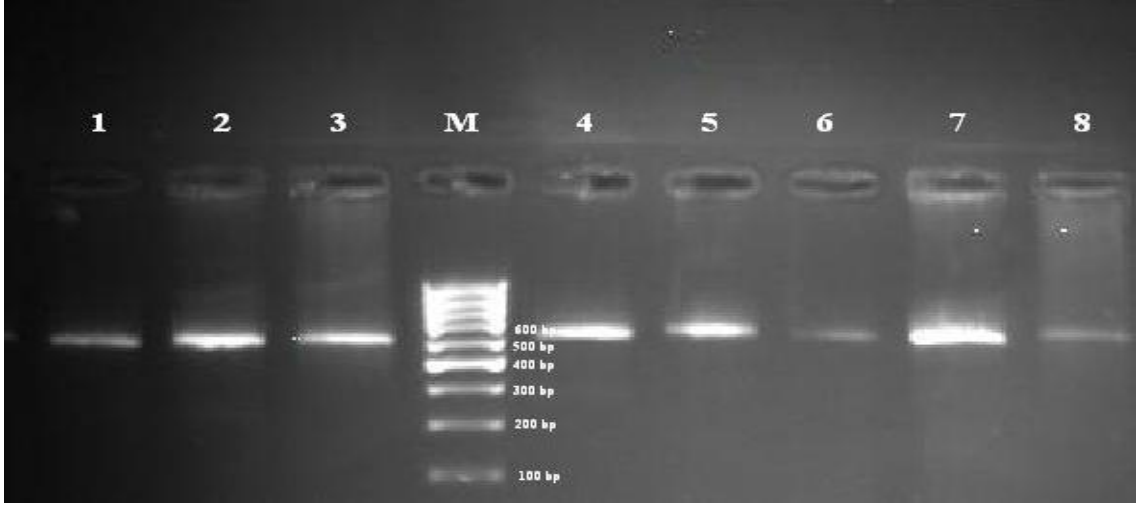
ALL tanısı almış hastaların 28'i erkek, 16'sı kadın; AML tanısı almış hastaların ise 21'i erkek, 15'i kadındı. Tüm akut lösemili hastalar göz önüne alındığında erkek/kadın oranı 1,58 olarak gözlemlendi. ALL vakalarında erkek/kadın oranı 1,75, AML vakaların da ise 1,4 olarak bulundu.

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunda kadın, erkek sayısı ve yaş ortalamaları

	Kontrol	Akut Lösemi	ALL	AML	p değerleri
Cinsiyet					
Erkek	61	49	28	21	0,764 ^a
Kadın	39	31	16	15	0,679 ^b 0,812 ^c 0,889 ^d
Yaş	$45,67 \pm 17,42$	$29,6 \pm 16,26$	$24,4 \pm 18,13$	$25,7 \pm 13,45$	0,000 ^a 0,000 ^b 0,000 ^c 0,722 ^d

^aKontrol-Akut Lösemi arası korelasyon, ^b Kontrol-ALL arası korelasyon, ^c Kontrol-AML arası korelasyon, ^dALL-AML arası korelasyon

CYP2B6 geninin 15631. pozisyonunu içeren bölgesi PCR yöntemi ile amplifiye edildikten sonra doğru genin amplifiye edilip edilmediğinin kontrolü için % 2'lik agaroz jel kullanılarak elektroforez yapıldı. Jel elektroforezi ile 578 bp'lik bant elde edilmiştir (Resim 4.1.).



Şekil 4.1. 578 bp'lik *CYP2B6* gen parçalarının PCR sonrasında % 2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü. Amplifikasyonu yapılan örnekler 1'den 8'e kadar numaralandırılmış, 100 bp'lik markır ise M ile gösterilmiştir. Elde edilen gen parçaları markır baz alınarak değerlendirildiğinde yaklaşık 578 bp uzunluğunda olduğu göstermekte ve bu da doğru gen bölgesini amplifiye ettiğimizi göstermektedir.

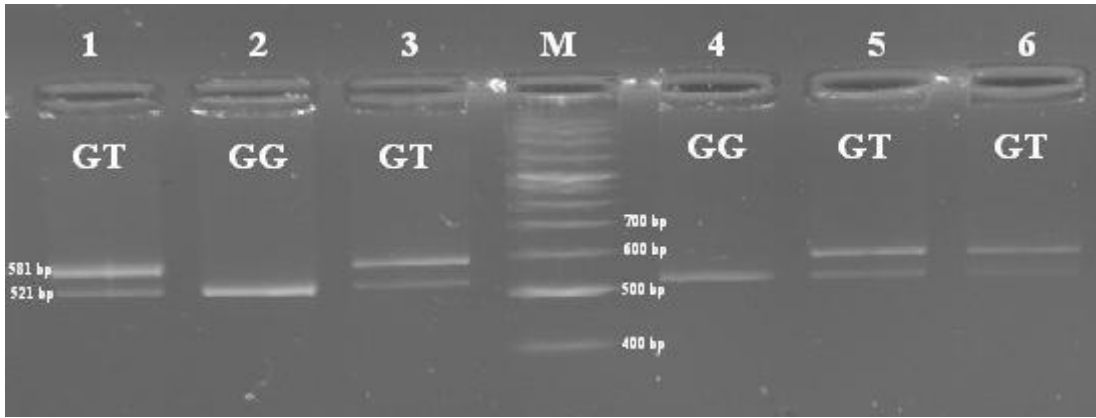
CYP2B6 geninin 15631. pozisyonundaki G→T değişimini belirlemek için PCR ile amplifiye edilen her örneğe BsmI enzimi kullanılarak kesim yapıldı. Kontrol grubuna ait 100 sağlıklı gönüllü ve akut lösemi tanısı almış 80 hasta olmak üzere toplam 180 bireyin *CYP2B6* geninin G15631T polimorfizmine bakıldı.

CYP2B6 geninin G15631T polimorfizmi için görüntüleme sisteminde markır baz alınarak kıyaslama yapıldığında GG genotipine sahip bireyler için 518 ve 60 bp'lik iki bant, TT genotipine sahip bireyler için 578'lik tek bir bant ve GT genotipine sahip bireyler için ise 578, 518 ve 60 bp'lik üç bant görülmektedir.

Şekil 4.2.'de hasta grubuna ait 6 bireyin, *CYP2B6* G15631T polimorfizmi açısından allelleri görülmektedir. 518 ve 60 bp'lik iki bant bulunan 2 ve 4 nolu örnekler, kişilerin GG genotipine sahip olduklarını, 578, 518 ve 60 bp'lik üç bant bulunan 1, 3, 5 ve 6 nolu örnekler ise kişilerin GT genotipinde olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma sonucunda kontrol grubundaki 100 bireyden 67 bireyde GG (% 67), 33 bireyde GT (% 33) genotipi saptandı. 80 bireyden oluşan akut lösemili hasta grubundan 36 bireyde GG (% 45), 44 bireyde GT (% 55) genotipi bulundu. Akut lösemilerin tiplerine göre de genotipleme yapıldı. Buna göre ALL tanısı konulmuş 44 bireyden 18 bireyin GG (% 40,9), 26 bireyin (% 59,1) GT genotipinde olduğu tespit edildi. AML tanısı konulmuş 36 bireyden 18 bireyin GG (% 50), 18 bireyin ise GT

genotipinde olduğu bulundu. Gerek kontrol gerekse hasta gruplarında TT genotipine rastlanılmadı.



Şekil 4.2. *CYP2B6* G15631T gen bölgesinin PCR ürününün BsrI restriksiyon enzimi ile kesiminden elde edilen sonuçlar (% 3'lük agaroz jel elektroforezi). 100 bp Markır (M) ve örnekler 1'den 6'ya kadar numaralarla gösterilmiştir.

