

# Genetik Polimorfizm ve Polimorfizm Çalışmaları

Filiz EMİR<sup>1</sup>, Ali ÖZDEN<sup>2</sup>

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hepatoloji Enstitüsü<sup>1</sup>, Gastroenteroloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara

**D**ünyada, biyokimyasal maddelerin birleşerek ilk canlı yapı oluşturduğu günden beri, bu canlı hayatın kendi yaşamını sürdürebilmesi ve nesilden nesile geçişi için kalıtsal bir yapı gerekmektedir. Kalıtsal yapının ne olduğu, içerdiği bilgiyi yeni kuşaklara nasıl aktardığı, bilginin nasıl ifade bulunduğu bilimadamlarının kafasında soru işaretleri uyandırmış ve çalışmalarını bu sorulara göre yönlendirmişlerdir.

Açık haldeki uzunluğu iki metreyi bulmasına rağmen, hücre çekirdiği gibi mikronlarla ölçülen bir yapı içerisinde, proteinlerle paketlenmiş olarak bulunan DNA (deoksiribonükleik asit), RNA virusleri haricinde, tüm türlerin hayati işlevsel ve kalıtsal materyalidir. DNA üzerinde yer alan ve binlerce nükleotid uzunluğundaki bölgelere "gen" denilmesi 1900'lerin ilk yansını bulmasına rağmen, genin fonksiyonu ile ilgili ilk araştırma 1800'lü yıllarda başlamıştır. Avusturyalı din adamı Gregor Mendel, manastırının bahçesinde yıllarca çalışmış, farklı bezelye varyetelerini melezlemiştir. Dikkatli kayıtlar tutarak, melezlerin döllerini saymış, bezelye şekli, çiçek rengi, bitki yüksekliği gibi özelliklere bakarak genlerin fenotipik ekspresyonunu incelemiştir. Dikkatli gözlem, doğru kayıt tutarak verileri dikkatlice analiz etmiş ve her bir bitkinin erkek ve dişi ebeveynlerinin döllerine kalıtım üniteleri veya faktörlerin varlığı teorisini ortaya koymuştur. 1884 yılında Mendel öldüğü zaman çalışmasının değerini kimse bilmiyordu. Mendel'in bulunduğu faktör veya kalıtım ünitelerinin gen olduğu 1900'lü yıllara kadar anlaşılamadı. 1900'lü yıllarda Mendelin çalışmalarının yeniden keşfinden sonra genin

doğası hakkında büyük bir bilgi patlaması olmuştur. Biyoloji alanında çalışan bilim adamları, hücredeki çekirdek ve kromozomun önemi üzerinde durdular. Çünkü gözlemlerde, kromozomlar yumurta ve polen/spermi oluşturmak üzere mayoz esnasında sayısını yarıya indiriyor ve sadece bölünme sırasında görülüyordu. Bu sebeple DNA moleküllerinin nasıl faaliyete geçerek organizmaları ürettiklerini anlamak için birçok çaba sarf edildi. Amerikalı James Watson ve İngiliz Francis Crick birkaç biyolog araştırmacıyla 1953 yılında DNA'nın çift heliks yapısını incelediler. DNA kavramı yaşamın geleneksel dili olduğu bakterilerde, mantarlarda, bitki ve hayvanlarda yapılan çalışmalarla ortaya konuldu. Yaşayan organizmalar arasında yer alan bu ilişki biyoteknoloji ve genetik mühendislik biliminin gelişimine neden olmuştur. Mühendislik teknolojisi, bitki ve hayvanları geliştirmek için yaşayan diğer organizmaları ve canlıların kısımlarını kullanmıştır. 1970 yıllarında, araştırmacılar DNA'nın bir canlıdan kesilerek diğer canlıya yerleştirebileceklerini böylece rekombinant DNA teknolojisini buldular. Bu şekilde insülin, hormon, interferon ve TPA (doku plasminogen aktivatör) gibi ilaçları tıp dünyasına sundular. İnsan gen terapisi yöntemiyle genleri hasarlı olan veya eksik olan fertlere gen nakli gerçekleştirilmiştir.

