



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TÜRK TOPLUMUNDA BAZI BİREYLERDE CYP1B1 GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ

**FARMASOTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Oğuz ADA**

**ANKARA
2020**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRK TOPLUMUNDA BAZI BİREYLERDE CYP1B1
GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ**

Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ

**FARMASOTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Oğuz ADA**

**ANKARA
2020**

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Türk Toplumunda Bazı Bireylerde CYP1B1 Gen Polimorfizminin İncelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ

Tarih: 23/10/2020

İmza:

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix

1. GİRİŞ

1.1. Ksenobiyotik Tanımı	1
1.2. Biyotransformasyon (Metabolizma)	1
1.2.1. Faz I Reaksiyonları	3
1.2.1.1. Oksidasyon	3
1.2.1.1.1. Mikrozomal Sitokrom P450 Reaksiyonları	3
1.2.1.1.2. Mikrozomal Olmayan (Nonmikrozomal) Oksidasyonlar	6
1.2.1.1.3. Ksenobiyotikler Ko-oksidasyonu	6
1.2.1.2. Redüksiyon	7
1.2.1.3. Hidroliz	8
1.2.2. Faz II Reaksiyonları	8
1.2.2.1. Glukuronik Asitle Konjugasyon	9
1.2.2.2. Sülfat Konjugasyonu (Sülfatasyon)	9
1.2.2.3. Metilasyon	10
1.2.2.4. Glutasyon Konjugasyonu ve Merkaptürik Asit Oluşumu	10
1.2.2.5. Açılasyon (Amid Sentezi)	11
1.3. Sitokrom P450 Enzim Sistemi (CYP)	11
1.3.1. Sitokrom P450' lerin Yapısı ve Lokalizasyonu	12
1.3.2. Sitokrom P450' lerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması	15
1.3.3. CYP Enzim Çeşitleri ve Görevleri	16
1.4. CYP1B1 Enzim Ailesi	17
1.4.1 CYP1B1 Geni	18
1.4.2. CYP1B Polimorfizmi	20
1.5. Karsinojen Metabolizması ve CYP1B1	23
1.5.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Metabolizmaları	24
1.5.2. Östrojen ve Metabolizması	27
1.5.3. Östrojen Aracılı Kanserler	28
1.5.3.1. Meme Kanseri	29
1.5.3.2. Endometriyum Kanseri	31
1.5.3.3. Yumurtalık Kanseri	33
1.5.4. Androjen Aracılı Kanserler	34
1.5.4.1. Prostat Kanseri	34
1.5.5. Hormon Aracılı Olmayan Kanserler	36
1.5.5.1. Akciğer Kanseri	36
1.5.5.2. Kolorektal Kanseri	38
1.5.5.3. Özofagus Kanseri	39
1.5.5.4. Larenks Kanseri	39

1.6. Glokom	40
1.7. Hipertansiyon	40
1.8. Çalışmanın Amacı	41
2. GEREÇ ve YÖNTEM	
2.1. Kullanılan Gereçler	42
2.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler	42
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	42
2.2. Örnekler	43
2.3. DNA İzolasyonu	43
2.4. Genotip Analizleri	43
2.4.1. <i>CYP1B1</i> *2 Arg48Gly (m1) ve Ala119Ser (m2) Polimorfizmlerinin Belirlenmesi	44
2.4.2. <i>CYP1B1</i> *3 Leu432Val Polimorfizminin Belirlenmesi	46
2.5. İstatistiksel Analiz	46
3. BULGULAR	
3.1. Çalışma Grubunun Özellikleri	47
3.2. <i>CYP1B1</i> *2 Polimorfizmine Ait Genotip Bulguları	48
3.3. <i>CYP1B1</i> *3 Polimorfizmine Ait Genotip Bulguları	56
4. TARTIŞMA	63
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	68
ÖZET	69
SUMMARY	70
KAYNAKLAR	71
EKLER	81
Ek 1: Anket Formu	81
Ek 2: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	83
Ek 3: Gönüllü Olur (Rıza) Formu	85
ÖZGEÇMİŞ	86

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı yürütmemde bilgi ve tecrübesiyle her zaman yanımda olan aynı zamanda laboratuvar çalışmalarında karşılaştığım her türlü olumsuzlukta desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet Oğuz ADA' ya anlayışı ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine teşekkür ederim. Tüm bu yoğun çalışma temposu içerisinde yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hiçbir zaman desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen değerli aileme ve eşim Hayati Solmaz' a sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

4-OHE ₂	4-hidroksiöstradiol
A	Adenin
AhR	Aril hidrokarbon reseptörü
Ala	Alanin
Arg	Arjinin
BPDE	Benzo[a]piren 7,8- diol,9,10- epoksit
bps	Baz çifti uzunluğu
C	Sitozin
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
CO	Karbonmonoksit
CoA	Koenzim A
COMT	Katekol- O-metiltransferaz
COX	Araşidonikasit siklooksijenaz
CYP-450	Sitokrom P-450
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	DNA Nükleotit Bazları
E ₂ - 3,4- SQ	Östradiol- 3,4- semikinin
E ₂ - 3,4-Q	Östradiol-3,4- kinon
E ₂	Östradiol
G	Guanin
Gly	Glisin
GST	Glutasyon-S-transferaz
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
kd	Kilodalton
Leu	Lösin
NADPH	Nikotinamid Dinükleotit Fosfat
NAT ₂	N-asetiltransferaz 2 enzimi
nm	Nanometre
P	Olasılık değeri

p53	Tümör Baskılayıcı Gen
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGH	Sentaz Prostoglandin Sentetaz
ROH	Hidroksillenmiş Substrat
Ser	Serin
SMA	S-adenozilmetiyonin
SULT	Sulfotransferaz
SULT	Sülfotransferaz
T	Timin
Tm	Erime sıcaklığı
TNP	Tek nükleotit polimorfizmi
UCT	Uridindifosfatglukoronozil transferaz
ul	Mikrolitre
uM	Mikromolar
Val	Valin
x ²	Ki-kare değişkeni

ŞEKİLLER

Şekil 1.1: Sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin akış yolu	4
Şekil 1.2: CO bağlı sitokrom P450 'nin absorbands spektrumu (Soret Piki)	12
Şekil 1.3: CYP' lerin porfirin halkası	13
Şekil 1.4: CYP450' lerin hücredeki konumları	14
Şekil 1.5: CYP1B1 enziminin adlandırılması	15
Şekil 1.6: CYP450 enzim çeşitleri ve karaciğerde bulunma oranları	16
Şekil 1.7: CYP450 enzimleri ve görevleri	17
Şekil 1.8: <i>CYP1B1</i> geni ve promotor yapısı	19
Şekil 1.9: PAH'ların etkisi ile <i>CY1A1</i> ve <i>CYP1B1</i> gen ifadesi	25
Şekil 1.10: Benzo[a]pyren in CYP1B1 ile metabolize edilmesi	26
Şekil 3.1. <i>CYP1B1</i> *2 142C →G (m1) (Arg48Gly) polimorfizminin belirlendiği yedi numuneye ait alele özgü PCR1 ürünleri	54
Şekil 3.2. <i>CYP1B1</i> *2 142C →G (m1) (Arg48Gly) polimorfizminin belirlendiği yedi numuneye ait alele özgü PCR2 ürünleri	55
Şekil 3.3. Real-time PCR ile genotip ayrımı için kullanılan erime sıcaklığı grafiği ile <i>CYP1B1</i> *3 polimorfizmine ait bazı bireylerin sonuçlar	62

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1: Haplotip olarak tanımlanmış <i>CYP1B1</i> nomenklatürü	21
Çizelge 1.2: 2014 yılı güncellenmiş haplotip olarak tanımlanmamış tek nokta mutasyonları	23
Çizelge 2. 1: <i>CYP1B1</i> *2 genotiplemesinde kullanılan primerler ve dizilimleri	45
Çizelge 2.2: <i>CYP1B1</i> *3 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan prob ve primerler ve dizilimleri	46
Çizelge 3.1: Çalışma grubunda bulunan bireylerin yaş ve cinsiyet özellikleri	47
Çizelge 3. 2: Bireylere ait <i>CYP1B1</i> *2 Arg48Gly(m1) genotip özellikleri ve cinsiyetleri	48
Çizelge 3.3: <i>CYP1B1</i> *2 genotiplerinin dağılımı	54
Çizelge 3. 4: Bireylere ait <i>CYP1B1</i> *3 Leu423Val genotip özellikleri ve cinsiyetleri	56
Çizelge 3.5: <i>CYP1B1</i> *3 genotiplerinin dağılımı	62
Çizelge 4.1: <i>CYP1B1</i> *2 polimorfizm sonuçlarının diğer ülkelerle karşılaştırılması	65
Çizelge 4.2: <i>CYP1B1</i> *3 polimorfizm sonuçlarının diğer ülkelerle karşılaştırılması	66

1. GİRİŞ

1.1. Ksenobiyotik Tanımı

Ksenobiyotik, canlı organizma tarafından üretilmeyen ve organizmada normal koşullarda bulunmayan organizmaya yabancı her türlü kimyasal maddedir. Toksikolojik açıdan önemli başlıca ksenobiyotikler; ilaçlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHlar), poliklorlubifeniller ve pestisitler gibi çeşitli yollarla vücuda giren veya çevreye sızan çeşitli çevresel kirleticilerdir (Aypak ve ark. 2009).

1.2. Biyotransformasyon (Metabolizma)

Ksenobiyotikler maruziyet sonrasında çeşitli yollardan organizmaya girerek dolaşıma katılır ve bazı kimyasal değişikliklere uğrayarak veya değişmeden vücuttan atılırlar (Özbay, L. 2012).

Çeşitli yollarla vücuda giren lipofilik özellikteki maddeler enzimler yardımıyla kimyasal reaksiyonlara girerler ve hidrofilik metabolitlere dönüşürler. Ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı her türlü değişime metabolizma adı verilir (Vural, N. 2005, s:43).

Biyotransformasyon sonucunda ksenobiyotikler daha az toksik bileşiklere dönüşebilecekleri gibi daha toksik bileşiklere de dönüşebilirler. Daha az toksik bileşiklerine dönüşüyorsa buna detoksifikasyon, daha az görülmekle beraber daha toksik bileşiklere dönüşmesine ise biyoaktivasyon denir. Biyotransformasyon sonucunda, DNA gibi hücresel makromoleküllere bağlanarak hücreye zarar veren metabolitler oluşur. Bu metabolitlerde kanser gibi ciddi hastalıklara ve doğumsal kusurlara neden olabilir.

Biyotransformasyon reaksiyonları 2 aşamada değerlendirilir. İlk aşama lipofilik karakterdeki bu bileşiklerin hidrofilik metabolitlerine dönüşmeleridir ki bu Faz I reaksiyonları olarak adlandırılır. Daha sonra bu hidrofilik özellikteki metabolitlerin vücuttan uzaklaştırılması gerekir ki, bu aşamaya da Faz II aşaması denir.

Biyotransformasyon reaksiyonları vücuttaki tüm organ ve dokularda meydana gelir. Ksenobiyotikleri metabolize eden enzimler akciğer, intestinal mukoza, karaciğer, deri, böbrek korteksi ve beyin dokularında yüksek oranda bulunur.

Karaciğer metabolizmadan sorumlu pek çok çeşit ve sayıda enzimi barındırdığı için biyotransformasyonun en temel organıdır. Karaciğer, beyin ve akciğer gibi organlarda bulunan bu enzimler hücrelerde büyük oranda endoplazmik retikulumda (mikrozomlarda) ya da sitozolde bulunmaktadır. Düşük miktarda da mitokondri, çekirdek ve lizozomlarda bulunurlar. Alkolleri, aminleri ve ksantinleri okside eden enzimler sitozolik enzimler olarak adlandırılırlar. Metabolizma reaksiyonları %90 oranında mikrozomal enzimlerle, %10 oranında ise sitozolik enzimlerle olur (Lang ve Pelkonen 1999; Rozman ve Klaasen 2001). Mikrozomal monooksijenazların en yaygın ve en önemli grubu sitokrom P450 enzim sistemidir (Anzenbacher ve Anzenbacherova 2001; Guéguen ve ark. 2006). Bu enzim grubunun insan vücudunda yüzlerce tip izozimi bulunmaktadır. Sitokrom P450 enzim sistemi hem proteini ve Fe^{+3} içerir. Endoplazmik retikulumdaki temel monooksijenazlardır. Mikrozom preparatlarının kimyasal olarak indirgenmesi ve karbonmonoksit maruz bırakılması ile bu preparatlarının 450 nm'de belirli bir pik göstermesi ile bu enzim grubu keşfedilmiştir. Adlandırılması bu şekilde gerçekleşmiştir.