Akut lösemili hastaların genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, GT genotipinin akut lösemiye yatkınlığı arttırdığına % 95 güvenle karar verildi ($p=0,03$) (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Akut lösemi ve kontrol gruplarında *CYP2B6* G15631T polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

<i>CYP2B6</i> G15631T polimorfizmi	Akut Lösemi (n=80) n (%)	Kontrol (n=100) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
GG	36 (% 45,0)	67 (% 67,0)	1 (Referans)	0,003
GT	44 (% 55,0)	33 (% 33,0)	2,481 [1,353-4,551]	

n= kişi sayısı

ALL hastalarının genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, GT genotipinin akut lösemiye yatkınlığı arttırdığına % 95 güvenle karar verildi ($p=0,015$) (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. ALL ve kontrol gruplarında *CYP2B6* G15631T polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

<i>CYP2B6</i> G15631T polimorfizmi	ALL (n=44) n(%)	Kontrol (n=100) n(%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
GG	18 (% 40,9)	67 (% 67,0)	1 (Referans)	0,015
GT	26 (% 59,1)	33 (% 33,0)	2,399 [1,186-4,853]	

AML hastalarının genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, GT genotipinin akut lösemiye yatkınlığı arttırdığına % 95 güvenle karar verildi (p=0,021) (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. AML ve kontrol gruplarında *CYP2B6* G15631T polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

<i>CYP2B6</i> G15631T polimorfizmi	AML (n=36) n(%)	Kontrol (n=100) n(%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
GG	18 (% 50)	67 (% 67,0)	1 (Referans)	0,021
GT	18 (% 50)	33 (% 33,0)	2,610 [1,157-5,888]	

Bu polimorfizmin, allel frekanslarının gruplarla olan ilişkisi ki-kare analizi ile değerlendirildi. Hem ALL (Çizelge 4.5.), hem AML (Çizelge 4.6.), hem de genel olarak her iki akut lösemi grubu (Çizelge 4.7.) kontrol grubuyla olan ilişkisi ki-kare analizi ile değerlendirildi ve her üç hasta grubunun allel frekanslarında anlamlı bir değişimin olduğu % 95 güvenle karar verildi.

Çizelge 4.5. Kontrol ve ALL gruplarında *CYP2B6* 15631. pozisyonunda G ve T allellerinin frekansları

Alleller	ALL (n=44) n(%)	Kontrol (n=100) n(%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
G	62 (% 70,45)	167 (% 83,5)	1 (Referans)	0,034
T	26 (% 29,55)	33 (% 16,5)	1,880 [1,047-3,373]	

n= kişi sayısı

Çizelge 4.6. Kontrol ve AML gruplarında *CYP2B6* 15631. pozisyonunda G ve T allellerinin frekansları

Alleller	AML (n=36) n(%)	Kontrol (n=100) n(%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
G	54 (% 75)	167 (% 83,5)	1 (Referans)	0,043
T	18 (% 25)	33 (% 16,5)	1,980 [1,023-3,833]	

Çizelge 4.7. Kontrol ve akut lösemi gruplarında *CYP2B6* 15631. pozisyonunda G ve T allellerinin frekansları

Alleller	AML (n=80) n(%)	Kontrol (n=100) n(%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
G	116 (% 72,5)	167 (% 83,5)	1 (Referans)	0,012
T	44 (% 27,5)	33 (% 16,5)	1,920 [1,153-3,196]	

5. TARTIŞMA

1999 yılında insan genom projesinin tamamlanmasıyla birlikte polimorfizm çalışmaları hız kazanmıştır. SNP Konsorsiyumunun verilerine göre ortalama 1200-1300 baz çiftinde bir polimorfizm görülmektedir ve bugüne kadar 1,5 milyona yakın polimorfizm tanımlanmıştır. Polimorfizmlerin çoğu sessizdir ve gen fonksiyonlarını ve kalıtılan özelliklerini etkilemezler. Bunlara non-coding SNPs denilmektedir. Bir de protein fonksiyonunu; aminoasit sekansını değiştirmek yoluyla ‘direkt’, regülatör sekans fonksiyonunu değiştirerek ‘indirekt’ etki eden polimorfizmler vardır. Bunlara da coding SNPs adı verilmektedir (36).

Hastalık predispozisyonu açısından epidemiyolojik ve biyomedikal araştırmalarla farklı populasyonlarda hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında polimorfizm tayini ve karşılaştırılması yapılmaktadır. Bu hastalıklara örnek olarak çeşitli kanser türleri, Diabetes Mellitus, Alzheimer hastalığı, psoriasis, kardiyovasküler hastalıklar, migren vb. sayılabilir (36).

Günümüzde hastalığa yol açan genlerin hangi paternlerinin hastalıkla daha yüksek ilişkili olduğu saptanabilmektedir. Çeşitli hastalıklara özgü polimorfizm profilleri çıkarılmıştır. DNA örneklerinde spesifik polimorfizm paternleri incelenerek bireylerin hastalıklara duyarlılıkları açısından taramaları yapılabilmektedir (36).

SNP’ler ve çeşitli kanser türleri arasında da çeşitli ilişkiler kurulmaktadır. DNA tamiri ve karsinojenlerin metabolizması ve detoksifikasyonunda rol alan genlerde SNP’lerin varlığı, kimyasal karsinojenlerin artmış aktivasyonu, hücrelerin detoksifikasyon ve mutajenik hasar tamiri yeteneklerindeki azalmalar, bizlere SNP’ler ile kanser türleri arasında bağlantı kurmayı gerekli kılmıştır. Bu genotipik varyasyonların tanımlanması kanser etyolojisinin aydınlatılmasına ve hastalık riski ile kemoterapiye cevabın öngörülmesinde yardımcı olacaktır (36).

CYP2B6 G15631T polimorfizminin AML ve ALL etyolojisinde rolü olup olmadığının araştırılmasını amaçladığımız bu çalışmada polimorfizmlerin toplumlarda oldukça düşük oranda görülmesinden dolayı gerek kontrol gerekse hasta sayılarını mümkün olduğunca fazla tutmaya özen gösterdik (24).

Kontrol grubu olarak 100 sağlıklı birey, hasta grubu olarak ise 44 ALL, 36 AML olmak üzere toplam 80 akut lösemili birey çalışmamıza dahil edilmiştir. Kontrol

grubunun yaş ortalaması $32,86 \pm 18,47$, hasta grubunun yaş ortalaması $29,6 \pm 16,26$ ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Kontrol grubunun yaş aralığı (6-76), hasta grubunun yaş aralığıyla da (5-82) benzerlik göstermekteydi.

Yaptığımız çalışmada ALL tipinde olan akut lösemili hastaların yaş ortalamaları $24,4 \pm 18,13$, yaş aralığı ise 5-58 olarak bulundu. Sahu ve ark. (103) 110 ALL hastasıyla yapmış olduğu bir çalışmada ALL hastaların yaş ortalamasını $28,2 \pm 15,7$, yaş aralığını ise 13-80 olarak bulmuştur. Bizim bulduğumuz yaş aralığının daha düşük olmasının sebebi çalışmamıza adölesan ve erişkin lösemi hastalara ek olarak pediatrik lösemi hastalarının da dahil edilmesindedir.

AML tanısı konulmuş hasta grubumuzda ise yaş ortalaması $25,7 \pm 13,45$, yaş aralığı 16-62 olarak bulunmuştur. Rego ve ark. yaptıkları bir çalışmada (104) AML hastalarının yaş ortalamalarını $38,8 \pm 16,6$, yaş aralığını ise 12-82 olarak bulmuş olup bizim yaptığımız çalışmaya nazaran daha yaşlı bir hasta grubuyla çalışıldığı anlaşılmaktadır. AML grubumuzun hem yaş ortalamasının hem de yaş aralığının ALL'den yüksek olmasının sebebinin ALL'nin daha çok çocukluk çağında görülen kanser tiplerinden biri olmasından kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda ALL'li hasta grubunda erkek/kadın oranı 1,75 olarak bulunmuştur. Kürekçi ve ark. yaptıkları bir çalışmada (105) ALL hastalarında erkek/kadın oranını 0,789, Sahu ve ark. (103) ise 2,235 olarak bulmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada ALL'li erkeklerin sayısının ALL'li kadınların sayısının yaklaşık iki katı olduğu saptanmıştır.

AML tanısı almış hasta grubunda ise erkek/kadın oranı 1,4 olarak bulunmuştur. Rego ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (104) AML'li hastalarda erkek/kadın oranını 1,68 olarak bulmuştur. Bu da bizim hasta grubumuzun cinsiyet bakımından daha dengeli bir populasyon niteliğinde olduğunu göstermektedir.