Gen haritalaması yöntemiyle, genlerin kromozomları üzerinde bulunduğu yerler (lokus) gösterilmiştir. Böylece insan genomunun anatomisi ortaya çıkarılmıştır. Pek çok genin ve diğer genetik markerların birbirlerine göre bir kromozom boyunca diziliş sırasının haritalanmasıyla bir kromozomun

haritasını veya tüm genom haritasını çıkarmak mümkündür. Bu haritalama, insan gen fonksiyonlarının bilinmesi için gereklidir. Böylece insan genetik hastalıklarının heterojenite ve segregasyon analizleri bu bilgiler ışığında yapılabilecek ve gen tedavisi gerçekleştirilebilecektir.

Yirminci yüzyılın başında, genetik bilimiyle ilgili olarak hiçbir bilgiye sahip olmayan bilimadamları, küçük parçaları bir araya getirerek büyük bilgilere ulaşmış, yüzyılın sonunda da "insan genom projesi"ni başlatmışlardır. Projedeki amaç insan genomunu oluşturan DNA'nın tüm dizisini çıkarmaktı ve koordinasyonu Amerika Birleşik Devletlerinde DOE (Department of Energy) ve NIH (National Institutes of Health) tarafından üstlenilmiştir.

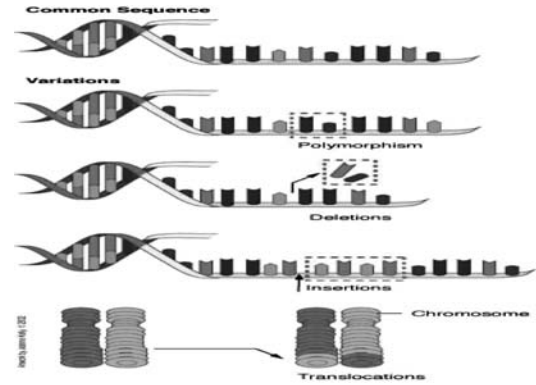
İnsan genomuyla ilgili bilinmeyenlerin aydınlatılması, insanla doğrudan bağlantılı diğer bir sektörün hızla ilerlemesine ve büyük atılımlar yapmasını sağlamıştır. Bu da ilaç sektörü ve ilaç araştırmalarıdır. Şu anda insan genomunun A-C-T-G kodlarından oluşan dizisi tamamlanmaya çalışılıyor. Ancak, bu kodların diziliş sırasını bulmak için sadece başlangıcı. Önemli olan, bu dizi ne anlama geliyor, hangi dizi bölgesi hangi koşul ve zamanda faaliyete geçip protein sentezlenmesini sağlıyor, bunu bilebilmek. Yani genomla ilgili çalışmalar, "proteomik" araştırmalar ile anlam kazanmaya başlıyor. Özellikle ilaç geliştirme araştırmaları açısından, genlerin hastalıklarla olan ilişkisini bilmek önemlidir.

İnsandan insana genom farklılıkları (polimorfizm), immün cevabın ve ilaç etkinliğinin kişiden kişiye değişmesinin, insanların hastalıklara karşı yatkınlıklarının gerçek nedeni olarak gösterilmektedir.

Normal bir popülasyonda bir karakter için iki veya daha fazla fenotip bulunuyorsa ve fenotiplerden her biri popülasyonda %1'den daha büyük sıklıkla görülüyorsa bu duruma genetik polimorfizm denir. Bulunma sıklığı %1'den daha az olursa genetik mutasyon adı verilir.

#### Popülasyon İçerisindeki Polimorfizmlerin Bazı Oluş Nedenleri Vardır. Bunlar (Şekil 1):

• **Tek Nükleotid Değişimi (Single Nucleotide Polymorphism - SNP):** DNA dizisinde her 2000-2500 bazda bir tek baz farklılığı gözlenir. Bu da aynı tür içerisinde genom farklılığının bir göstergesidir. Tek nükleotid değişim polimorfizminin bazı alt grupları vardır.