Faz I reaksiyonları olan oksidasyon, hidroliz ve redüksiyon ve Faz II reaksiyonlarından glukoronidasyon mikrozomlarda meydana gelen reaksiyonlardır (Franklin ve Yost, 2000).

1.2.1. Faz I Reaksiyonları

Faz I reaksiyonları hidroliz, redüksiyon (indirgenme) ve oksidasyon (yükseltgenme) reaksiyonlarını içerir. Bu reaksiyonlar substrata bir fonksiyonel grubu (-OH, -NH₂, -SH veya -COOH) ekler ya da çıkartır ve genellikle hidrofilik özelliğinde sadece küçük bir artış ile sonuçlanır (Casarett&Doull's Toksikolojinin Temelleri, s: 79).

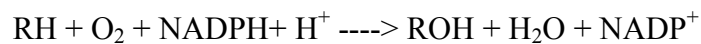
Bu reaksiyonlardan sonra molekül daha polar hale getirilerek, Faz II reaksiyonlarında konjugatlarının oluşması sağlanır (Rose ve Hodgson, 2004, 112).

1.2.1.1. Oksidasyon

1.2.1.1.1. Mikrozomal Sitokrom P450 Reaksiyonları

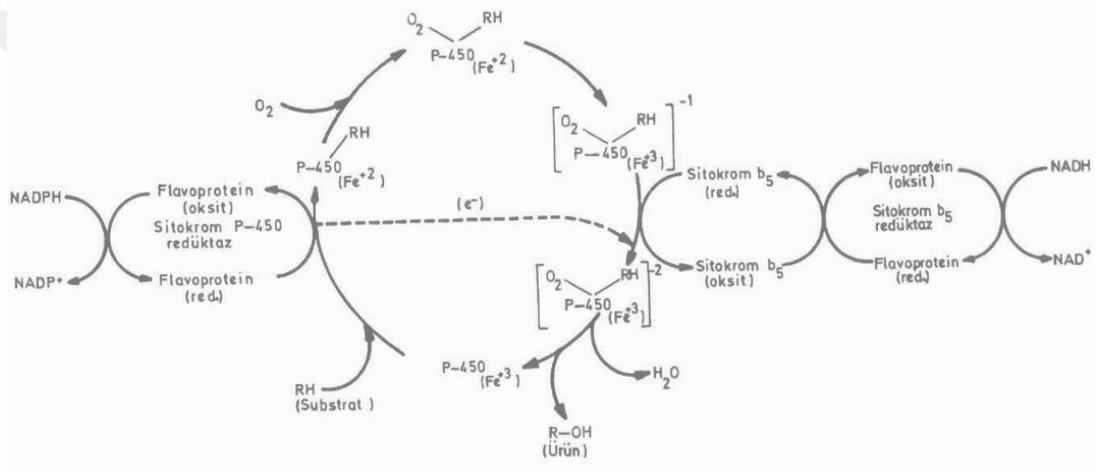
Sitokrom P-450 (CYP) monooksijenaz enzim sistemi, yağ asitleri ve prostaglandin gibi endojen maddeler ile diğer birçok doğal bileşiğin ve ayrıca karsinojenlerin, mutajenlerin ve ilaçların oksidatif metabolizmasından sorumlu çeşitli enzimlerden oluşan bir enzim grubudur. Bu enzimler 'hem- thiolate' yapısında protein enzimlerinden oluşur. Çoğunlukla bu çok basamaklı elektron taşıma zincirinde terminal oksidazlar olarak etki eder ve mikrozomal P450 enzim sistemleri olarak adlandırılırlar (Özerol, E. 1996).

CYP450 enzimleri, aşağıdaki denklemde de belirtildiği gibi substrata moleküler oksijenin bir atomunu aktarır ve yükseltgenmesini sağlar, oksijenin diğer atomunun su şeklinde redüksiyonuna yol açan reaksiyonları kataliz ederler



Genel olarak P450'ler reaksiyon döngüsüne girerler (Şekil 1.1). CYP450 ile katalizlenen reaksiyonlarda, hem molekülündeki demirin indirgenmesi, oksijenin

bağlanması ve ayrılması için iki elektron gerekir ancak bu mekanizmada küçük bir problem vardır. NADPH 'dan da CYP450'ye elektronlar transfer edilmektedir. Bir tek hem prostetik grubu olan CYP450, aynı zamanda sadece bir elektron kabul eder. Bu nedenle NADPH' dan CYP450 molekülüne elektron transferi yapan bir molekül iki elektron kabul edebilmeli ancak tek elektron vericisi olarak görev yapmalıdır. Elektronlar sitokrom P450 molekülüne tek tek transfer edilir (Schenkman, 1991). NADPH- sitokrom P450 redüktazdan sitokrom P450'ye elektron transferine lipidlerin yardımcı olduğu gösterilmiştir.



Şekil 1.1: Sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin elektron akış yolu

CYP' ler tarafından katalizlenen oksidasyon reaksiyonları:

1. Alifatik hidroksilasyon ve epoksidasyon: Düz zincirli alifatik bileşiklerde meydana gelen hidroksilasyon reaksiyonlarıdır ve bu reaksiyon sonucunda alkoller oluşur. Sikloheksanın trans-sikloheksan-1,2-diole oksitlenmesi bu reaksiyonlara örnek verilebilir.

2. Aromatik epoksidasyon ve hidroksilasyon: Bu reaksiyon türleri genellikle birbirini takip eder. Özellikle PAH'ların epoksitleri aktif ana metabolitleri olup

kanserojen özellik göstermektedir. Benzopirenin kanserojen aktif metaboliti olan 7,8-diol-9,10-epoksite dönüşümü bu reaksiyonlara örnektir. Benzopirenin karsinogenik metabolitinin oluşması CYP450 enzimleri (CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1) ile gerçekleştirilir. Bu etki CYP1B1 enziminin akciğer kanseri gelişimi üzerindeki etkisini açıklamaktadır. Aynı zamanda CYP1B1 enzimi etkisi ile östrojen ve testosteron gibi hormonların epoksidasyonu ve hidroksilasyonu meydana gelir. Bu reaksiyonlar ile oluşan metabolitler, meme, yumurtalık, endometriyum kanseri ve prostat kanseri gelişimine neden olurlar.

3. Dealkilasyon: Alkil grubunun bağlı bulunduğu atoma bağlı olarak N-dealkilasyon, O-dealkilasyon, S-dealkilasyon olarak isimlendirilir. Metoksiklor gibi insektisitlerde O-dealkilasyon görülürken, N-alkil karbamatlarda N-dealkilasyon ve birçok tiyoeterde ise S-dealkilasyon görülür.

4. N-hidroksilasyon: Amin yapısındaki ksénobiyotiklerin hidroksilamin veya oksim şekline dönüşmesidir. Anilin-fenilhidroksilamine dönüşmesi bu tepkimeye örnek verilebilir.

5. Deaminasyon: N-dealkilasyona benzer. Karbinol amin- imin – oksim üzerinden ketona dönüşmesi bu şekilde gerçekleşir.

6. S ve P oksidasyon: Tiyoeter grubu içeren insektisitlerin mikrozomal enzimlerle S-oksidasyon yolu ile tiyol yapısındaki kükürt, sülfoksit ve sülfona oksitlenmesidir. P-oksidasyon ise az bilinen bir oksidasyon şekli olup, difenilmetil fosfürün difenilmetilfosfüre okside olması bu reaksiyona örnek verilebilir.

7. Desülfürasyon ve ester kırılması: Fosforotiyonat ve fosforoditiyonat yapısındaki insektisitlerin bu etkilerini gösterebilmesi $P=S$ grubunun $P=O$ grubuna dönüşmesi ile mümkün olmaktadır.

8. Oksidatif dehalojenasyon: Organik halojen bileşiklerinde dehalojenasyon sonunda önce alifatik halohidrin oluşur daha sonra aldehit meydana gelir.

1.2.1.1.2. Mikrozomal Olmayan (Nonmikrozomal) Oksidasyonlar

Ksenobiyotiklerin metabolizmasında mikrozomal enzimlerin yanı sıra mitokondri ve sitoplazmada bulunan çeşitli enzimler de görev alır. Bu enzimlerin bazıları:

- a. Alkol Dehidrogenazlar
- b. Aldehit Dehidrogenazlar
- c. Amin Oksidazlar
 - Monoamin Oksidazlar
 - Diamin Oksidazlardır (Rose ve Hodgson, 2004, s:130-132)

Alkol ve aldehitlerin oksidasyonu

- Metanol → Formaldehit → Formik asit
- Etanol → Asetaldehit → Asetik asit

şeklinde gerçekleşir.

1.2.1.1.3. Ksenobiyotiklerin Ko-oksidasyonu

Siklooksijenaz yolunda prostaglandin sentezi için mikrozom zarından serbest hale gelen arasıdonikasitsiklooksijenaz (COX) PSH Sentaz (PGS) enzimi yardımıyla prostaglandinendoperoksit üzerinden PGG₂ 'a dönüşür. Bu dönüşüme kooksidasyon adı verilir.

COX, endoplazmik retikuluma ve çekirdek zarında zara bağlı halde bulunur. COX-1 ve COX-2 olmak üzere 2 şekli vardır. Aspirin COX-2 inhibisyonu yaparak

antienflamatuar etki, COX-1 inhibisyonu yaparak gastrointestinal hasar meydana getirir.

Kooksidasyon reaksiyonları sırasında bazı substratlar, serbest radikaller gibi daha sonra hücre protein ve DNA'sına bağlanarak toksik etki oluşturacak metabolitlerine dönüşebilir. Prostaglandin G₂ oluşumunu takiben metabolizma yolağında oluşan peroksit radikali de polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) da dahil olmak üzere pek çok substratın epoksitlenmesinden sorumludurlar. Bu epoksidasyon substratların toksisitesinin artmasına yol açarlar (Rose ve Hodgson, 2004, s:132-133).

1.2.1.2. Redüksiyon

Özellikle bağırsak bakterilerindeki redüktazlar, ince bağırsaktaki kimyasal maddeleri indirgeyebilirler. Memeli dokusunda da CYP'ler ve diğer sitokromlarla katalizlenen bazı tepkimeler dahil, indirgeyici tepkimeler rol oynar. Örneğin, aromatik nitro bileşikleri nitrozo, hidroksilamin veya amin basamaklarına indirgenebilir. Hidroksilaminler karsinojenik etkide rol oynadıkları için bunun toksikolojik önemi vardır, DNA katımları oluşturabilir (Mulder, G., Dencker, L. s: 52).

Redüksiyon reaksiyonları aşağıda verilmiştir:

- Nitro Redüksiyonları
- Azo Redüksiyonu
- Disülfid Redüksiyonu
- Keton ve Aldehit Redüksiyonu
- Sülfoksit Redüksiyonu

1.2.1.3. Hidroliz

Hidroliz reaksiyonları karboksilesteraz ve amidaz enzimleriyle meydana gelen reaksiyonlardır. Bu enzimler hem mikrozomlarda hem de mitokondrilerde bulunurlar.

Esteraz enzimleri, detoksifikasyon açısından çok faydalı reaksiyonlara neden olurlar. Esterazların türler arasında çalışma hızları farklı olduğundan seçici toksisite olayları görülebilir. Yani, bazı maddeler bazı türler için toksik özellik gösterirken, bazı türler için zararsızdır. Örn; atropin tavşanda atropinaz isimli esteraz tarafından hızla hidrolize edilir. Böylece toksifikasyon görülmez (Atropine rezistandırlar).