CYP2B6 geninin 15631. pozisyonunda yer alan G alleli wild tip allel olup tek nükleotid polimorfizmi sonucunda T alleleline dönüşmekte ve translasyonda glutamin aminoasidi histidin aminoasidiyle yer değiştirmektedir. GG genotipi wild tip genotip olup G15631T polimorfizmi sonucunda GT (heterozigot polimorfik genotip) ve TT (homozigot polimorfik genotip) meydana gelmektedir.

Yaptığımız çalışma aynı zamanda Türk populasyonunda *CYP2B6* G15631T polimorfizminin genotip ve allel frekanslarının tespitini de sağlamaktadır. Türk populasyonunda *CYP2B6* G15631T polimorfizminin araştırılması sadece kontrol grubu baz alınarak yapılmış, hasta grubunun yanlış bir sonuç verebileceği düşüncesiyle çalışmaya dahil edilmemiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda Türk populasyonunda GG genotipinin görülme sıklığı % 67, GT genotipinin sıklığı ise % 33 olarak bulunmuştur. *CYP2B6* G15631T polimorfizminin allel frekansları da hesaplanmış buna göre G allelinin frekansı 0,835, T allelinin frekansını ise 0,165 olarak saptanmıştır. Türk populasyonunda *CYP2B6* G15631T polimorfizmi için herhangi bir populasyon genetiği çalışması yapılmadığı için bu çalışma Türk populasyonu için emsal teşkil etmektedir.

Güney Çin populasyonunda yapılan dört farklı çalışmada Lahu ve ark. GG genotipinin görülme sıklığını % 44,4, GT genotipinin sıklığını % 48,1, TT genotipinin sıklığını ise % 7,4 olarak bulmuştur. Wa ve ark. GG genotipinin sıklığını % 35,6, GT genotipinin sıklığını % 48,5, TT genotipinin sıklığını ise % 15,8 olarak bulmuştur. Bulang ve ark. GG genotipinin sıklığını % 50,5, GT genotipinin sıklığını % 40,4, TT genotipinin sıklığını ise % 9,1 olarak bulmuştur. Hong Kong ve ark. GG genotipinin sıklığını % 51,3, GT genotipinin sıklığını % 25,6, TT genotipinin sıklığını ise % 23 olarak bulmuşlardır (106).

CYP2B6 G15631T polimorfizminin allel frekansları da diğer çalışmalarla kıyaslanmıştır. Güney Çin populasyonunda yapılan dört farklı çalışmada G ve T allelinin frekanslarını Lahu ve ark. sırasıyla 0,685 ve 0,315, Wa ve ark. 0,599 ve 0,401, Bulang ve ark. 0,707 ve 0,293, Hong Kong ve ark. ise 0,641 ve 0,359 olarak saptamışlardır (106).

Çalışma sonuçlarımızı diğer dört çalışmanın sonuçlarıyla kıyasladığımızda Türk populasyonunda GG genotipinin görülme sıklığının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. GT genotipinin sıklığı ise Lahu, Wa ve Bulang'ın çalışmalarından daha düşük, Hong Kong'un çalışmasından ise daha yüksek olarak bulunmuştur. Referans olarak aldığımız çalışmalarda TT genotipine rastlanmış olmasına rağmen bizim çalışmamızda TT genotipine sahip birey bulunamamıştır. Sonuçlardaki bu farklılık TT genotipinin frekansının düşük olmasından veya etnik varyasyonlardan kaynaklanıyor olabilir. Bizim çalışmamızın allel frekans sonuçları diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında T allelinin

frekansı diğer çalışmalara nazaran daha düşük, G allelinin frekansı ise daha yüksek olarak saptanmıştır.

CYP2B6 G15631T polimorfizminin allel frekansları farklı etnik gruplarda da incelenmiştir. Farklı araştırmacılar beyaz ırk, Afrika, Latin ve Asya ırklarında ve bu ırkların farklı populasyonlarında *CYP2B6* G15631T polimorfizmini araştırmışlardır (106).

Beyaz ırkta yapılan çalışmalar sonucunda Alman populasyonunda T allelinin frekansı yapılan üç farklı çalışmada 0,252, 0,26 ve 0,286 olarak bulunmuştur. Amerikalı'larda T allelinin frekansı 0,22, İsviçre populasyonunda 0,24, Kanada populasyonunda 0,254, Avrupa kökenli Amerikalı'larda 0,224, İngiliz populasyonunda ise bu oran 0,281 olarak bulunmuştur (82-87, 89).

Afrika ırkında da benzer çalışmalar yapılmıştır. Afrika kökenli Amerikalı'larda T allelinin frekansı yapılan dört farklı çalışmada 0,28, 0,278, 0,38 ve 0,329 olarak bulunmuştur. Ayrıca Ganalı'larda T allelinin frekansı 0,488 olarak tespit edilmiştir (83, 85, 86, 98).

Latin ırkında da bu çalışmalara benzer çalışmalar söz konusudur. İspanyol populasyonunda T allelinin frekansı 0,265, Latin Amerikalı'larda yapılan iki farklı çalışmada 0,43 ve 0,266 olarak bulunmuştur. İspanyol kökenli Kanadalı'larda ise T allelinin frekansı 0,328 olarak saptanmıştır (83, 85, 86, 99).

Asya ırkında yapılan çalışmalarda Japon populasyonunda T allelinin frekansı üç farklı çalışmanın sonuçlarına göre 0,16, 0,144 ve 0,2 olarak bulunmuştur. Korelilerde T allelinin frekansı 0,152, Tayvanlı'larda 0,141, Çinli'lerde 0,21, Hong Konglu'larda ise 0,43 olarak tespit edilmiştir (91-93, 96, 98). Son olarak Xu ve ark. (106) Nisan 2007'de yaptıkları bir çalışmada Çin toplumunda T allelinin frekansını 0,345 olarak bulmuştur.

Diğer araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalar Türk toplumu için bulduğumuz T allel frekansı (0,165) ile karşılaştırıldığında Türk toplumunun diğer ıklara nazaran Asya ırkına daha çok benzerlik gösterdiğini düşündürmekteyiz.

Kontrol ve akut lösemili gruplarımızda *CYP2B6* G15631T polimorfizmi için genotipleme yapıldığında kontrol grubunda GG genotipinin sıklığı % 67, GT genotipinin ise % 33, akut lösemi grubunda GG genotipinin % 45, GT genotipinin ise % 55 oranında bulunmuştur. Akut lösemi hastalar alt tiplerine göre incelendiğinde ALL hastalarında GG genotipinin sıklığı % 40,9, GT genotipi % 59,1, AML hastalarında ise

GG genotipinin sıklığı % 50, GT genotipinin sıklığı ise % 50 olarak saptanmıştır. Allel frekansları açısından kıyaslandığında kontrol grubunda G allelinin frekansı 0,835, T allelinin frekansı 0,165, akut lösemi grubunda ise G allelinin frekansısı 0,725, T allelinin frekansı ise 0,275 olarak bulunmuştur. ALL hastalarında G allelinin frekansı 0,705, T allelinin frekansı 0,295, AML hastalarında G allelinin frekansı 0,75, T allelinin frekansı ise 0,25 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre GT genotipinin ALL sıklığını 2,399 kat, AML sıklığını ise 2,61 kat arttırdığı % 95 güven aralığıyla belirlenmiştir.

CYP2B6 enzimi ile ilgili yeteri kadar prob ilaç, inhibitör ve spesifik antikor mevcut olmadığından dolayı bu enzim hakkında çok az şey bilinmektedir. İlginç bir şekilde *CYP2B6* geniyle de ilgili sadece populasyon genetiği çalışmaları mevcut olup bu genin polimorfizmlerinin herhangi bir hastalığa yakalanma riskini artırıp artırmayacağı konusunda herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (96).

CYP2B6 enziminin metabolize ettiği ilaçlar, endojen substratlar ve ksenobiyotikler göz önüne alındığında bu enzimin ne kadar önemli olduğunu, bu enzimi kodlayan *CYP2B6* geninin de bu enzimin aktivasyonunda ne denli kritik rol oynadığını anlamak hiç de zor değildir. Bu yüzden *CYP2B6* geninin G15631T polimorfizmi gibi özellikle gen ekspresyonunu, dolayısıyla da enzim düzeyini ve aktivitesini azaltan polimorfizmler kimyasal maddelerin biyotransformasyonu için oldukça önem taşımaktadır (95-97).