Şekil 1. DNA'da meydana gelen polimorfizme neden olan olaylar

**Transisyon:** Dizi içindeki bir pürin bazının (A, G) diğer bir pürin bazına veya bir pirimidin bazının (T, C) diğer bir pirimidin bazına dönüşmesine transisyon denir.

A, G → G, A

C, T → T, C

**Transversiyon:** Dizi içindeki bir pürin bazının (A, G) bir pirimidin bazına (T, C) veya bir pirimidin bazının bir pürin bazına dönüşmesine transversiyon denir.

A, G → T, C

T, C → G, A

• **Delesyonlar:** DNA dizisi içerisinde nükleotidlerin kırılıp-ayrılması, genin normal uzunluğundan daha kısa olmasına neden olur. Eğer bu gen, protein kodlayan yapısal bir gense, proteinin aminoasit dizisinde azalma olur ve proteinde fonksiyon bozukluğu görülür.

• **İnsersiyon:** DNA içerisine nükleotidlerin eklenmesi, genin normal uzunluğundan daha uzun olmasına neden olur. Bu protein kodlayan bir gen ise, proteinin aminoasit dizisinde artma olur.

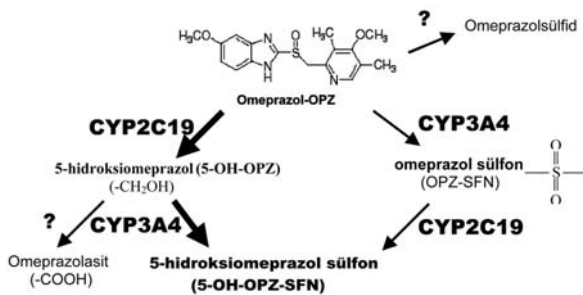
Farmakogenetik, klinik farmakolojinin alanlarından birisidir. Genetik faktörlerin ilaca karşı verilen cevabı nasıl etkilediğini araştırır. Eğer kalıtsal olan bu özellikler bilinirse, ilaç tedavisine başlamadan önce hastaya en uygun ilacı, ilacın dozajını ve kişinin tolere edebileceği dozajı bulmakta kullanılabilir. Bugün, gerekli dozajla ilacı metabolize eden enzimlerin genetik varyantları arasında ilişkinin olduğu bilinmektedir. Örneğin; sitokrom P450 (CYP)2D6 ve CYP2C19 ya da ilaç taşıyıcı p-glikoproteinler üzerinde en çok çalışılan ve bilinenleridir. Eğer enzimatik aktivitede yokluk veya eksiklik

varsa, standart dozla başlayan ilaç tedavisi yan etki gösterebilmektedir. Bazen ilaca verilen cevap; yüksek konsantrasyonda daha kötü olabilir, örneğin; *Helicobacter pylori* eradikasyonunda proton pompa inhibitörleri, CYP2C19'un yetersiz olduğu hastalarda daha etkili sonuç vermiştir. Famakogenetik açıdan proton pompa inhibitörleri üzerine CYP2C19 polimorfizminin etkisi ve SERT (5-HTT) polimorfizmleri ile IBS (irritable bowel syndrome) arasındaki bağlantı tanımlanarak polimorfizm çalışmaları örneklendirilecektir.

Proton pompa inhibitörleri (PPI); omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, esomeprazol ve pantoprazol kullanılan asit inhibitör ilaçlardır. Bunlar ince barsakta emildikten sonra sistemik dögüye girer, gastrik paryetal hücrelere ulaşır, burada proton pompalarına ( $H^+/K^+$ -ATPaz) bağlanır. Proton pompalarının fonksiyonlarını etkisiz hale getirir ve güçlü asit inhibisyonuna neden olurlar. Proton pompa inhibitörlerinin en önemli ve yaygın kullanım alanları, asitle ilişkisi olan hastalıklardır. Örneğin; Peptik ülser, gastro-özofageal reflü hastalıklarında (GERD) ve Zollinger Ellison sendromu gibi. PPI'leri aynı zamanda *Helicobacter pylori* eradikasyonunda amoksisilin ve klaritromisin antibiyotikleri ile birlikte kullanılır.