Hidroliz reaksiyonları aşağıda verilmiştir:

- Aromatik Ester Hidrolizi
- Karboksilester Hidrolizi
- Karboksilamid Hidrolizi
- Karboksiltiyoester Hidrolizi

1.2.2. Faz II Reaksiyonları

Faz I reaksiyonları sonucunda oluşan ve yapısında amino, hidroksil, epoksit ve hidroksil gibi fonksiyonel grupları içeren metabolizma ürünleri, endojen metabolitler olan glukuronik asit, metil grubu, asetil grubu, aminoasitler ve sülfat ile birleşerek vücuttan atılırlar. Oluşan bu bileşikler daha polar özellik kazanırlar ve atılımları daha kolay olur.

Faz II reaksiyonları aynı zamanda konjugasyon reaksiyonları olarak adlandırılır. Konjugasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesi için yüksek enerjili bir ara ürüne (konjugat) ihtiyacı vardır. Bu aktivasyon 2 şekilde meydana gelir; ya

konjugasyon maddesi önce aktive olur ve substrat ile birleşir ya da substrat aktive olur ve endojen konjugasyon maddesi ile birleşir.

Faz II reaksiyonları aşağıda verilmiştir:

- Konjugasyon reaksiyonları (Glukuronidasyon, sülfatasyon, glutatyon ve aminoasitle konjugasyon)
- Asetilasyon
- Metilasyon

1.2.2.1. Glukuronik Asitle Konjugasyon

Bu konjugasyon tipi pek çok bileşiğin elimine edilmesinde kullanılan majör yollardandır. Bu reaksiyonlar üridindifosfatglukuronoziltransferaz (UGT) adı verilen ve karaciğer mikrozomlarında, endoplazmik retikulumda, böbrek, bağırsak ve diğer dokularda bulunan enzim aracılığıyla katalize edilir.

Glukuronik asit konjugasyonu ile biyolojik ve kimyasal olarak daha az toksik maddeler oluşur. Bu şekilde pek çok ksenobiyotığın detoksifikasyonu sağlanmış olur. Bazı durumlarda ise oluşan metabolit DNA'ya bağlanma özelliğindedir. Böylece çeşitli toksik özellikler gösterir.

1.2.2.2. Sülfat Konjugasyonu (Sülfatasyon)

Sülfotransferaz (SULT) ve sülfataz enzim süperailisi tarafından gerçekleştirilen reaksiyonlardır. Bu konjugasyon pek çok fenolik bileşik ve arilaminlerin metabolizmasında önemli görevler alır. Sülfat konjugasyonu ile ksenobiyotikler, sülfat esterleri şeklinde suda çözünürlükleri artırılarak organizmadan atılmaya hazır hale getirilir.

Ksenobiyotiklerin sülfat konjugatları başlıca idrarla atılır.

1.2.2.3. Metilasyon

N-, S- ve O- metil transferaz enzimleri yardımıyla pek çok ksenobiyotik metillenir. En bilinen metil kaynağı metiyonin ve ATP den oluşan S-adenozilmetiyonin (SAM) dir. Metilasyon reaksiyonları diğer konjugasyon reaksiyonlarından farklı olarak oluşan metabolitlerin suda çözünürlüklerini azaltırlar. Buna rağmen detoksifikasyon reaksiyonları olarak kabul edilirler.

Başlıca metilasyon reaksiyonları: N-metilasyon, O-Metilasyon, S-Metilasyon ve elementlerin metilasyonudur.

1.2.2.4. Glutasyon Konjugasyonu ve Merkaptürik Asit Oluşumu

Glutasyon, glisin, sistein ve glutamik asitten oluşan bir tripeptittir. PAH' lar dahil çevresel kirleticilerin ve pek çok ksenobiyotiğin biyoaktivasyonu ile oluşan elektrofilik maddelerin konjugasyona uğrayarak vücuttan atılmasında görevlidir.

Ksenobiyotiğin konjugasyonunda ilk reaksiyon, glutasyonun nükleofilik sülfidril grubu ile elektrofilik sübstütientin, glutasyon-S- transferaz (GST) enzimleri aracılığıyla bu gruplar arasında tiyoeter bağı oluşturmaktır. Pek çok basamaktan sonra merkaptürik asit oluşumu gerçekleşir. Merkaptürik asit formları hem safra hem de idrar ile vücuttan uzaklaştırılır. Oluşan aktif metabolitler ile glutasyon konjugasyonu arasında bir kararlılık vardır. Bu kararlılık aktif bileşik dediğimiz toksik madde oluşumu yönünde bozulduysa toksisitenin artmasına sebep olur. Mutajenik ve karsinojenik etki görülmesine neden olur.

1.2.2.5. Açılasyon (Amid Sentezi)

Açılasyon reaksiyonları 2 şekilde meydana gelir.

- Asetilasyon
- Aminoasit Konjugasyonu

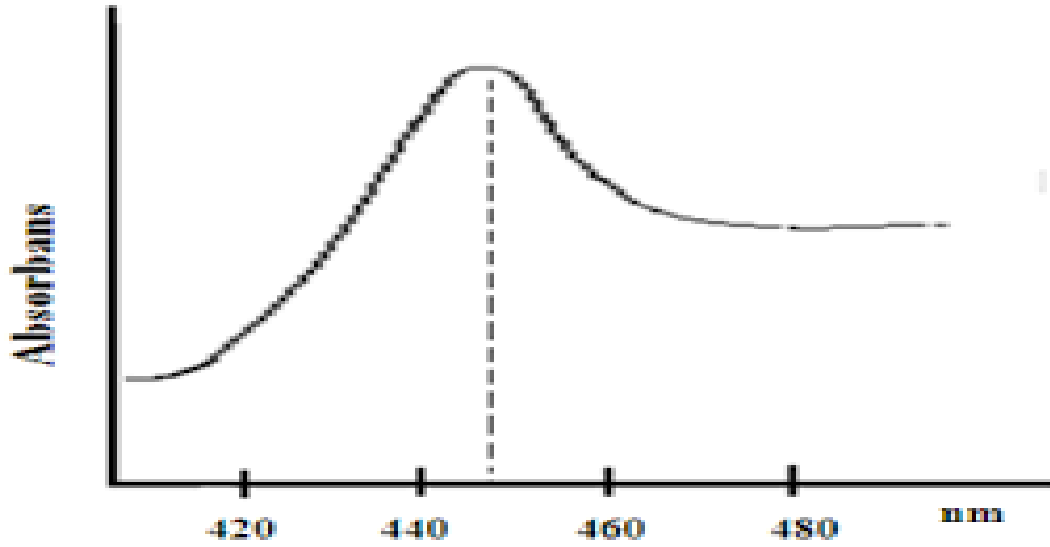
Birinci tip reaksiyonlarda koenzim A (CoA) ile asetil grubu aktive olur. Oluşan asetilCoA ksenobiyotik ile birleşir olur.

İkinci reaksiyonda ise; karboksilik asit ATP varlığında koenzim A yardımıyla S-CoA şeklinde aktive olur. Oluşan aktif bileşik vücutta bulunan çeşitli aminoasitlerin amino grubu asetile ederek konjugat oluşturur.

Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan konjugatlar ana bileşikten daha az suda çözünürlüğe sahip olmasına rağmen daha az toksiktirler.

1.3. Sitokrom P450 Enzim Sistemi (CYP)

1950’li yıllarda memeli dokularında non-polar ksenobiyotiklerin enzimler aracılığıyla okside olduğu bilinmesine rağmen henüz bu enzimlerin yapısı ve görevleri tam olarak bilinmemekteydi. Daha sonra yapılan çalışmalar ile bu enzimlerin yapısında ‘hem’ grubu taşıdığı ve bu enzimlerin uygun bir redüksiyon ajanına tabi tutulduğunda karakteristik karbonmonoksit (CO) kompleksi halini aldıkları anlaşılmıştır. 1958 yılında, sıçan ve domuz mikrozomal protein fraksiyonları üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, 450 nm civarında Soret piki (Şekil 1.2) veren, CO bağlı türlere özgü, membrana bağlı indirgenmiş pigment varlığını göstermiştir (Garfinkel, 1958; Klingenberg, 1958). Daha sonra bu enzim sistemi 450 nm de verdiği absorbans piki nedeniyle P450 hemoproteini olarak adlandırılmıştır (Omura ve Sato, 1961; Omura ve Sato, 1964).

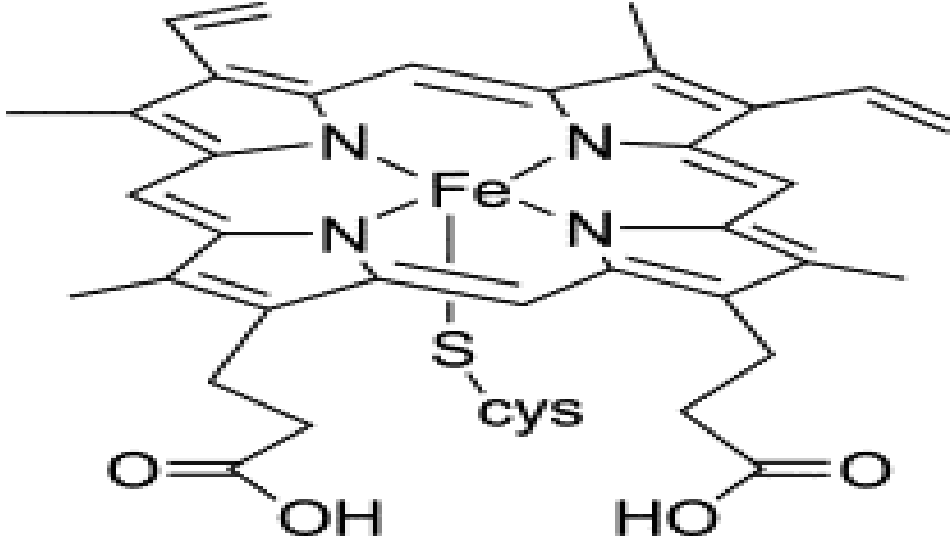


Şekil 1.2: CO bağılı sitokrom P450 'nin absorbans spektrumu (Soret Piki) (Ozerol, 1996)

450 nm'de gözlenen bu pikin, hem grubunda bulunan CO ligandı ve sisteinat arasındaki trans yönlenmeden kaynaklandığı düşünülmektedir (Dawson ve Sono, 1987). Sitokrom-P450 enzimleri tüm dokular ile başta karaciğer olmak üzere incebağırsak, plasenta, beyin, böbrek ve akciğerler gibi organların endoplazmik retikulumları üzerinde yer alırlar. Başta ilaçlar olmak üzere vücuda giren pek çok ksenebiyotikte bu enzimler tarafından metabolize edilirler.

1.3.1. Sitokrom P450'lerin Yapısı ve Lokalizasyonu

Sitokrom P450 enzimleri 45-60 kilodalton (kD) molekül ağırlığında, merkezinde demir atomu bulunan bir porfirin halkası bulunduran hemproteinleridir (Gorinova ve ark., 2005).