CYP2B6 enzimi metabolize ettiği onlarca ilacın yanı sıra stiren, aflatoksin B1, 2-dibromoetan, benzo[a]piren, 1,3-bütadien, 7-benzil oksirezorufin, vinil klorid, klorzoksazon, 4-vinilsikloheksan, 3-metoksi 4-amino azobenzen, 4-vinil-1-sikloheksan, 4-(metilnitroamino)-1-(3-piridil)-1-(butanon) (NNK), 9-(4-aminophenyl)-9-hidroksi-rido-(3,4-b) indol (Aminofenilnorharman) (APNH) gibi karsinojen, Azinfos-metil (AZIN) ve 2-kloro 1,1-difloroetan gibi tümörojen, 1,2-dibromoetan gibi genotoksik ve karsinojen, benzfetamin, 6-aminokrisen ve dibenzo[a,h]antrasen gibi az karsinojen, paration (PAR), metilendioksimet-amfetamin (esctacy) ve nikotin gibi muhtemel karsinojen kimyasalların metabolizmasını da üstlenmektedir. *CYP2B6* G15631T polimorfizminde gen ekspresyonunda azalma bununla birlikte enzim miktarında ve aktivitesinde düşme meydana gelecek ve karsinojen maddeler yeteri kadar metabolize olamayacak, dolayısıyla vücutta bu karsinojenlerin birikimiyle karsinogenez hızlanacaktır (96, 97).

Diğer yandan doğal hali pre-karsinojen özellikte olup da CYP2B6 enzimi ile biyotransformasyona uğradıktan sonra karsinojen maddelere dönüşen bileşikler ise bu polimorfizm varlığında yeteri kadar karsinojene dönüşemeyecek ve kansere karşı koruyucu rol üstlenecektir. Özetle *CYP2B6* G15631T polimorfizmi öncü maddesi karsinojenik nitelikte olan kimyasallar için tehlike arz ederken, aslen pre-karsinojen olan maddeler için ise hücre ve dokuları koruyucu bir özellik taşımaktadır (94-96).

CYP2B6 enziminin metabolize ettiği önemli bir madde olan stiren yada diğer adıyla vinil benzen aromatik hidrokarbon yapısında olup plastik yapımında, tekstil ve giyim sanayisinde ve bina izolasyonunda kullanılır. Stirenin hepatomaya, angiomaya, akciğer kanserine, lösemiye ve paranasal sinüs tümörlerine yol açtığı yapılan hayvan deneyleriyle gösterilmiştir (39).

Aspergillus flavus ve *Aspergillus parasiticus* tarafından oluşturulan aflatoksin de CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen oldukça karsinojen bir mikotoksindir. Özellikle küflenmiş pul biber, fındık, yerfıstığı ve antepfıstığında bulunur. Şimdiye kadar 18 tip aflatoksin tanımlanmış olup bunlardan aflatoksin B1 en yüksek toksik etkiye sahiptir. Aflatoksinin organizma üzerine biyokimyasal ve biyolojik etkileri söz konusu olabilmektedir. Biyokimyasal düzeyde aflatoksinler enerji döngüsünü, karbohidrat, lipid, nükleik asit ve protein yapısını etkiler. Aflatoksinin biyolojik etkileri karsinojen, mutajen ve teratojen olarak gözlenebildiği gibi hepatotoksisite ve aflatoksitozis olarak da gözlenebilir. Karaciğer, kolon, böbrek kanserlerine ve lösemiye yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca yapılan hayvan deneylerinde erkek ratlarda böbrek, kolon ve karaciğer kanseri, dişi sıçanlarda kolon ve karaciğer kanseri, rhesus maymunlarda anjiosarkom, safra kesesi ve karaciğer kanserine, sinomulgus maymunlarında ise angiosarkoma, safra kesesi ve karaciğeri kanser oluşturduğu saptanmıştır (39).

Plastik, kauçuk ve monomer endüstrisinde kullanılan 1,3-bütadien de CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen oldukça karsinojenik bir maddedir. 1,3-bütadienin insanlarda lösemi ve lenfomaya yol açtığına dair veriler vardır. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda erkek sıçanlarda testis kanserine, dişi sıçanlarda meme kanserine, erkek farelerde klitoral bez tümörlerine, tubulo-alveolar yapıda bir bez olan Hederyan bezi tümörlerine, mide, böbrek, karaciğer, akciğer, MSS kanserlerine, angiosarkomaya,

lösemi ve lenfomaya, dişi farelerde ise Hederyan bezi tümörlerine, karaciğer, akciğer, meme, mide, over kanserlerine ve angiosarkomaya yol açtığı belirlenmiştir (39).

Çelik üretiminde ve kok kömürü fabrikalarında kullanılan benzo(a)piren de CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilmektedir. İnsanlarda akciğer kanserine yol açtığına dair bulgular vardır. Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda erkek ve dişi farelerde mide kanserine, erkek farelerde ise özafagus kanserine yol açtığı anlaşılmıştır (39).

CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen bir diğer karsinojen madde ise bromoetandır. Bu maddenin erkek sıçanlarda böbreküstü bez, akciğer ve MSS kanserlerine, dişi farelerde ise uterus kanserlerine yol açtığı görülmüştür (39).

Polivinilklorid (PVC) yapımında kullanılan vinil klorid de CYP2B6 enzimi tarafından metabolize edilen oldukça önemli bir karsinojen maddedir. Vinil kloridin erkek sıçanlarda Zimbal bez ve nasal kavite tümörlerine, angiosarkomaya, böbrek, karaciğer, akciğer, MSS ve testis kanserlerine, dişi sıçanlarda Zimbal bez ve nasal kavite tümörlerine, angiosarkomaya, böbrek, karaciğer, MSS ve meme kanserlerine, erkek farelerde angiosarkomaya ve akciğer kanserine, dişi farelerde angiosarkomaya, meme ve akciğer kanserlerine, erkek hamsterlarda Zimbal bez tümörlerine, angiosarkomaya ve mide kanserlerine, dişi hamsterlarda ise angiosarkomaya, meme, deri ve mide kanserlerine yol açtığı tespit edilmiştir (39).

Görüldüğü gibi CYP2B6 enziminin metabolize ettiği pek çok karsinojen madde bulunmaktadır. Ayrıca bu karsinojen maddelerin pek çok organda karsinogeneze yol açması dikkat çekicidir. *CYP2B6* geninin polimorfizmi ile akut lösemiler başta olmak üzere hiçbir kanserle ilişkisinin bulunmamasına karşın biyotransformasyonda rol alan pek çok genin akut lösemiye yatkınlığı arttırdığı bilinmektedir. Bu genlerin bazıları *CYP2E1*, *CYP1A1*, *CYP2D6*, *MTHFR*, *NAT2*, *NQO1*, *GSTM1* ve *GSTP1*'dir. Bu genlerin ürünleri olan enzimlerin metabolize ettikleri kimyasal maddelerin pek çoğunun CYP2B6 enzimi ile ortak olması bizlerde CYP2B6 enzim eksikliğinde dolayısıyla da *CYP2B6* gen polimorfizminde akut lösemi riskinin artabileceği düşüncesini uyandırmıştır (107).

NQO1 enzimi quinonları detoksifiye eder ve oksidatif stresi azaltır. *NQO1* C609T polimorfizmini homozigot olarak taşıyanlarda akut lösemiye yatkınlığı arttırdığı yapılan çalışmalarla anlaşılmıştır. *MTHFR* geni metilen tetrahidrofolat redüktaz geni

olup bu genin ürünü olan enzim ise folatın metabolizmasından sorumludur. *MTHFR* C677T polimorfizmi de enzim aktivitesini azaltarak akut lösemiye yakalanma riskini artırır.

CYP2B6 enziminin metabolizmasını üstlendiği karsinojenleri de metabolize eden enzimlerden bazıları; stiren ve 1-3 bütadieni metabolize eden GSTM1, GSTT1, CYP2E1 ve CYP2D6 enzimleri, dibenzo[a,h]antrasen ve benzo[a]pireni metabolize eden CYP1A1 enzimidir. Bu durum CYP2B6 gen polimorfizmlerinin tıpkı diğer genlerin polimorfizmlerinde olduğu gibi akut lösemilere yatkınlığı arttırdığı düşüncesini destekleyici niteliktedir (94, 95).