Proton pompa inhibitörlerinin hepatik metabolizmasında sitokrom P450 (CYP) sistemi görev alır. Proton pompa inhibitörlerinin metabolizmasındaki en önemli enzim CYP2C19'dur. CYP2A4 ise metabolizmadaki diğer enzimdir (Şekil 2).

CYP2C19'deki polimorfizmler, proton pompa inhibitörlerinin farmakogenetiğinde ve farmakodinamisinde etkilidir. Bu noktada asıl amaç, CYP2C19'un genetik polimorfizmlerinin, proton pompa inhibitör metabolizması üzerindeki etkilerini bulmak ve klinik tedavide; proton pompa inhibitör tabanlı tedavisi olan gastro-özofageal reflü hastalığı ve *H. pylori* enfeksiyonları için en etkili tedavi dozajını hesaplamaktır.



Şekil 2. Omeprazol -OP2'nin metabolizması

**CYP2C19:** Bu enzimin ilk sınıflandırılması fenotipleri üzerinden olmuştur. Fenotipik olarak yaygın metabolizör (EM) ve zayıf metabolizör (PM) olmak üzere ikiye ayrılır. Enzim aktivitesi ve genetik analizler arasındaki bağlantı ortaya çıktıktan sonra enzim üç genotipik gruba ayrılmıştır. Hızlı metabolizör (RM) grup, orta metabolizör (IM) grup ve zayıf metabolizör (PM) grup olmak üzere sınıflandırılır. Hızlı metabolizörlerde (RM); her iki allelin CYP2C19 genini kodlayan bölgelerinde mutasyon yoktur yani yabancıl tiptedir (wt: wild type). Kodlanan enzim normaldir (wt/wt). Orta metabolizörlerde (IM); allellerin birinde CYP2C19 genini kodlayan bölgede mutasyon varken (m), diğerinde mutasyon yoktur. Normal olarak kodlanan enzimde fonksiyon eksilmesi görülür. (wt/m). Zayıf metabolizörlerde (PM) ise; her iki allelin CYP2C19 genlerinde mutasyon vardır ve iki mutant allel normal enzim kodlayamaz (m/m). Enzim aktivitesinde eksiklikle sonuçlanır. Bu enzimin zayıf metabolizörlerinin (PM) yüzdesi etnik gruplar arasında farklılık gösterir: Beyaz Amerikan populasyonunda %2,5; Afrika-Amerikan populasyonunda %2; Beyaz Avrupa populasyonunda %3-5; Çin-Moğol populasyonunda %13, 4 ve Japon populasyonunda %18-22, 5'dur.

## CYP2C19 POLİMORFİZMLERİNİN PROTON POMPA İNHİBİTÖRLERİNİN (PPI) FARMAKOKİNETİĞİ VE FARMAKODİNAMİĞİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Omeprazol'un 20 mg tek dozda verildiği zaman, plazmadaki omeprazol konsantrasyonu CYP2C19'un üç farklı genotipine (RM, IM, PM) göre değişmektedir. Zayıf metabolizör gruptaki (PM) plazma omeprazol düzeyi uzun süre yüksektir. Buna karşın 5-hidroksiomeprazol düzeyi zayıf metabolizörlerde (PM), hızlı (RM) ve orta (IM) metabolizörlere göre daha düşüktür. PM'lerde omeprazolün sülfoksidasyonu ve omeprazol sülfonun, 5-hidroksiomeprazol sülfona metabolize olması gerçekleşmez. Çünkü bu grupta enzim eksiktir. İlginç bir şekilde, zayıf metabolizörlerde (PM); omeprazolün hidroksilasyonu CYP3A4 enzimi ile gerçekleşir. PM'lerin plazma konsantrasyon-zaman eğrileri, hızlı metabolizörlerden yaklaşık 13 kez daha yüksektir. 20 mg omeprazol tek dozda verildiği zaman, intragastrik pH profilinde üç genotipte farklılık göstermektedir. Yirmidört saatlik intragastrik pH düzeyi hızlı metabolizör grupta düşük, orta metabolizörlerde orta seviyede, zayıf metabolizörlerde en yüksek seviyededir.