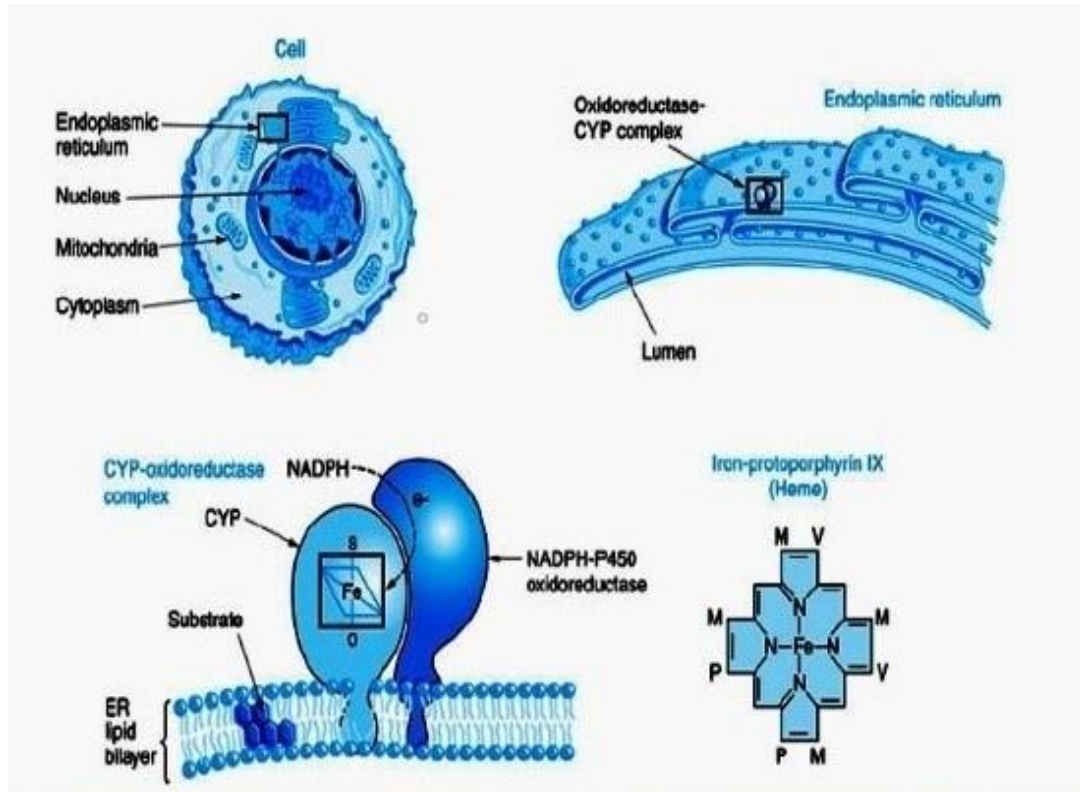
Şekil 1.3: CYP' lerin porfirin halkası

CYP proteinlerin yapısına bakıldığında merkezinde bir tek demir atomu içeren ve enzime bağlanan kısmı içeren bir bağlanma grubu bulunur ve meydana gelen hem proteininde hem bir oksijen hem de substratların bağlanabileceği yerler vardır. Tüm CYP' lerde porfirin halkası 4 nitrojen atomu ve 2 liganta bağlı bir hem demiri vardır. Yatay grupların birinde molekülün karboksil ucuna yakın yerleşmiş bir sistein kalıntısında bir sülfidril grubu bulunur.

Hem demiri iki farklı dönme durumunda bulunabilir: 1) hekza yerleşimde düşük dönme özellikli demir ve 2) penta yerleşimde yüksek dönme özellikli durumdadır. Düşük ve yüksek spinli durumlar demir atomunu çeviren elektronik tabakalar olarak tanımlanır ve hem'deki demir atomunu hekza halinde bulunma durumdan penta halinde bulunma duruma değiştirir. CYP molekülü bir substratla reaksiyona girdiğinde, bu elektronik tabakada farklılık meydana gelir ve hem'deki demir atomu hekza konumundan penta konumuna geçer. Substrata bağlı, penta koordine durum (-170 mV), substrata bağlanamayan hekza koordine duruma (-270 mV) göre daha fazla pozitif redüksiyon potansiyeli özelliği gösterdiği için CYP, NADPH'dan elde edilen elektronlarla indirgenebilir. Hemdeki demir atomunun ferrik (Fe^{3+}) halinden ferro (Fe^{2+}) haline indirgenmesi ile oksijenin hem demirine bağlanması sağlanır ve monoksijenaz reaksiyonları meydana gelir.

Monooksijenasyon reaksiyonunda toplam 2 elektron (e^-) gerekir. Elektronlar CYP molekülüne teker teker transfer edilir. Başlangıçta oksijen bağlanır ve daha sonra substratın reaksiyona katılabilmesi için aktif oksijen türleri oluşturarak ayrılır (Özerol, E. 1996).

Ökaryotik CYP 'lerin büyük çoğunluğu endoplazmik retikulum membranında (mikrozomal) ya da mitokontri membranında (mitokontrial) gömülü halde bulunur. Üçüncü CYP türü de sitozolik formda bulunur. Prokaryotlarda bulunan tüm CYP'ler sitozolik formdayken, ökaryot hücrelerde ise sitozolik form nadir olarak bulunur (Danielson, 2002). Genellikle taneciksiz (granülsüz) endoplazmik retikulum zarında bulunan CYP, N-terminal ucunda, sinyal peptiti oluşturan 20 civarında aminoasit barındırır (Moigin ve ark., 1990).

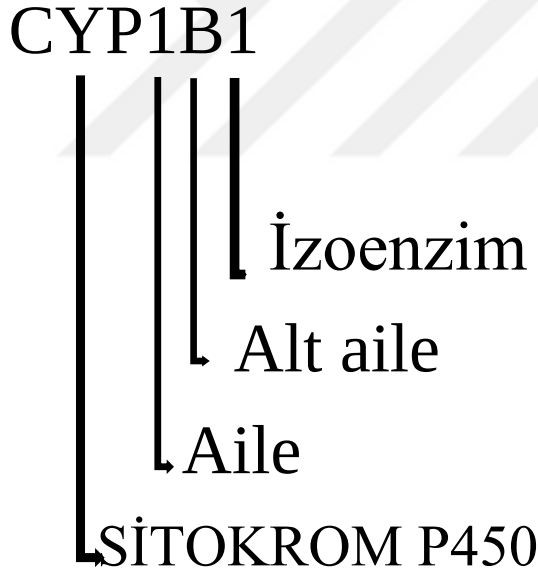


Şekil 1.4: CYP450' lerin hücredeki konumları (Gonzalez ve Tukey ,2006)

1.3.2. Sitokrom P450' lerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması

CYP enzim sisteminin adlandırılmasında öncelikle sitokrom kelimesinin kısaltması olan CY ve pigment kelimesinin kısaltması olan P harfi kullanılmıştır. Daha sonra 450 sayısı absorbands değerini belirtmek için kullanılmıştır. Daha önce belirtildiği gibi bu grup enzimler CO ile muamele edildiğinde en yüksek absorbands değerini 450 nm'de göstermiştir. Böylece bu enzimlerin ilk defa isimlendirilmesinde CYP450 ifadesi kullanılmıştır.

Daha sonra yapılan çalışmalarla bu grup enzimlerde farklı aminoasit sayısına sahip ve aktiviteleri farklılık gösteren farklı aile ve alt aile türlerine rastlanmıştır. Böylece 450 sayısının yanına aile ve alt aile belirtmek için farklı sayılar getirilmiştir.

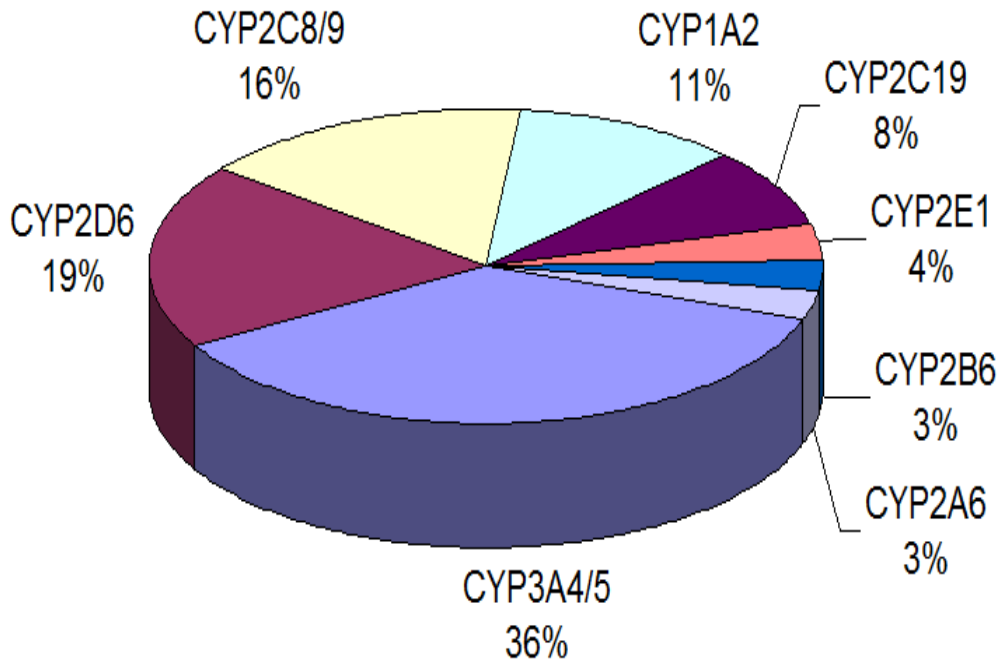


Şekil 1.5. CYP1B1 Enziminin Adlandırılması

CYP enzimlerindeki aminoasit dizilimi benzerliği %40' dan az ise farklı ailelere, aminoasit dizilimi %40-%55 arasında ise alt ailelere, aminoasit dizilimi %55' ten fazla ise aynı alt ailelerde farklı izozimlere ayrılırlar. Bu kurallara uygun olarak adlandırılan ilk CYP ailesi CYP1A'dır (Nelson ve ark., 1993).

1.3.3. CYP Enzim Çeşitleri ve Görevleri

İlaçlar ve diğer ksenobiyotiklerin metabolizmasında görev alan CYP enzim çeşitleri karaciğer örneği üzerinde Şekil 1.6 da verilmiştir. Özellikle CYP3A4 enzim ailesi başta ilaçlar olmak üzere pek çok ksenobiyotiğin metabolizmasından sorumludurlar.



Şekil 1.6: CYP enzim çeşitleri ve karaciğerde bulunma oranları (Haggstrom ,2014)

Aşağıda CYP çeşitleri ve görevleri verilmiştir (şekil 1.7). Fazla sayıda ve çeşitte CYP enzim ailesi olmasına rağmen metabolizmada özellikle CYP1, CYP2 ve CYP3 ailesi görev alır. İlaç ve ksenobiyotik metabolizmasında ise en büyük görev CYP3A4'e aittir.

CYP Ailesi	Fonksiyon
CYP1	İlaç ve steroid (özellikle östrojen) metabolizması
CYP2	İlaç ve steroid metabolizması
CYP3	İlaç ve steroid (testosteron dahil) metabolizması
CYP4	Araşidonik asit ve yağ asidi metabolizması
CYP5	Tromboksan A2 sentaz
CYP7	Safra asidi sentezi ve steroid 7 α hidroksilaz
CYP8	Safra asidi sentezi ve prostasiklin sentaz
CYP11	Steroid biyosentezi
CYP17	Steroid biyosentezi, 17 α hidroksilaz
CYP19	Steroid biyosentezi, aromataz
CYP21	Steroid biyosentezi
CYP24	Vitamin D katabolizması
CYP26	Retinoik asit hidroksilaz
CYP27	Safra asidi sentezi, Vitamin D sentezi (1 α hidroksilaz)
CYP39	24-OH-kolesterolün 7 α hidroksilasyonu
CYP46	Kolesterol 24-hidroksilaz
CYP51	Kolesterol sentezi

Şekil 1.7: CYP Enzimleri ve Görevleri

1.4. CYP1B1 Enzim Ailesi

CYP enzim sistemi yapısında demir atomu içeren, pek çok ilaç, steroid ve karsinojenin metabolizmasında görev alan bir enzim grubudur. CYP450 enzimleri daha çok karaciğerde bulunurken, CYP1B1 enzimleri ekstrahepatik dokular ve hücrelerde bulunur. CYP1B1'in yumurtalık, testis, adrenal bezler ve prostat, uterus ve meme dokusunda bulunması oldukça önemlidir. İmmünohistokimyasal çalışmalar göstermiştir ki, özofagus, beyin, akciğer ve meme kanseri vakalarında bu enzimi sentezleyen protein bu dokulardan izole edilmiştir (Hood ve ark., 2007).

CYP1B1 enzim sistemi ilk olarak keratinosit hücre dizisi içinde 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksin tarafından transkripsiyonel olarak indüklendiği belirlendiğinde yeni bir enzim olarak tanımlanmıştır (Sutter ve ark., 1994).