Özellikle de CYP1A1, GSTM1, GSTT1, CYP2E1 ve CYP2D6 genlerinin polimorfizmlerinin akut lösemiye yatkınlığı artırıp arttırmadığına dair pek çok çalışma yapılmıştır.

Krajinovic ve ark. ile Saadat ve ark. yaptıkları iki farklı çalışmada (107) GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmlerinin ALL'ye yatkınlığı arttırdığını, Armuda ve ark. (107) yaptığı çalışmada AML'ye yatkınlığı arttırdığını, Davies ve ark. (107) yaptığı çalışmada AML'ye yakınlığını arttırdığını, Rollinson ve ark. (107) yaptığı çalışmada hem AML hem de ALL'ye yatkınlığını arttırdığını saptamışlardır. Crump ve ark. (107) AML'lilerde ve Hemos ve ark. (107) hematolojik kanserlerde yaptıkları çalışmalarda GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmlerinin akut lösemi etiyolojisinde rol oynamadığını belirtmişlerdir. Krajinovic ve ark. ile Sinnete ve ark. yaptıkları farklı iki çalışmada (107) CYP1A1 MspI polimorfizminin ALL'ye yatkınlığı arttırdığını ortaya koymuşlardır. Krajinovic ve ark. (107) yaptıkları bir çalışmada CYP2E1*5B ve *6 polimorfizmlerinin ALL'ye yatkınlığı arttırdığını belirtmişlerdir. CYP2D6*3 ve *4 polimorfizmleri için yapılan çalışmalarda Lemos ve ark. (107) bu polimorfizmlerin hematolojik malignitelere, Roddam ve ark. (107) ise AML ve ALL'ye yakalanma riskini arttırdığını belirtmişlerdir. Krajinovic ve ark. (107) ise CYP2D6*3 ve *4 polimorfizmlerinin ALL'ye yakalanmada rol oynamadığını belirtmiştir.

Görüldüğü gibi akut lösemi etiyolojisinde genetik polimorfizmler oldukça geniş yer tutmaktadır. Bu nedenle lösemilerde neden-sonuç ilişkilerinin multifaktöriyel bir perspektif çerçevesinde irdelenmesi tanı, teşhis ve tedavinin kolaylaştırılmasında önemli bir rol oynayacaktır. Akut lösemilerin patogenezinin sadece birkaç gene bağlı olmadığı ve tüm şüpheli genlerin aynı anda analiziyle daha doğru bir sonuç alınabileceği

kanaatindeyiz. Bu da ancak teknolojik yöntemlerle mümkün olacaktır. Ancak yine de unutulmamalıdır ki akut lösemilerin etiolojisini tam olarak aydınlatmak neredeyse imkansızdır. Yaptığımız bu çalışma, akut lösemilerin altında yatan sebepleri tam olarak aydınlatmasa da CYP2B6 geninin akut lösemiye yatkınlığı değerlendirmede önemli bir markır olabileceği kanısındayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan sitogenetik ve moleküler çalışmalar ışığında akut lösemilerin etyopatogenezinde çevresel faktörler kadar genetik faktörlerin de önemli rol oynadığı, ayrıca bu iki durumun bir arada bulunması halinde ise akut lösemiye yakalanma riskinin kat kat artabileceği görülmektedir. Akut lösemilerde çevresel maruziyetlerden korunma belli bir yere kadar mümkün olsa da genetik yatkınlığa karşı geliştirilebilen önlemler şu anki imkanlar dahilinde oldukça sınırlıdır.

Yaptığımız bu çalışmada akut lösemi hastalığı için *CYP2B6* G15631T gen polimorfizminin risk faktörü olup olmadığını araştırdık. Elde ettiğimiz sonuçlara göre bu polimorfizmi taşıyan bireylerde akut lösemnin hem lenfoblastik hem de miyeloid tiplerine yatkınlığı arttırdığını belirledik.

Özellikle son yıllarda adını sık sık duyuran prenatal tanı yöntemleri sayesinde *CYP2B6* G15631T gen polimorfizmini taşıyan bireyler daha intrauterin hayattayken tespit edilebilecek ve genetik danışmanların yardımıyla bu duruma uygun bir yaşam tarzı sürdürmeleri sağlanacaktır. Örneğin bu genin ürünü olan enzimler tarafından metabolize edilen aflatoksin B1, 1-3 bütadien, stiren gibi son derece karsinojen olan kimyasallardan mümkün olduğunca uzak kalması sağlanacak, mesleki maruziyeti asgariye indirmek için bu tarz kimyasalların bulunduğu iş kolları bireye şifaen söylenecektir.

Ayrıca *CYP2B6* G15631T gen polimorfizminin akut lösemnin tedavisinde kullanılan siklofosfamidin metabolizmasını azalttığı için bu polimorfizmi taşıyan akut lösemi hastalarında ilaç dozajının kişiye özgü olarak ayarlanması gerekmektedir.

Çalışmamızda ayrıca *CYP2B6* G15631T gen polimorfizmi sıklığının Türk populasyonunda araştırılması da hedeflenmiştir. Daha önceden Türk toplumunda bu gen bölgesi ile ilgili hiçbir çalışma yapılmadığından dolayı bulduğumuz veriler gen bankalarına katkı sağlayabilecektir.

7. KAYNAKLAR

1. **Ding X, Kaminsky LS.** Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **2003**; 43 (8): 149-73.
2. **Thum T, Erpenbeck VJ, Moeller J, Hohlfeld JM, Krug N, Borlak J.** Expression of xenobiotic metabolizing enzymes in different lung compartments of smokers and nonsmokers. *Environ Health Perspect.* **2006**; 114(11): 1655-61.
3. **Kim SK, Novak RF.** The role of intracellular signaling in insulin-mediated regulation of drug metabolizing enzyme gene and protein expression. *Pharmacol Ther.* **2007**; 113(1): 88-120.
4. **Shen J, Wang RT, Xu YC, Wang LW, Wang XR.** Interaction models of CYP1A1, GSTM1 polymorphisms and tobacco smoking in intestinal gastric cancer. *World J Gastroenterol.* **2005**; 11(38): 6056-60.
5. **Shimada T.** Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug Metab Pharmacokinet.* **2006**; 21(4): 257-76.
6. **El-Rayes BF, Ali S, Heilbrun LK, Lababidi S, Bouwman D, Visscher D, Philip PA.** Cytochrome p450 and glutathione transferase expression in human breast cancer. *Clin Cancer Res.* **2003**; 9(5): 1705-9.
7. **Biondi A, Masera G.** Molecular pathogenesis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* **1998**; 83(7): 651-9.
8. **McKenna RW.** Multifaceted approach to the diagnosis and classification of acute leukemias. *Clin Chem.* **2000**; 46(8): 1252-9.
9. **Hoelzer D, Gokbuget N, Ottmann O, Pui CH, Relling MV, Appelbaum FR, van Dongen JJ, Szczepanski T.** Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* **2002**; 162-92.
10. **Lowenberg B, Griffin JD, Tallman MS.** Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* **2003**; 82-101.
11. **Lopez Almaraz R, Montesdeoca Melian A, Rodriguez Luis J.** The role of molecular genetics in childhood cancer. *An Pediatr.* **2003**; 59(4): 334-44.
12. **Pui CH, Schrappe M, Ribeiro RC, Niemeyer CM.** Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* **2004**; 118-45.