## PROTON POMPA İNHİBİTÖR TABANLI HELICOBACTER PYLORI ERADİKASYON TEDAVİSİ

*H. pylori* eradikasyonu, üst gastrointestinal hasarların giderilmesi için önemli bir stratejidir. Bu hastalıkların başında peptik ülser ve gastrik MALT'oma gelir. *H. pylori* eradikasyonunda yaygın olarak proton pompa inhibitörleri ve ilave olarak iki anti bakteriyel ajan kullanılır. Bunlar amoksisilin, klaritromisin'dir.

Birçok nedenden dolayı *H. pylori* eradikasyonunda proton pompa inhibitörleri anahtar ilacı oluşturur. Birincisi; proton pompa inhibitörleri, yüksek olan mide pH seviyesini nötral düzeye düşürür. Böylece antibiyotiklerin bozulmadan stabil kalmasını ve biyoyougunluk alanı sağlar. İkincisi; mide pH'nın nötral düzeyde olması *H. pylori*'nin hızla büyüme fazına ulaşmasını sağlar ve böylece bakterinin dışardan en fazla madde aldığı fazda antibiyotik alınımı artar dolayısıyla antibiyotiğe karşı duyarlılık artar. Üçüncü olarak; proton pompa inhibitörleri ile asit salgılanmasının baskılanması antibiyotik konsantrasyonunu artırır. Bu sayede proton pompa inhibitörleri anti-*H. pylori* etkisine sahiptir ve *H. pylori* eradikasyon tedavisinde vazgeçilmez bir yere sahiptir.

## HELICOBACTER PYLORI ERADİKASYONUNDA PROTON POMPA İNHİBİTÖRÜ/AMOKSİSİLİN KOMBİNASYON TEDAVİSİ İLE CYP2C19 POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

*H. pylori* eradikasyon tedavisinde iki hafta süresince; günde bir kez 20 mg omeprazol+günde dört kez 500 mg amoksisilin uygulanır. Eradikasyon yüzdeleri hızlı metabolizörlerde (RM) %30, orta metabolizörlerde %60, zayıf metabolizörlerde (PM) %100'dür. Bu da zayıf metabolizörlerde omeprazolun uzun süre plazma konsantrasyonlarının yüksek kalması sonucu, intragastrik pH uzun süre nötralize olarak kalır ve antibiyotiğin bakteri üzerine etkisi daha fazla ve uzun sürelidir. Zayıf metabolize eden kişilerde eradikasyon yüksektir.

## SEROTONİN TRAŞIYICI GEN (SERT-5HTT) POLİMORFİZMLERİ İLE İRRİTABLE BARSAK SENDROMU (İBS) ARASINDAKİ İLİŞKİ

Serotonin (5-hidroksitriptomin, 5-HT) kardiyovaskü-

ler sistem, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistemde etkin rol oynadığı bilinmektedir. Depresyon, sosyal fobi, migren, şizofreni, yeme bozuklukları, bulantı ve kusma gibi bir çok hastalığın etiolojisinde yer alır. Gastrointestinal motilite ve sekresyonların kontrolünde önemli anahtar rol oynar. Serotonin birincil olarak, barsak epitelyum hücre tabakasının enterokromafin (EC) hücrelerinden sentezlenir. Enterik nöronlarda (submukozada) az da olsa sentezlenir. Bu nöronların hücre gövdelerine ve sonlarına; çoklu alt tipe sahip serotonin reseptörleri yerleşmiştir.