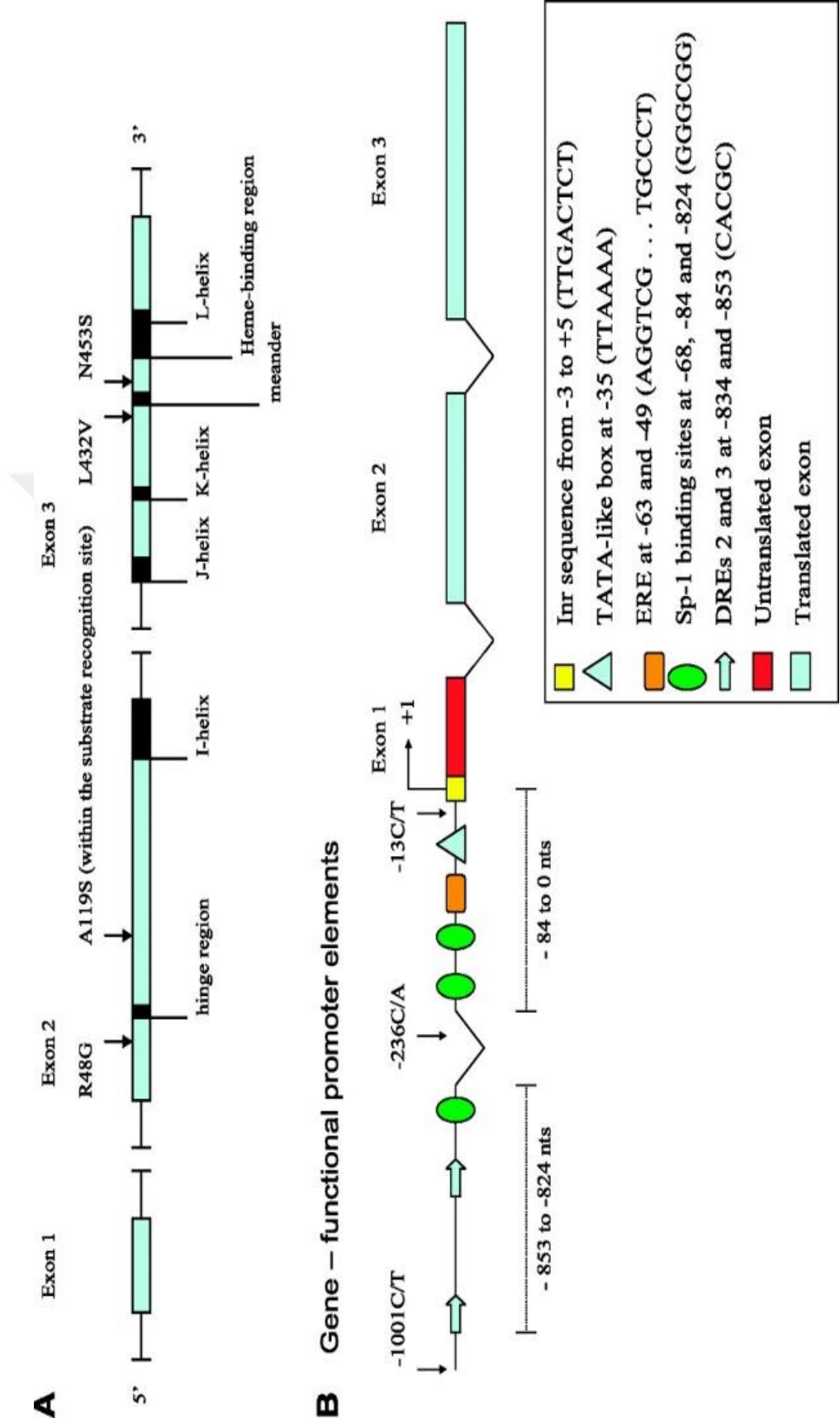
1.4.1. *CYP1B1* Geni

CYP1B1 enziminin kodlayan *CYP1B1* geni 2p21-22 kromozomu üzerine lokalize olmuştur. 3 ekzon (371, 1044 ve 3707 bp) ve 2 intron (390 ve 3032 bp) içerir. DNA uzunluğu 12 kilobaz (kbs) ve mRNA uzunluğu yaklaşık 5,2 kbs'dır. Açık okuma çerçevesi başlama yeri, 1629 baz çifti (bps) uzunluğunda olan ikinci eksondur ve 543 aminoasitten oluşan proteini kodlar (Tang ve ark., 1996). *CYP1B1*, 2,3,7,8-tetraklorohidrobenzo-p-dioksin veya dioksin tarafından transkripsiyonel olarak indüklenir ve östrojen reseptörü ve aril hidrokarbon reseptörünü (AhR) içeren bazı transkripsiyonel anahtarlar sayesinde düzenlenirler (Zhang ve ark., 2013).

Normal dokularda, *CYP1B1* sitoplazmik AhR ile 2,3,7,8-tetraklorobenzo-p-dioksin bağlanır ve AhR, heatshock protein -90, XAP2 ve p23 proteinleri ile aktive olur. Bağlanmanın ardından AhR kompleksi yerini değiştirerek nükleusa geçer ve dimerizasyon partneri olarak bilinen ARNT'ye bağlanır. Aktive olmuş AhR/ARNT heterodimer kompleksi ksenobiyotik duyarlı element (XRE) olarak bilinen spesifik DNA encahcer dizilim, *CYP1A1* ve *CYP1B1* gibi dioksin duyarlı genleri indüklemek üzere bağlanır (Wo ve ark., 1997). Transkripsiyonel regülasyonun, *CYP1B1* pozitif tümör vakalarının tedavisinde önemli olduğu düşünülmektedir (Sissung ve ark., 2006).

AhR'nin 'antiöstrojenik etkinlik' gibi biyokimyasal ve toksik cevaplardaki görevi konusunda yoğun çalışmalar yapılmıştır. Moleküler epidemiyolojik çalışmalar östrojen metabolizmasında yer alan enzimlerin polimorfik değişiklikleri ile hormonal kanser riski arasındaki ilişkinin giderek arttığı belirtilmektedir.

CYP1B1'in uzama bölgesi (-5298 den -5110) iki tane cAMP'ye duyarlı elementlerle (CRE1 ve CRE2) etkileşen birkaç tane steroidogenetik faktör 1 içerir. Özellikle adrenal bezlerde, testiste ve yumurtalık gibi yerlerde cAMP sinyal transdüksiyon yolu önemlidir (Sissung ve ark., 2006).



Şekil 1.8: *CYP11B* geni ve promotor yapısı (Sissung ve ark. 2006)

1.4.2. *CYP1B1* Polimorfizmi

CYP1B1 'in polimorfik olduğu bilinmektedir. *CYP1B1* polimorfizmi pek çok hormon aracılı kanser türlerinin mekanizmasını ve glokom gibi hastalık türlerinin anlaşılması bakımından oldukça önemlidir. Bugüne kadar haploit olarak tanımlanmış 26 farklı *CYP1B1* aleli vardır (Çizelge 1.1). Ayrıca henüz haploit olarak tanımlanmamış 4 farklı aleli de bulunmaktadır.

En çok bilinen *CYP1B1* alelik varyantları 48, 119, 432 ve 453 numaralı kodonlarda ya tek başına ya da çeşitli kombinasyonlar şeklinde meydana gelir (Antonarakis ve ark, 1998).

142C>G ve 355G>T TNP (Tek nükleotit polimorfizmi), *CYP1B1* gen ifadesinde artışa yol açan Arg48Gly(R48G) ve Ala119Ser (A119S) aminoasit değişimine neden olur. Bu polimorfizm sonucunda *CYP1B1**2 aleli meydana gelir. Arg48Gly(R48G) aleli m1, Ala119Ser (A119S) aleli m2 şeklinde adlandırılır ve birbirleriyle bağlantılıdır.

4326C>G TNP, Leu432Val (L432V) aminoasit değişimine yol açar. Bu değişim sonucunda *CYP1B1**3 aleli şeklinde sonuçlanır. Bu polimorfizm *CYP1B1* ' in katalitik aktivitesinde önemlidir. Bu aktivite ile 4-OHE₂(4-Hidroksiöstradiol) oluşumu ve böylece östrojen karsinogenitesinde artış meydana gelir (Hayes ve ark., 1996). Ayrıca AhR aracılı *CYP1B1* gen ifadesi artışından da sorumludur (Landi ve ark., 2005).

Aşağıdaki çizelgede *CYP1B1* geninin 2014 yılında güncellenmiş nomenklatürü verilmiş olup, çalışılan polimorfizmlerin enzimler üzerine etkisi gösterilmiştir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1: Haplotip olarak tanımlanmış *CYP1B1* nomenklatürü (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP1B1>)
(Erişim tarihi:01/10/2020)

Alel	Protein	Nükleotid Değişimi, Gen	Trivial İsim	Etki	Enzim Aktivitesi		Referans
					İn Vivo	İn Vitro	
<i>CYP1B1*1</i>	CYP1B1.1	Yok	Yabanıl tip		Nor-mal	Nor-mal	Tang ve ark., 1996
<i>CYP1B1*2</i>	CYP1B1.2	142C>G 355G>T		R48G; A119S	Artar		Stoilov ve ark., 1998; McLellan ve ark., 2000
<i>CYP1B1*3</i>	CYP1B1.3	4326C>G		L432V	Artar		Stoilov ve ark., 1998; Bailey ve ark., 1998
<i>CYP1B1*4</i>	CYP1B1.4	4390A>G		N453S			Stoilov ve ark., 1998; Bailey ve ark., 1998
<i>CYP1B1*5</i>	CYP1B1.5	142C>G; 4326C>G		R48G; L432L			Aklillu ve ark.,2002
<i>CYP1B1*6</i>	CYP1B1.6	142C>G; 355G>T; 4326C>G		R48G; A119S; L432V	Azalı		Aklillu ve ark.,2002
<i>CYP1B1*7</i>	CYP1B1.7	142C>G; 355G>T; 4326C>G; 4360C>G		R48G; A119S; L432V; A443G	Azalı		Aklillu ve ark.,2002
<i>CYP1B1*8</i>	CYP1B1.8	4326C>G; 4353G>C; 4379C>T		L432V; D441H			Rahman ve ark., yayınlanmamış
<i>CYP1B1*9</i>	CYP1B1.9						
<i>CYP1B1*10</i>	CYP1B1.10						
<i>CYP1B1*11</i>	CYP1B1.11	171G>C	a	W57C			Stoilov ve ark.,1998

Alel	Protein	Nükleotid Değişimi, Gen	Trivial İsim	Etki	Enzim Aktivitesi		Referans
					İn Vivo	İn Vitro	
<i>CYP1B1*12</i>	CYP1B1.12	182G>A	b	G61E			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*13</i>	CYP1B1.13	501_502ins T	c	167Çerçeve kayması			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*14</i>	CYP1B1.14	841G>T	d	E281X			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*15</i>	CYP1B1.15	863_864ins C	e	288Çerçeve kayması			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*16</i>	CYP1B1.16	Geniş Çıkarılma	f	Splicing defect			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*17</i>	CYP1B1.17	4096_4108	g	355 çerçeve kayması			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*18</i>	CYP1B1.18	4125G>T	h	G365W			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*19</i>	CYP1B1.19	4168C>T	h	G365W			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*20</i>	CYP1B1.20	4191G>A	i	P379L			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*21</i>	CYP1B1.21	4201G>A	k	R390H			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*22</i>	CYP1B1.22	4232_4241	l	404Çerçeve kayması			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*23</i>	CYP1B1.23	4342C>T	m	P437L			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*24</i>		4377delG	n	449Çerçeve kayması			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*25</i>	CYP1B1.25	4437C>T	o	R469W			Stoilov ve ark., 1998
<i>CYP1B1*26</i>		4435_4461 dup	p	477 Çerçeve kayması			Stoilov ve ark., 1998

Yukarıda belirttiğimiz *CYP1B1* geni ve enzimleri dışında henüz haplotip olarak tanımlanmamış yeni tek nokta mutasyonları da mevcuttur. Aşağıda bununla ilgili çizelge sunulmaktadır.