13. **Ziegler DS, Dalla Pozza L, Waters KD, Marshall GM.** Advances in childhood leukaemia: successful clinical-trials research leads to individualised therapy. *Med J Aust.* **2005**; 182(2): 78-81.
14. **Estey EH.** Therapeutic options for acute myelogenous leukemia. *Cancer.* **2001**; 92(5): 1059-73.
15. **Tallman MS, Gilliland DG, Rowe JM.** Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood.* **2005**; 106(4): 1154-63.
16. **Ferrara F, Palmieri S, Mele G.** Prognostic factors and therapeutic options for relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Haematologica.* **2004**; 89(8): 998-1008.
17. **Basso G, Buldini B, De Zen L, Orfao A.** New methodologic approaches for immunophenotyping acute leukemias. *Haematologica.* **2001**; 86(7): 675-92.
18. **Mandelli F, Petti MC, Lo Coco F.** Therapy of acute myeloid leukemia: towards a patient-oriented, risk-adapted approach. *Haematologica.* **1998**; 83(11): 1015-23.
19. **Elghetany MT.** Surface marker abnormalities in myelodysplastic syndromes. *Haematologica.* **1998**; 83(12): 1104-15.
20. **Orfao A, Schmitz G, Brando B, Ruiz-Arguelles A, Basso G, Braylan R, Rothe G, Lacombe F, Lanza F, Papa S, Lucio P, San Miguel JF.** Clinically useful information provided by the flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies: current status and future directions. *Clin Chem.* **1999**; 45(10): 1708-17.
21. **Bene MC, Bernier M, Castoldi G, Faure GC, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, van't Veer M.** Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica.* **1999**; 84(11): 1024-34.
22. **Moppett J, Burke GA, Steward CG, Oakhill A, Goulden NJ.** The clinical relevance of detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Clin Pathol.* **2003**; 56(4): 249-53.
23. **Belson M, Kingsley B, Holmes A.** Risk factors for acute leukemia in children. *Environ Health Perspect.* **2007**; 115(1): 138-45.
24. **Friedmann AM, Weinstein HJ.** The role of prognostic features in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncologist.* **2000**; 5(4): 321-8.
25. **Martin Ramos M, Fernandez Martinez F, Barreiro Miranda E.** Cytogenetic abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *An Esp Pediatr.* **2001**; 55(1): 45-52.
26. **Blum KA, Lozanski G, Byrd JC.** Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood.* **2004**; 104(10): 3009-20.

27. **Mauro FR, Foa R, Giannarelli D, Cordone I, Crescenzi S, Pescarmona E, Sala R, Cerretti R, Mandelli F.** Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases. *Blood*. **1999**; 94(2): 448-54.
28. **Nishimura M, Naito S.** Tissue-specific mRNA expression profiles of human phase I metabolizing enzymes except for cytochrome P450 and phase II metabolizing enzymes. *Drug Metab Pharmacokinet*. **2006**; 21(5): 357-74.
29. **Gao J, Kashfi K, Liu X, Rigas B.** NO-donating aspirin induces phase II enzymes in vitro and in vivo. *Carcinogenesis*. **2006**; 27(4): 803-10.
30. **Guo Z, Raeissi S, White RB, Stevens JC.** Orphenadrine and methimazole inhibit multiple cytochrome P450 enzymes in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*. **1997**; 25(3): 390-3.
31. **Kim H, Wang RS, Elovaara E, Raunio H, Pelkonen O, Aoyama T, Vainio H, Nakajima T.** Cytochrome P450 isozymes responsible for the metabolism of toluene and styrene in human liver microsomes. *Xenobiotica*. **1997**; 27(7): 657-65.
32. **Farin FM, Pohlman TH, Omiecinski CJ.** Expression of cytochrome P450s and microsomal epoxide hydrolase in primary cultures of human umbilical vein endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. **1994**; 124(1): 1-9.
33. **Forrester LM, Henderson CJ, Glancey MJ, Back DJ, Park BK, Ball SE, Kitteringham NR, McLaren AW, Miles JS, Skett P.** Relative expression of cytochrome P450 isoenzymes in human liver and association with the metabolism of drugs and xenobiotics. *Biochem J*. **1992**; 281 (2): 359-68.
34. **Gonzalez FJ, Crespi CL, Czerwinski M, Gelboin HV.** Analysis of human cytochrome P450 catalytic activities and expression. *Tohoku J Exp Med*. **1992**; 168(2): 67-72.
35. **Hiratsuka M.** Development of simplified and rapid detection assay for genetic polymorphisms influencing drug response and its clinical applications. *Yakugaku Zasshi*. **2002**; 122(7): 451-63.
36. **Daly AK.** Pharmacogenetics of the major polymorphic metabolizing enzymes. *Fundam Clin Pharmacol*. **2003**; 17(1): 27-41.
37. **Gervot L, Rochat B, Gautier JC, Bohnenstengel F, Kroemer H, de Berardinis V, Martin H, Beaune P, de Waziers I.** Human CYP2B6: expression, inducibility and catalytic activities. *Pharmacogenetics*. **1999**; 9(3): 295-306.
38. **Spatzenegger M, Liu H, Wang Q, Debarber A, Koop DR, Halpert JR.** Analysis of differential substrate selectivities of CYP2B6 and CYP2E1 by site-directed mutagenesis and molecular modeling. *J Pharmacol Exp Ther*. **2002**; 304(1): 477-87.

39. **Code EL, Crespi CL, Penman BW, Gonzalez FJ, Chang TK, Waxman DJ.** Human cytochrome P4502B6: interindividual hepatic expression, substrate specificity, and role in procarcinogen activation. *Drug Metab Dispos.* **1997**; 25(8): 985-93.
40. **Mimura M, Baba T, Yamazaki H, Ohmori S, Inui Y, Gonzalez FJ, Guengerich FP, Shimada T.** Characterization of cytochrome P-450 2B6 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* **1993**; 21(6): 1048-56.
41. **Ekins S, Vandenbranden M, Ring BJ, Gillespie JS, Yang TJ, Gelboin HV, Wrighton SA.** Further characterization of the expression in liver and catalytic activity of CYP2B6. *J Pharmacol Exp Ther.* **1998**; 286(3): 1253-9.
42. **Czekaj P, Wiaderkiewicz A, Florek E, Wiaderkiewicz R.** Expression of cytochrome CYP2B1/2 in nonpregnant, pregnant and fetal rats exposed to tobacco smoke. *Acta Biochim Pol.* **2000**; 47(4): 1115-27.
43. **Kent UM, Mills DE, Rajnarayanan RV, Alworth WL, Hollenberg PF.** Effect of 17- α -ethynylestradiol on activities of cytochrome P450 2B (P450 2B) enzymes: characterization of inactivation of P450s 2B1 and 2B6 and identification of metabolites. *J Pharmacol Exp Ther.* **2002**; 300(2): 549-58.
44. **Wang Q, Halpert JR.** Combined three-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis of cytochrome P450 2B6 substrates and protein homology modeling. *Drug Metab Dispos.* **2002**; 30(1): 86-95.
45. **Kirchheiner J, Klein C, Meineke I, Sasse J, Zanger UM, Mordt TE, Roots I, Brockmoller J.** Bupropion and 4-OH-bupropion pharmacokinetics in relation to genetic polymorphisms in CYP2B6. *Pharmacogenetics.* **2003**; 13(10): 619-26.
46. **Simonsson US, Jansson B, Hai TN, Huong DX, Tybring G, Ashton M.** Artemisinin autoinduction is caused by involvement of cytochrome P450 2B6 but not 2C9. *Clin Pharmacol Ther.* **2003**; 74(1): 32-43.
47. **Chang TK, Weber GF, Crespi CL, Waxman DJ.** Differential activation of cyclophosphamide and ifosfamide by cytochromes P-450 2B and 3A in human liver microsomes. *Cancer Res.* **1993**; 53(23): 5629-37.
48. **Faucette SR, Hawke RL, Lecluyse EL, Shord SS, Yan B, Laethem RM, Lindley CM.** Validation of bupropion hydroxylation as a selective marker of human cytochrome P450 2B6 catalytic activity. *Drug Metab Dispos.* **2000**; 28(10): 1222-30.
49. **Heyn H, White RB, Stevens JC.** Catalytic role of cytochrome P4502B6 in the N-demethylation of S-mephenytoin. *Drug Metab Dispos.* **1996**; 24(9): 948-54.
50. **Zhou LX, Pihlstrom B, Hardwick JP, Park SS, Wrighton SA, Holtzman JL.** Metabolism of phenytoin by the gingiva of normal humans: the possible role of reactive metabolites of phenytoin in the initiation of gingival hyperplasia. *Clin Pharmacol Ther.* **1996**; 60(2): 191-8.