Serotonin transporter (SERT) geni kromozom 17q11.1-q12'ye haritalanmıştır ve iki temel polimorfizme sahiptir. Birincisi SERT geni intron 2'de bulunan 15-18 bp'lik bir bölgenin farklı sayılarda tekrar etmesine bağlı "değişken sayıda aradışık tekrar" (Variable Number of Tandem Repeats: VNTR) polimorfizmi, diğeri promotör bölgede (5-HTT gene-linked polymorphic region: 5-HTTLPR) 20-22 bp'lik ikili tekrardan oluşan 44 bp'lik insersiyon/delesyon polimorfizmidir. Delesyon olan allel kısa (s) ile gösterilirken, insersiyon allel uzun (l) olarak gösterilir. Her iki allelde de insersiyon olmuş (l/l) genotipindeki homozigot uzun bireylerde, serotonin geri alınımı heterozigot uzun (l/s) ve homozigot kısa (s/s)'ya göre daha fazladır. Buda bir ya da iki allelin delesyona uğraması transkripsiyon düzeyinde dolayısıyla protein fonksiyonunda azalmaya neden olmakta, buda serotoninin geri alınımını azaltmaktadır.

Pata ve arkadaşları, s/s homozigot polimorfizminin kabızlık tipi İBS (kİBS), l/s heterozigot polimorfizminin dİBS için risk olduğunu göstermiştir. Camilleri ve arkadaşları, polimorfizmi olan (diyare) dİBS'lilerde alosetronun (5HT3- antagonist) daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca s/s homozigot polimorfizmi (kabızlık) kİBS'de daha sık gözlenmiştir.

Moleküler genetik alanındaki yakın dönemdeki gelişmeler, insan genomundaki bütün genleri, ilaç güvenliği ve etkinliğindeki çeşitliliklerle bağlantılı olarak ilaç metabolizması, ilaç hedefleri ve reseptör sonrası ikincil haberci sistemlerin genlerini de içerecek şekilde çalışmak için bulunmaz bir fırsat sunmaktadır. Farmakogenetik, klinik araştırmalar ve ilaç tedavilerinin sonuçlarındaki belirsizlikleri azaltacak ve ilaç toksisitesi riskini önemli ölçüde azaltacak rasyonel bir çaba sağlamaktadır. Bu yazıda, ilaçlarla yapılan farmakogenetik çalışmalara değinilmiştir.

---

## KAYNAKLAR

1. Roots I, Gerloff T, Meisel C, et al. Pharmacogenetic-based new therapeutic concepts. *Drug Metab Rev*: 2004 Oct;36(3-4):617-37.
2. Furuta T, Shirai N, Sugimoto M, et al. Influence of CYP2C19 pharmacogenetic polymorphism on proton pump inhibitor-based therapies. *Drug Metab Pharmacokin: Review*. 2005 Jun; 20(3); 153-67.
3. Klotz U, Schwab M, Treiber G. CYP2C19 Polymorphism and proton pump Inhibitors: *Basic Clin Pharmacol Toxicol*: 2004 Jul; 95(1): 2-8.
4. Yeo A, Boyd P, Lumsden S, et al. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut*. 2004 Oct; 53(10): 1452-8.
5. Dennis L. Murphy, Alicja Lerner, Gary Rudnick and Klaus-Peter Lesch. Serotonin Transporter: Gene, Genetic Disorders, and Pharmacogenetics: *Mol Interv*. 2004 Apr; 4(2): 109-23.
6. Pata C, Erdal M E, Deric E, et al. Serotonin transporter gene polymorphism in irritable bowel syndrome: *American Journal of Gastroenterology* Volume 97 Issue 7 Page 1780.
7. Saito Y A, Petersen GM, Locke G R, et al. The Genetics of Irritable Bowel Syndrome: *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005 Nov; 3(11): 1057-65.