Çizelge 1.2: 2014 yılı güncellenmiş haplotip olarak tanımlanmamış tek nokta mutasyonları (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP1B1>) (Erişim tarihi: 01/10/2020)

	c.171G>A			W57X			Prokudin ve ark., 2013
	c.868insC			290 Çerçeve kayması			Prokudin ve ark., 2013
	c.241T>A			Y81N			Prokudin ve ark., 2013
	c.685G>A			E229K			Prokudin ve ark., 2013
	c.1101G>A			R368H			Prokudin ve ark., 2013

1.5. Karsinojen Metabolizması ve CYP1B1

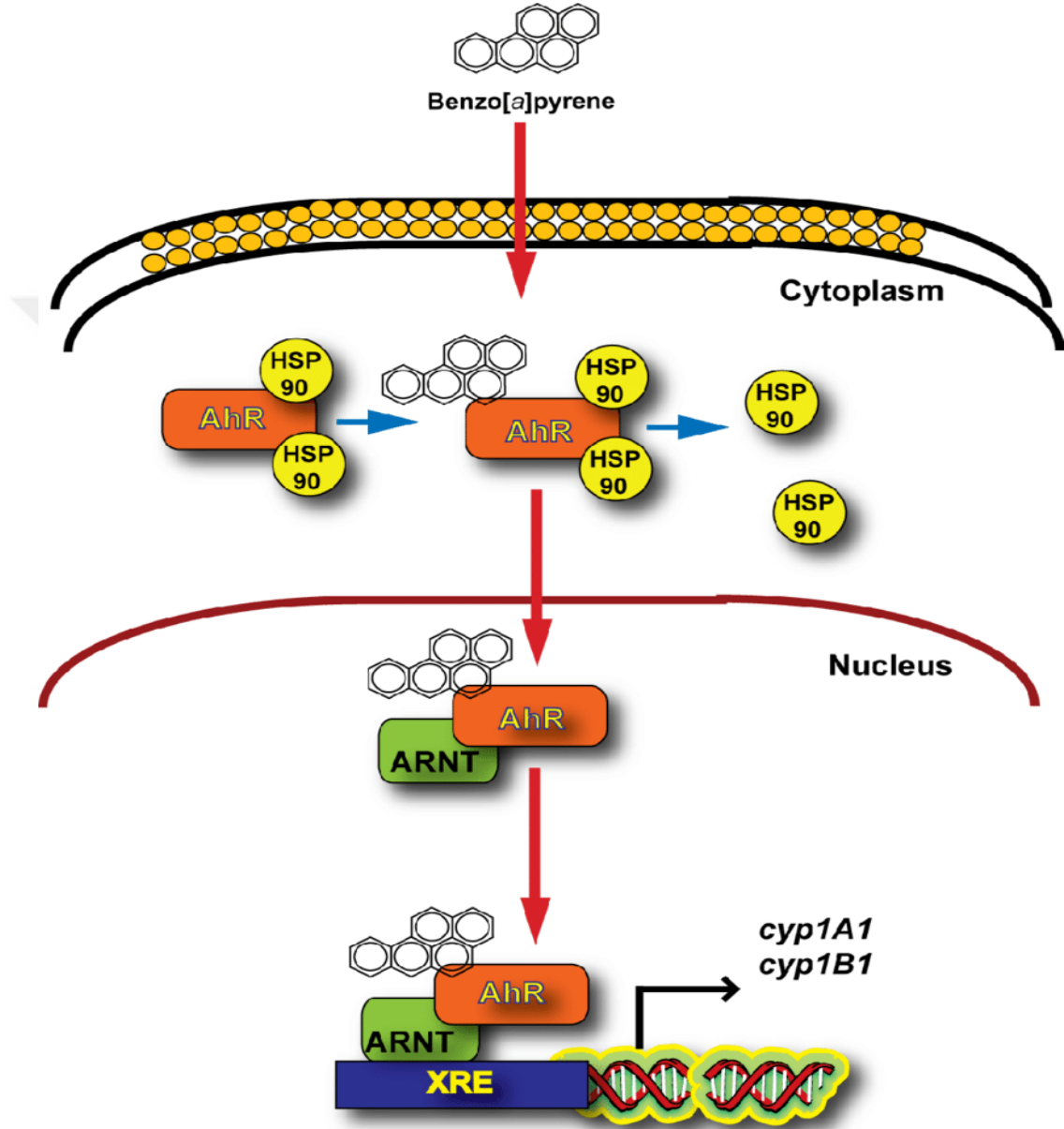
CYP1B1, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, aromatik ve heteosiklik aminler ve aflatoxin B1 gibi çeşitli prokarsinojenleri aktive ederler (Crespi ve ark., 1997; Murray ve ark.,1997). Bu aktivasyon sonucunda kanser oluşumu meydana gelir.

1.5.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Metabolizmaları

İki veya daha fazla benzen halkası içeren, hidrofobik özellik gösteren ve yanma sonucunda meydana gelen bu bileşiklere polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) denir. Yanma reaksiyonları doğal olarak gerçekleşebileceği gibi insan kaynaklı olarak organik bileşiklerin eksik yanması sonucunda da oluşurlar. Doğal yollardan orman yangınları ve volkanik patlamalarla meydana gelirler. İnsan aktivitesi ile meydana gelenler ise endüstriyel kaynaklar, motorlu taşıtlar ve sigara ile olmaktadır. Sigara ile meydana gelen PAH miktarı diğerlerine göre az olmasına rağmen insan sağlığı açısından en fazla tehdit oluşturan kaynakların başında gelir (Alver ve ark., 2012). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar prokarsinojen maddelerdir ve tümör oluşumuna neden olurlar (International Agency for Research on Cancer, 1983). Bu bileşikler CYP1A1 ve CYP1B1 enzimleri aracılığıyla genotoksik bileşiklere dönüşebilirler.

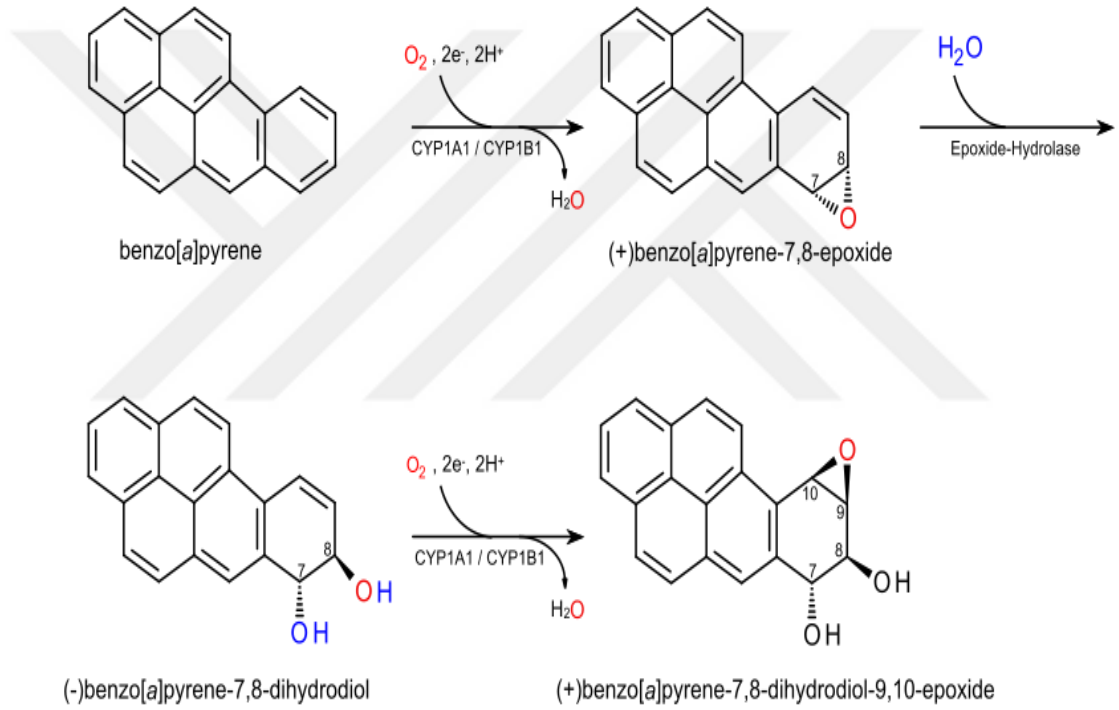
Ayrıca CYP1A1 ve CYP1B1 enzimleri PAH'lar tarafından indüklenebilir. Bu indüksiyon, sitozolik protein olan ve PAH 'lar tarafından aktive edilen aril hidrokarbon reseptör (AhR) aracılığıyla olur. Aktivasyonun ardından ligand bağlı AhR nükleusa gider ve burada AhR nükleer translocator ile dimer oluşturur. Bu protein dimeri ksenobiyotik duyarlı element (XRE) olarak bilinen spesifik promotör dizisi (TNGCGTG) ile etkileşir ve böylece gen transkripsiyonu başlar (Şekil 1.9). Bu ilişki iki hayvan modeli çalışma ile ispat edilmiştir. AhR olmayan farede benzo [a] piren tümör oluşumuna neden olmamıştır (Shimizu ve ak., 2000). Aynı şekilde *CYP1B1* geni olmayan farede 7,12-dimetilbenz[a] antrasen (DMBA) etki göstermemiştir (Butters ve ak. 1999).

Benzo[a]piren sigara içinde yüksek miktarda bulunan ve mesleki maruziyet sonucunda deri kanserinden akciğer kanserine kadar pek çok kanser türünün oluşmasına neden olan bir PAH'tır (IARC, 1984).



Şekil 1.9: PAH'ların etkisi ile *CYP1A1* ve *CYP1B1* gen ifadesi

Benzo[a]piren Faz I ve Faz II enzimleri ile metabolize olur ve aren oksit, fenol, dihidrodiol ve kinon türevleri ile bunların sülfat, glutatyon ve glukuronid konjugatlarını oluşturur. Benzo[a]piren-7-8-epoksit üzerinden epoksi hidrolaz enzimi ile asıl önemli metaboliti olan benzo[a]piren-7-8-diol oluşur. Oluşan bu metabolit CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 ile daha ileri metabolize olarak benzo[a]pirenin temel karsinojenik metaboliti olan benzo[a]piren-7,8-diol-9,10-epoksid (BPDE) oluşur (Eling ve ark., 1986) (Şekil1.10).



Şekil 1.10: Benzo[a]pyren in CYP1B1 ile metabolize edilmesi

BPDE'nin insan kanser hücresinde, tümör baskılayıcı genlerden p53 geninde sıcak nokta mutasyonlarına yol açtığı belirlenmiştir. BPDE, guaninin N2 ucundan DNA 'ya bağlandığında ve bu durum onarılamadığın da DNA polimeraz tarafından replikasyon sırasında yanlış okunmaya yol açar ve bu %70 sıklıkla G bazının T bazına transversiyonu ile sonuçlanır (Riedberg ve ark. 1995). Sigaraya bağlı akciğer

kanserinde, G:T transversiyon oranı %30 iken, diğer organ kanserlerinde %10 oranındadır (Rodin ve ark., 2000).

1.5.2. Östrojen ve Metabolizması

CYP1B1 'in östrojene oldukça düşük afinitesi vardır. Ancak buna rağmen CP1B1 dolaşımdaki düşük konsantrasyonlara kadar olan östrojenin metabolizmasında majör role sahiptir. Düşük konsantrasyonlarda östrojen öncelikle CYP3A4 enzimi tarafından metabolize edilir. Ancak farklı etnik kökenlerle yapılan çalışmalarda *CPY3A4* gen ifadesinin meme dokusu gibi östrojen duyarlı dokularda olmadığı belirlenmiştir (Miyoshi ve ark.,2005).

Bazı hastalar incelendiğinde, bu hastaların doku östrojen seviyesi, doku spesifik östrojen üretiminden dolayı dolaşım sisteminde olduğu düşünülen östrojen seviyesinden 10 ile 50 kat daha fazladır. Özellikle meme dokusunda ve yumurtalık yüzey epitelinde östrojen seviyesi dolaşımdakinin 100 katı kadardır. CYP izoformları karaciğerde yüksek miktarda üretildiği için östrojen metabolizması temel olarak karaciğerde meydana gelir. Bununla birlikte, CYP 1B1 ‘Östrojen Hedef Dokuları’ olan meme, yumurtalık ve uterusda da yüksek miktarda üretildiğinden özellikle 4-hidroksilasyonun katalizini gerçekleştirir. 4-OH Estradiol (4- OH E2), redoks döngüsü olarak bilinen yükseltgenme-indirgenme döngüsü sırasında semikinon ve kinon şeklindeki serbest radikallere dönüşmekte ve hücrel hasara sürükleyen bu yol ile meme ve endometriyum kanseri riskini arttırmaktadır (Tsuchiya ve ark., 2005).