51. **Koyama E, Chiba K, Tani M, Ishizaki T.** Identification of human cytochrome P450 isoforms involved in the stereoselective metabolism of mianserin enantiomers. *J Pharmacol Exp Ther.* **1996**; 278(1): 21-30.
52. **Ren S, Yang JS, Kalthorn TF, Slattery JT.** Oxidation of cyclophosphamide to 4-hydroxycyclophosphamide and deschloroethylcyclophosphamide in human liver microsomes. *Cancer Res.* **1997**; 57(19): 4229-35.
53. **Ekins S, VandenBranden M, Ring BJ, Wrighton SA.** Examination of purported probes of human CYP2B6. *Pharmacogenetics.* **1997**; 7(3): 165-79.
54. **Ducharme MP, Bernstein ML, Granvil CP, Gehrcke B, Wainer IW.** Phenytoin-induced alteration in the N-dechloroethylation of ifosfamide stereoisomers. *Cancer Chemother Pharmacol.* **1997**; 40(6): 531-3.
55. **Ko JW, Desta Z, Flockhart DA.** Human N-demethylation of (S)-mephenytoin by cytochrome P450s 2C9 and 2B6. *Drug Metab Dispos.* **1998**; 26(8): 775-8.
56. **Granvil CP, Madan A, Sharkawi M, Parkinson A, Wainer IW.** Role of CYP2B6 and CYP3A4 in the in vitro N-dechloroethylation of (R)- and (S)-ifosfamide in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* **1999**; 27(4): 533-41.
57. **Kobayashi K, Abe S, Nakajima M, Shimada N, Tani M, Chiba K, Yamamoto T.** Role of human CYP2B6 in S-mephobarbital N-demethylation. *Drug Metab Dispos.* **1999**; 27(12): 1429-33.
58. **Nakajima T, Elovaara E, Gonzalez FJ, Gelboin HV, Vainio H, Aoyama T.** Characterization of the human cytochrome P450 isozymes responsible for styrene metabolism. *IARC Sci Publ.* **1993**; 12(7): 101-8.
59. **Domanski TL, Schultz KM, Roussel F, Stevens JC, Halpert JR.** Structure-function analysis of human cytochrome P-450 2B6 using a novel substrate, site-directed mutagenesis, and molecular modeling. *J Pharmacol Exp Ther.* **1999**; 290(3): 1141-7.
60. **Mutch E, Blain PG, Williams FM.** The role of metabolism in determining susceptibility to parathion toxicity in man. *Toxicol Lett.* **1999**; 107(3): 177-87.
61. **Miksys S, Hoffmann E, Tyndale RF.** Regional and cellular induction of nicotine-metabolizing CYP2B1 in rat brain by chronic nicotine treatment. *Biochem Pharmacol.* **2000**; 59(12): 1501-11.
62. **Court MH, Duan SX, Hesse LM, Venkatakrishnan K, Greenblatt DJ.** Cytochrome P-450 2B6 is responsible for interindividual variability of propofol hydroxylation by human liver microsomes. *Anesthesiology.* **2001**; 94(1): 110-9.

63. Hesse LM, Venkatakrishnan K, Court MH, von Moltke LL, Duan SX, Shader RI, Greenblatt DJ. CYP2B6 mediates the in vitro hydroxylation of bupropion: potential drug interactions with other antidepressants. *Drug Metab Dispos.* **2000**; 28(10): 1176-83.
64. Oda Y, Hamaoka N, Hiroi T, Imaoka S, Hase I, Tanaka K, Funae Y, Ishizaki T, Asada A. Involvement of human liver cytochrome P4502B6 in the metabolism of propofol. *Br J Clin Pharmacol.* **2001**; 51(3): 281-5.
65. Hesse LM, von Moltke LL, Shader RI, Greenblatt DJ. Ritonavir, efavirenz, and nelfinavir inhibit CYP2B6 activity in vitro: potential drug interactions with bupropion. *Drug Metab Dispos.* **2001**; 29(2): 100-2.
66. Kerbusch T, Jansen RL, Mathot RA, Huitema AD, Jansen M, van Rijswijk RE, Beijnen JH. Modulation of the cytochrome P450-mediated metabolism of ifosfamide by ketoconazole and rifampin. *Clin Pharmacol Ther.* **2001**; 70(2): 132-41.
67. Yanagihara Y, Kariya S, Ohtani M, Uchino K, Aoyama T, Yamamura Y, Iga T. Involvement of CYP2B6 in n-demethylation of ketamine in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* **2001**; 29(6): 887-90.
68. Hidestrand M, Oscarson M, Salonen JS, Nyman L, Pelkonen O, Turpeinen M, Ingelman-Sundberg M. CYP2B6 and CYP2C19 as the major enzymes responsible for the metabolism of selegiline, a drug used in the treatment of Parkinson's disease, as revealed from experiments with recombinant enzymes. *Drug Metab Dispos.* **2001**; 29(11): 1480-4.
69. Xiong H, Yoshinari K, Brouwer KL, Negishi M. Role of constitutive androstane receptor in the in vivo induction of Mrp3 and CYP2B1/2 by phenobarbital. *Drug Metab Dispos.* **2002**; 30(8): 918-23.
70. Ward BA, Gorski JC, Jones DR, Hall SD, Flockhart DA, Desta Z. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther.* **2003**; 306(1): 287-300.
71. Xie HJ, Yasar U, Lundgren S, Griskevicius L, Terelius Y, Hassan M, Rane A. Role of polymorphic human CYP2B6 in cyclophosphamide bioactivation. *Pharmacogenomics J.* **2003**; 3(1): 53-61.
72. Pascussi JM, Gerbal-Chaloin S, Drocourt L, Maurel P, Vilarem MJ. The expression of CYP2B6, CYP2C9 and CYP3A4 genes: a tangle of networks of nuclear and steroid receptors. *Biochim Biophys Acta.* **2003**; 1619: 243-53
73. Dehal SS, Kupfer D. Metabolism of the proestrogenic pesticide methoxychlor by hepatic P450 monooxygenases in rats and humans. Dual pathways involving novel ortho ring-hydroxylation by CYP2B. *Drug Metab Dispos.* **1994**; 22(6): 937-46.

74. Stevens JC, White RB, Hsu SH, Martinet M. Human liver CYP2B6-catalyzed hydroxylation of RP 73401. *J Pharmacol Exp Ther.* **1997**; 282(3): 1389-95.
75. Sueyoshi T, Kawamoto T, Zelko I, Honkakoski P, Negishi M. The repressed nuclear receptor CAR responds to phenobarbital in activating the human CYP2B6 gene. *J Biol Chem.* **1999**; 274(10): 6043-6.
76. Chang TK, Bandiera SM, Chen J. Constitutive androstane receptor and pregnane X receptor gene expression in human liver: interindividual variability and correlation with CYP2B6 mRNA levels. *Drug Metab Dispos.* **2003**; 31(5): 685-6.
77. Xie W, Barwick JL, Simon CM, Pierce AM, Safe S, Blumberg B, Guzelian PS, Evans RM. Reciprocal activation of xenobiotic response genes by nuclear receptors *SXR/PXR* and *CAR*. *Genes Dev.* **2000**; 14(23): 3014-23.
78. Goodwin B, Moore LB, Stoltz CM, McKee DD, Kliewer SA. Regulation of the human *CYP2B6* gene by the nuclear pregnane X receptor. *Mol Pharmacol.* **2001**; 60(3): 427-31.
79. Lamba V, Lamba J, Yasuda K, Strom S, Davila J, Hancock ML, Fackenthal JD, Rogan PK, Ring B, Wrighton SA, Schuetz EG. Hepatic *CYP2B6* expression: gender and ethnic differences and relationship to *CYP2B6* genotype and *CAR* (constitutive androstane receptor) expression. *J Pharmacol Exp Ther.* **2003**; 307(3): 906-22.
80. Miksys S, Lerman C, Shields PG, Mash DC, Tyndale RF. Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain. *Neuropharmacology.* **2003**; 45(1): 122-32.
81. Zukunft J, Lang T, Richter T, Hirsch-Ernst KI, Nussler AK, Klein K, Schwab M, Eichelbaum M, Zanger UM. A natural *CYP2B6* TATA box polymorphism leading to enhanced transcription and relocation of the transcriptional start site. *Mol Pharmacol.* **2005**; 67: 1772-82.
82. Kirchheiner J, Klein C, Meineke I, Sasse J, Zanger UM, Mordt TE, Roots I, Brockmoller J. Bupropion and 4-OH bupropion pharmacokinetics in relation to genetic polymorphisms in *CYP2B6*. *Pharmacogenetics.* **2003**; 13: 619-26.
83. Lamba V, Lamba J, Yasuda K, Strom S, Davila J, Hancock ML, Fackenthal JD, Rogan PK, Ring B, Wrighton SA, Schuetz EG. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to *CYP2B6* genotype and *CAR* (constitutive androstane receptor) expression. *J Pharmacol Exp Ther.* **2003**; 307: 906-22.
84. Crettol S, Deglon JJ, Besson J, Croquette-Krokkar M, Gothuey I, Hammig R, Monnat M, Huttemann H, Baumann P, Eap CB. Methadone enantiomer plasma levels, *CYP2B6*, *CYP2C19*, and *CYP2C9* genotypes, and response to treatment. *Clin Pharmacol Ther.* **2005**; 78: 593-604
85. Haas DW, Smeaton LM, Shafer RW, Robbins GK, Morse GD, Labbe L, Wilkinson GR, Clifford DB, D'Aquila RT, De Gruttola V, Pollard RB, Merigan TC, Hirsch MS, George AL Jr, Donahue JP, Kim RB. Pharmacogenetics of long-term responses to antiretroviral regimens