CYP1B1 enziminin en etkili östrojen hidroksilaz olduğu düşünülmektedir. CYP1B1 transkripsiyonel olarak östrojen tarafından aktif olan ilk tanımlanmış östrojen metabolize edici enzimdir (Tsuchiya ve ark., 2004). CYP1B1 17B-östradiolün, 4-hidroksilasyonu ile daha az aktif olan metabolitlerine 4-hidroksiöstradiol ve 2-hidroksiöstradiole dönüşümünü sağlar. Ayrıca 4-

hidroksiöstrodiol katekol-O-metiltransferaz aracılığıyla 4-metoksiöstradiole dönüşür ya da reaktif kinon ve semikinon oluşumuna neden olur.

1.5.3. Östrojen Aracılı Kanserler

Yüksek konsantrasyonlarda östrojene uzun süre maruziyet ile meme kanseri insidansı arasında pozitif ilişki olduğu belirlenmiştir. Endojen östrojenin karsinogenezi indüklemesinin temelinde iki farklı mekanizmanın rolü olduğu bildirilmektedir. Bunlardan ilki östrojen reseptörü aracılığı ile hücre proliferasyonunun arttırılması, diğeri ise östrojenin oksidatif metabolizması sonucu oluşan reaktif kinon metabolitlerinin DNA hasarı oluşturmasıdır (Ergüç ve ark., 2019).

4-hidroksiöstradiol'ün katekol metabolitleri öncelikli olarak östradiol-3,4-semikinon (E_2 -3,4-SQ) ve östradiol -3,4-kinon'a (E_2 -3,4-Q) oksitlenir. E_2 -3,4-Q DNA pürin bazlarıyla tepkimeye girerek depürinasyon katım ürünlerini oluşturur. Bu katım ürünü bazlar onkojenik mutasyonların artmasına sebep olan apürinik bölgeleri oluştururlar (Cavalieri ve ark., 2002).

CYP1B1 geninde meydana gelen polimorfizmler özellikle de *CYP1B1**3 alelinde, östrojen aracılı kanserlerde önemli belirleyici faktörler olduğu düşünülmektedir (Hayes ve ark.,1996).

Kadınlarda *CYP1B1*'in östrojen aktivitesi araştırılırken premenopozal ya da postmenopozal dönemde olmalarına göre ayrılmalıdırlar. Bu dönemler hem dolaşımda hem de dokulardaki östrojen seviyesinin farklılık göstermesinden dolayı önem arz eder.

CYP1B1 enziminin polimorfik özellik gösterdiği bilindiğinden itibaren bu enzimin çeşitli hastalıklar ile ilişkisi incelenmiştir. Bizim çalışmamıza konu olan

CYP1B1 polimorfizmlerinden *CYP1B1**2'de (Arg48Gly) Polonyalılarla yapılan çalışmada, Arg48Gly polimorfizminin bireylerde östrojene bağlı kanser türlerinin gelişimine neden olduğu bununla birlikte baş-boyun kanseri, glokom ve kolorektal kanser gelişimi üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Sliwinski ve ark., 2010). Aynı çalışmada Leu432Val polimorfizminin ise aynı toplumda bu tür hastalıkların gelişiminde belirleyici olmadığı anlaşılmıştır. Bir diğer çalışmada ise Arg48Gly, Ala119Ser, Leu432Val ve Asn453Val polimorfizmlerinin Slovak kadınlarda pre, peri ve post menopozal dönemde farklılık gösterdiği ve bu farklılıkların bireylerin sosyal yaşamı, yaşı, psikolojik durumu, alışkanlıkları gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Cernonova ve ark., 2017).

1.5.3.1. Meme Kanseri

CYP1B1'in meme kanseri üzerine etkisi östadiolün 4-OHE₂ 'e dönüşümü ile olduğu düşünülmektedir (Murray ve ark., 2001). *CYP1B1* polimorfizmlerinin tek başına mı yoksa diğer polimorfizmlerle beraber etki edip etmediği tam olarak bilinmemektedir. *CYP1B1* polimorfizmi meme kanseri üzerine etkisi ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Özellikle *CYP1B1*_L432V polimorfizminin etkisi üzerine pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu polimorfizmde *CYP1B1* 432. kodonunda hem bağlayıcı bölgede meydana gelen C- G değişimi ile Leu- Val aminoasit değişimi meydana gelir. Bu değişimin 4-hidroksilasyonunda katalitik etkinliği arttırdığı belirlenmiştir (Okobia ve ark., 2009).

*CYP1B1*_L432V polimorfizminin tek başına incelendiği araştırmalarda, Güney Nijerya'da 250 meme kanseri ve 250 kontrol grubu üzerinde yapılan vaka-kontrol çalışmasında *CYP1B1* polimorfizminin meme kanseri riskinde artışa neden olduğu belirlenmiştir (Okobia ve ark., 2009).

Aynı şekilde Meksika'da yapılan bir çalışmada ise 150 vaka ve 150 kontrol grubu üzerinde *CYP1B1* *Leu432Val* polimorfizm ile meme kanseri arasında bir ilişki bulunamamıştır (Matinez-Ramirez ve ark., 2012).

CYP1B1 polimorfizmleri ile östrojen metabolizması ve protein sentezinde görev alan diğer genler incelendiğinde ise bu genlerin polimorfik olanlarını aynı anda taşıyan kadınlarda meme kanseri riskinin arttığı belirlenmiştir.

Türk popülasyonu üzerinde yapılan çalışmada 60 meme kanseri ve 103 kontrol grubu üzerinde yapılan çalışmada *CYP1B1**3 polimorfizm ve NAT2 yavaş asetilleyici fenotipi ile meme kanseri riskin de artış olduğu belirlenmiştir (Özbek ve ark., 2010).

Çin popülasyonu üzerinde yapılan bir çalışmada *CYP1B1*_L432V ve *CYP1B1*_A119S için genoip ve alel sıklığı karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 152 meme kanseri hastası ve 156 kontrol üzerinde çalışılmıştır. Risk oranı *CYP1B1*_A119S sahip bireylerde 3,3; *CP1B1*_L432V sahip bireylerde 2,8; her iki polimorfizme sahip bireylerde ise 4,69'dur. Yabanıl tiple karşılaştırıldığı zaman her iki polimorfizminde farklı alellerinin meme kanseri riski taşıyan kişilerde önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Bu polimorfizmlerin östrojen metabolizmasını etkiledikleri gibi prokarsinojenlerin kanserin başlamasında rol oynayan DNA reaktif elektrolitlere dönüştürmeleri olduğu düşünülmektedir.

CPY1B1 Arg48Iy, Ala119Ser ve Asn453Ser polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisinin değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasında Arg48Gly polimorfizmi ile ilgili 10 çalışma (11321 vaka ve 13379 kontrol), Ala119Ser polimorfizmi ile ilgili 11 çalışma (10715 vaka ve 11678 kontrol) ve Asn453Ser polimorfizm ile ilgili 12 çalışma (11630 vaka ve 14053 kontrol) değerlendirilmeye alınmış ve bu polimorfizmlerin meme kanseri riskiyle herhangi bir ilişkileri bulunamamıştır (Economopoulos ve ark., 2010).

Danimarkalı kadınlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise Leu423Val polimorfizminde alel frekansı %40,7 olarak belirlenmiştir. Ancak yapılan çalışmada Leu423Val polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisi gözlenememiştir tıpkı Liu ve ark., 2015 yılında yaptığı çalışmada olduğu gibi (Ghisari ve ark., 2017).

2017 yılında Kuzey İran’da yapılan bir çalışmada daha önce infertilite tedavisi görmüş kadınlar ile meme kanseri riski arasında Leu423Val polimorfizm açısından benzerlik bulunup bulunmadığı incelendiğinde, daha önce yapılan bir çalışmada infertilite tedavisi almış meme kanseri bireylerde Leu432Val polimorfizmi %46,6 oranında görülmesine rağmen aralarında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Andarieh ve ark., 2017).

2017 yılında Kuzey Meksika’da yapılan meme kanseri ve *CYP1A1*, *CYP1B1*, *GSTM1* ve *GSTT1* genetik varyasyonları arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada 1267 meme kanseri incelendiğinde CYP1B1 G119T T/T genotipinin daha fazla oranda bulunduğu belirlenmiştir (Martinez ve ark., 2017).

1.5.3.2. Endometriyum Kanseri

Endometriyum kanserinin oluşum mekanizması tam olarak bilinmese de diğer östrojen kaynaklı kanser türlerinde olduğu gibi östrojenin 4-hidroksiöstradiole dönüşümünün etkili olduğu düşünülmektedir (Liehr, 1990). İnsan endometriyumunda 4-hidroksilasyon oranı 2-hidroksilasyon oranından daha fazladır (Liehr ve Ricci, 1996). İnsanlarda endometriyum kanseri vakaları incelendiğinde 4-hidroksilaz aktivitesinin yükseldiği gözlenmiştir.

CYP1B1 gen polimorfizmlerinin, endometriyum kanseri oluşmasının habercisi olacağı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmalardan biri 113 Japon endometrium kanseri hastası ve 202 sağlıklı kontrol üzerinde 6 farklı *CYP1B1* gen polimorfizmi incelenerek yapılmıştır. Bu çalışma ile *CYP1B1*, 119 ve 432 kodonlarındaki dağılımın farklı olduğu gösterilmiştir. 119T/T ve 432G/G genotipleri yabanıl tipte karşılaştırıldığında risk oranları sırasıyla 3,32 ve 2,49 olarak belirlenmiştir. İntron 1, kodon 48 ve kodon 449 'da meydana gelen polimorfizmlerin hasta bireyler ve kontrol grupları arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda bu çalışma *CYP1B1* geni ile 119 ve 432. kodonların nadiren rastlanan polimorfizmlerin yüksek endometrium kanser riskiyle ilişkili olduğunu gösteren ilk çalışmadır (Sasaki ve ark., 2003).

Daha önce meme kanseri vakalarında daha çok incelenen *CYP1B1* Leu432Val polimorfizmi ile endometrium kanseri arasında bir ilişki olmadığı belirlenmiştir (Wang ve ark., 2011). 6577 kişiyi içeren daha önce yayınlanmış 6 vaka-kontrollü çalışmada aleller ve genotipler karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Altı veri tabanı üzerinden yürütülen araştırmada, östrojen metabolizmasında rol alan metabolik enzimlerde meydana gelen genetik polimorfizmlerle, endometrium kanseri riski arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Kayıtlı 4283 kanser hastası ve 7094 kontrol üzerinde yapılan ve COM Val158Met, *CYP1B1* Leu432Val ve *CYP1B1* Asn453Ser polimorfizmleriyle, endometrium kanser riskiyle ilişkilerinin tanımlandığı 14 çalışma incelenmiştir. *CYP1B1* Leu432Val analizleri heterozigot genotipin endometrium kanseri riskinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir. *CYP1B1* Asn453Ser polimorfizminin G alelinin A aleliyle karşılaştırıldığında endometrium kanser riskinde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Normal genotipli bireylerle karşılaştırıldığında heterozigot genotipli bireyler endometrium kanser riskinde azalma göstermiştir. Bu çalışma sonucunda *CYP1B1* Leu432Val polimorfizminin endometrium kanseri riskinde artışa, Asn453Ser polimorfizminin ise endometrium kanseri riskinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Teng ve ark., 2013).

1.5.3.3. Yumurtalık Kanseri

Yumurtalık kanserinin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Buna rağmen oluşumunda en önemli faktörler hormonal maruziyet faktörü ve üreme ile ilgili faktörlerdir. *CYP1B1* polimorfizmi tek başına ya da diğer polimorfizm türleri ile beraber incelenmiştir.

Sadece *CYP1B1* polimorfizminin incelendiği bir çalışmada *CYP1B1**3 polimorfizmine bakıldığında bu polimorfizme sahip yumurtalık kanseri hastalarında *CYP1B1**3 polimorfizmi prevalansının anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir. Daha önce belirttiğimiz gibi *CYP1B1**3 polimorfizmi 432. kodonda meydana gelen Leu aminoasitinin Val aminoasitiyle substitüsyonu olarak tanımlanmıştır. Val432 alelinin östradiolün 4-hidroksiöstradiole dönüşümünde daha yüksek etkinliğe sahip olduğu ve bu nedenle yumurtalık kanseri riskinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada da beyaz ırkta *CYP1B1**3 polimorfizminin bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. 223 yumurtalık kanseri ve 280 sağlıklı kan bağışı yapabilen kadınlara bakıldığında hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlara bakıldığında *CYP1B1**3 polimorfizminin Beyaz ırkta yumurtalık kanser gelişiminde önemli bir rol oynadığını desteklememektedir (Cecchin ve ark., 2004).