containing Efavirenz and/or Nelfinavir: an Adult Aids Clinical Trials Group Study. *J Infect Dis.* **2005**; 192: 1931-42.

86. Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, Gulick RM, Clifford DB, Hulgand T, Marzolini C, Acosta EP. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS.* **2004**; 18: 2391-400.
87. Tsuchiya K, Gatanaga H, Tachikawa N, Teruya K, Kikuchi Y, Yoshino M, Kuwahara T, Shirasaka T, Kimura S, Oka S. Homozygous *CYP2B6**6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing regimens. *Biochem Biophys Res Commun.* **2004**; 319: 1322-6.
88. Zhang W, Kilicarslan T, Tyndale RF, Sellers EM. Evaluation of methoxsalen, tranlycypromine, and tryptamine as specific and selective *CYP2A6* inhibitors in vitro. *Drug Metab Dispos.* **2001**; 29(6): 897-902
89. Jacob RM, Johnstone EC, Neville MJ. Identification of *CYP2B6* sequence variants by use of multiplex PCR with allele-specific genotyping. *Clin Chem.* **2004**; 50: 1372-7.
90. Hiratsuka M, Takekuma Y, Endo N, Narahara K, Hamdy SI, Kishikawa Y, Matsuura M, Agatsuma Y, Inoue T, Mizugaki M. Allele and genotype frequencies of *CYP2B6* and *CYP3A5* in the Japanese population. *Eur J Clin Pharmacol.* **2002**; 58: 417-21.
91. Ariyoshi N, Miyazaki M, Toide K, Sawamura Yi, Kamataki T. A single nucleotide polymorphism of *CYP2B6* found in Japanese enhances catalytic activity by autoactivation. *Biochem Biophys Res Commun.* **2001**; 281: 1256-60.
92. Guan S, Huang M, Chan E, Chen X, Duan W, Zhou SF. Genetic polymorphisms of cytochrome *P450 2B6* gene in Han Chinese. *Eur J Pharm Sci.* **2006**; 29: 14-21
93. Tong K, He ML, Lin CK, Guo L, Kung HF, Sung JJ, Lee SS. The implications of a high allelic frequency of *CYP2B6* G516T in ethnic Chinese persons. *Clin Infect Dis.* **2006**; 43: 541-2.
94. Penzak SR, Kabuye G, Mugenyi P, Mbamanya F, Natarajan V, Alfaro RM, Kityo C, Formentini E, Masur H. Cytochrome *P450 2B6* (*CYP2B6*) G516T influences nevirapine plasma concentrations in HIV-infected patients in Uganda. *HIV Med.* **2007**; 8(2): 86-91.
95. Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Ohno A, Makino Y, Matsushima E, Hanioka N, Ando M. Functional characterization of cytochrome *P450 2B6* allelic variants. *Drug Metab Dispos.* **2003**; 31(4): 398-403.
96. Hiratsuka M, Takekuma Y, Endo N, Narahara K, Hamdy SI, Kishikawa Y, Matsuura M, Agatsuma Y, Inoue T, Mizugaki M. Allele and genotype frequencies of *CYP2B6* and *CYP3A5* in the Japanese population. *Eur J Clin Pharmacol.* **2002**; 58(6): 417-21.

97. **Lang T, Klein K, Fischer J, Nussler AK, Neuhaus P, Hofmann U, Eichelbaum M, Schwab M, Zanger UM.** Extensive genetic polymorphism in the human *CYP2B6* gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*. **2001**; 11: 399-415.

98. **Klein K, Lang T, Saussele T, Barbosa-Sicard E, Schunck WH, Eichelbaum M, Schwab M, Zanger UM.** Genetic variability of *CYP2B6* in populations of African and Asian origin: allele frequencies, novel functional variants, and possible implications for anti-HIV therapy with efavirenz. *Pharmacogenet Genomics*. **2005**; 15: 861-73.

99. **Rodriguez-Novoa S, Barreiro P, Rendon A, Jimenez-Nacher I, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V.** Influence of 516G>T polymorphisms at the gene encoding the *CYP450-2B6* isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clin Infect Dis*. **2005**; 40: 1358-61.

100. **Kobayashi K, Chiba K, Yagi T, Shimada N, Taniguchi T, Horie T, Tani M, Yamamoto T, Ishizaki T, Kuroiwa Y.** Identification of cytochrome P450 isoforms involved in citalopram N-demethylation by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther*. **1997**; 280(2): 927-33.

101. **Poncz M, Solowiejczyk D, Harpel B, Mory Y, Schwartz E, Surrey S.** Construction of human gene libraries from small amounts of peripheral blood: Analysis of beta-like globin genes. *Hemoglobin*. **1982**; 6: 27.

102. **Haga H, Yamada R, Ohnishi Y, Nakamura Y, Tanaka T.** Gene-based SNP discovery as part of the Japanese Millennium Genome Project: identification of 190,562 genetic variations in the human genome. Single-nucleotide polymorphism. *J Hum Genet*. **2002**; 47(11) :605-10.

103. **Sahu GR, Das BR.** Prognostic significance of p53 and Bcl-2 in acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Rep*. **2002**; 9(6): 1391-8.

104. **Rego MF, Pinheiro GS, Metze K, Lorand-Metze I.** Acute leukemias in Piaui: comparison with features observed in other regions of Brazil. *Braz J Med Biol Res*. **2003**; 36(3): 331-7.

105. **Kurekci AE, Atay AA, Demirkaya E, Sarici SU, Ozcan O.** Immune thrombocytopenic purpura in a child with acute lymphoblastic leukemia and mumps. *J Pediatr Hematol Oncol*. **2006**; 28(3): 170-2.

106. **Xu BY, Guo LP, Lee SS, Dong QM, Tan Y, Yao H, Li LH, Lin CK, Kung HF, He ML.** Genetic variability of *CYP2B6* polymorphisms in four southern Chinese populations. *World J Gastroenterol*. **2007**; 13(14): 2100-3.

107. **Aydin-Sayitoglu M, Hatirnaz O, Erensoy N, Ozbek U.** Role of *CYP2D6*, *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTT1* and *GSTM1* genes in the susceptibility to acute leukemias. *Am J Hematol*. **2006**; 81(3): 162-70.

ÖZGEÇMİŞ

30 Ağustos 1979 tarihinde Mersin’de doğdu. İlkokulu Mersin’de Barbaros İlkokulu’nda, orta ve liseyi İçel Anadolu Lisesi’de tamamladı. 1998 yılında girdiği İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü’nden 2002 yılında mezun oldu. 2003-2004 yılları arasında Ağrı’da bulunan 12. Mekanize Piyade Tugayı’nda vatani hizmetini yaptı. 2004 yılında Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen aynı bölümde yüksek lisans öğrencisi olarak devam etmektedir.