Diğer bir çalışmada ise *CYP1B1* Leu/Val ve Val/Val genotiplerinin Leu/Leu genotipleri ile karşılaştırılması yapılmıştır. 1993-1999 yıllarında primer yumurtalık kanseri üzerinde etkili olabilecek pek çok faktörü baz alan bir vaka kontrol çalışması yapılmıştır. 129 epitelyal yumurtalık kanseri ve 144 kontrol grubu üzerinde yapılmıştır bu çalışma. Çalışmada *CYP1B1* genindeki yüksek Val432 alel aktivitesinin 4-hidroksi katekolöstrojen oluşumu aracılığıyla oksidatif stresi arttırdığı ve bu nedenle yumurtalık kanseri riskinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. *CYP1B1* Leu/Val ve Val/Val genotiplerinin Leu/Leu genotipiyle karşılaştırıldığında risk oranının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Sigara kullanan kadınlarda CYP1A1, COMT, CYP1A2 genlerinin belirli alelleriyle birlikte *CYP1B1* Val alel varlığının,

sigara kullanmayan ve aynı allele sahip kadınlarla karşılaştırıldığında yumurtalık kanseri riskinde ciddi bir artışa neden olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda *CYP1B1* Val aleli ile diğer polimorfizmlerini birlikte bulunması, çevresel ve hormonal maruziyet gibi faktörlerin yumurtalık kanserine yatkınlığı arttırdığı belirlenmiştir (Goodman ve ark., 2001).

2005 yılında Amerika da yapılan bir çalışma, 503 epitelyal yumurtalık kanseri ve 609 kanser olmayan kontrol üzerinde vaka kontrollü çalışma yürütülmüştür. Vaka ve kontrol grupları yaşlarına, ırklarına ve yaşadıkları bölgelere göre eşleştirilmişlerdir. Denekler *CYP1A1* ve *CYP1B1* ve *COMT* ve *SULT1A1* genleri üzerinde meydana gelen TNP 'ye göre genotiplenmiştir. Bu genotipler ayrı ayrı incelendiğinde hiçbirinin tek başına yumurtalık kanseri riskiyle ilişkisi bulunamamıştır. Dört genin ortak etkilerini kapsayan oligogenik modeller üzerinde çalışma yapıldığında ise bu genlerin kombinasyonunun yumurtalık kanseri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Seller ve ark., 2005).

1.5.4. Androjen Aracılı Kanserler

CYP1B1 östrojen metabolizmasında görev aldığı gibi testosteron metabolizmasında da görev alır. Testosteronun 6-hidroksilasyonunu kataliz eder. *CYP1B1* tarafından metabolize edilen bu hormonların prostat ve testis kanserlerinin neoplastik gelişimine katkıda bulunduğu belirlenmiştir (Henderson ve ark., 1982).

1.5.4.1. Prostat Kanseri

Prostat kanseri erkekler arasında en sık görülen kanser türlerinden olup akciğer kanserinden sonra en önemli ölüm nedenleri arasındadır (Güneş ve ark., 2003). Buna rağmen etiyojisi tam olarak açıklanamamıştır (John ve ark., 2009).

CYP1B1 gen polimorfizminin prostat kanseri üzerindeki etkisini incelemek için *CYP1B1* üzerinde görülen 5 farklı TNP'ler incelenmiş ve Japon popülasyonda 117 prostat kanseri ve 2000 sağlıklı birey üzerinde araştırma yapılmıştır. Çalışılan kodonlar: kodon 48, kodon 119, kodon 432, kodon 449 ve kodon 453'tür. Çalışma sonucunda kodon 119'daki genotipin prostat kanseri hastaları ve kontrol grubundaki dağılımının anlamlı şekilde farklı olduğu gösterilmiştir. Kodon 453 dışındaki diğer kodonlarda polimorfizmler gözlenmiştir. Ancak kanser hastaları ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışma *CYP1B1* geni 119. kodonda meydana gelen polimorfizmin prostatik karsinogenezis ile ilişkisini kanıtlayan ilk çalışmadır (Tanaka ve ark., 2002).

CYP1B1- Leu432Val polimorfizmi ve prostat kanseri riski arasındaki ilişki vaka kontrol çalışması ile incelendiğinde, beyaz ırkta 50 prostat kanseri hastası erkeğin %34'ünün Val423 polimorfizmi açısından homozigot olduğu, kontrol grubunda ise aynı genotipin 50 kişinin %12'sinde olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre *CYP1B1* polimorfizmlerinin prostat karsinogenezisinde önemli rol oynadığı söylenebilir (Tang ve ark., 2000).

CYP1B1 polimorfizmi ve prostat kanseri riski arasındaki ilişkiyi belirlemek adına yapılan bir meta analizde; *CYP1B1* L432V için 12 çalışma, 5999 vaka ve 5438 kontrol; R48G için 6 çalışma, 1647 vaka ve 1846 kontrol; N453S için 4 çalışma 1407 vaka ve 1499 kontrol; A119S için 4 çalışma, 1057 vaka ve 1018 kontrol; -13C/T için 4 çalışma, 1116 vaka ve 1114 kontrol grubu incelenmiştir. Yapılan bu geniş çaplı analizde hiçbir popülasyonda *CYP1B1* L432V polimorfizmi ile prostat kanseri arasında bir bağlantı bulunamamıştır. Daha sonra etnik kökenlere göre yapılan alt-grup çalışmalarında Asya ırkında L432V polimorfizmi ile prostat kanseri arasında anlamlı bir bağlantı bulunmuştur. Tüm popülasyonlarda ise N453S ve A119S polimorfizmleri ile prostat kanseri riski arasında ilişki olduğu saptanmıştır (Zhang ve ark., 2013).

246 prostat kanseri ve 261 kontrol grubunun katıldığı ve *AR*, *CYP1B1*, *CYP19* ve *SRD5A2* genlerinin polimorfizmlerinin incelendiği bir çalışmada *CYP1B1**3 ve *CYP1B1**4 polimorfizmlerinin kontrol ve hasta grupları arasında farklılık göstermediği belirlenmiştir. Bulgar toplumu üzerinde yapılan bu çalışma ile diğer toplumlar arasındaki polimorfizm farklılıkları karşılaştırılmıştır ve diğer topluluklarla arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Kachakova ve ark., 2016).

1.5.5. Hormon Aracılı Olmayan Kanserler

1.5.5.1. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri (AK), her yıl yaklaşık olarak 1,6 milyon insanın ölümüne neden olan, ölüm oranı oldukça yüksek ve kansere bağlı ölüm nedenlerinin en başında gelen bir kanser türüdür (Gülhan ve ark., 2019).

Karsinogenezisi ile ilgili mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamışsa da uzun süre sigara kullanımı ve çevresel sigara dumanına maruziyetin akciğer kanseri gelişiminde oldukça önemli olduğu bilinmektedir (Clemens,1991; Arslan ve ark., 2011). Aktif sigara içimi akciğer kanserinin meydana gelmesinde en büyük risk faktörüdür. Diğer yandan, akciğer kanseri olan erkeklerin %85'i, yine akciğer kanseri kadın hastaların %60'ının sigara kullanıcısı olduğu bilinmektedir (Ada ve ark., 2010). Ancak sigara içmeyen bireylerde de akciğer kanseri görülme oranında artış görülmektedir (Erbaycu ve ark., 2009). Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal bileşik bulunur ve bunlardan 60'tan fazlasının karsinojen özelliği ispatlanmıştır. Bunların bir bölümü radyoaktif özelliktedir; radon, kurşun, bismut ve polonyum. Polisiklik hidrakerbonlar ve N-nitrozamin özellikle prokarsinojenik olarak tanımlanmıştır (Müsellim, 2007).

Sigara dumanında bulunan karsinojen maddeler Faz1 ve Faz2 enzimleriyle metabolize edilirler. Son zamanlardaki çalışmalar bu enzimleri kodlayan genlerde

meydana gelen polimorfizmler ve akciğer kanserine yatkınlık arasındaki ilişkiyi incelemektedir. *CYP1B1* gen polimorfizmi ve akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi de inceleyen pek çok çalışma bulunmaktadır.

CYP1B1 enzimi daha önce belirttiğimiz gibi PAH'lar ve arilaminlerin metabolizmasında önemli role sahiptir. PAH'ların metabolizması sonucunda karsinogenik metabolitler oluşur ve akciğer kanseri dahil olmak üzere pek çok kanser türünün oluşmasına neden olur. *CYP1B1* geninin fazla miktarda ekspresyonu, oksidatif stresin artması ve hücre büyümesinin artması kadar PAH'ların karsinogenik metabolitlerinin aktive olması da, CYP'lerin daha fazla agresif tümör oluşumu ve hayatta kalma oranının azalması ile ilişkilidir (Ada ve ark., 2010).

200 akciğer kanseri hastası ve 200 kontrol üzerinde yapılan bir vaka -kontrol çalışmasında, aminoasit değişimine neden olan 4 *CYP1B1* polimorfizmi incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda vaka ve kontrol arasında *CYP1B1* Arg48Gly ve Ala119Ser (*CYP1B1**2) polimorfizmleri arasında varyant genotiplerinin dağılımında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bunun yanında *CYP1B1* Leu432Val ve *CYP1B1* Asn453Ser varyant genotipleri dağılımında anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir. Hem sigara kullanıp hem de sakız halinde tütün kullanan bireylerde ise *CYP1B1* Ala119Ser genotipine sahip bireylerde akciğer kanseri riskinin arttığı gözlenmiştir. Bu çalışma ile akciğer kanserinin oluşumunda gen ve çevresel etkenlerin ilişkisi açıklanmıştır (Shah ve ark., 2008).

CYP1B1 geni 432. kodonda meydana gelen polimorfizmin (*CYP1B1**3) akciğer kanseri ile ilişkisi 6501 kişiyi içeren bir meta analiz ile araştırılmıştır. *CYP1B1* Leu/Val ve Val/Val varyant genotiplerinin akciğer kanser riskinde önemli derecede artışla ilgili oldukları bulunmuştur. Etnik kökene göre yapılan analizlerde ise Beyaz ırkta akciğer kanserinin özellikle Leu/Val genotipine sahip bireylerde daha çok görüldüğü belirlenmiştir. Bu kişileri sigara içme durumuna göre değerlendirdiğimizde ise sigara içenlerde önemli derece akciğer kanseri gelişimi

olduğu belirlenmiştir. *CYP1B1* Val alelinin ise akciğer kanseri gelişiminde düşük risk faktörü olduğu belirlenmiştir (Chen ve ark., 2010).

CYP1B1 enzimi sadece çeşitli kanser türleri üzerinde etkili değildir. Aynı zamanda glokom gibi oldukça yaygın olarak görülen bir hastalık üzerinde de etkilidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda CYP1B1'in aynı zamanda obezite, hipertansiyon, kalp damar hastalıkları gibi günümüzde oldukça yaygın olarak görülen hastalıklarla da ilişkili olduğu belirlenmiştir.

1.5.5.2. Kolorektal Kanser

Kolorektal kanser, erkeklerde akciğer, kadınlarda ise meme kanserinden sonra en sık görülen kanser türüdür (Karahasanoğlu, 2001). Yaş, cinsiyet, ırk, beslenme, sigara kullanımı gibi pek çok faktör bu kanserin gelişmesinde rol oynar. Özellikle yumurtalık, meme ya da prostat kanseri görüldüğünde kolorektal kanser görülme oranı da artmıştır.

Son yıllarda özellikle CYP1B1 ile ilişkili olarak nedeni araştırılan bu kanser türünde, 2014 yılında İngiltere'de yapılan bir çalışmada özellikle neoplastik doku ile ilişkili interlökin 6 (IL6) varlığıyla birlikte kolonik inflamasyon, transkripsiyonel ve epigenetik mekanizmalar yoluyla CYP2E1 ve CYP1B1 ekspresyonunu manipüle ederek epitel hücrelerinin metabolik yeterliliğini değiştirebildiği belirlenmiştir. Bu, diyetteki karsinojenlerin aktivasyonunun artmasına ve DNA hasarına yol açarak kolorektal karsinogenezi teşvik edebildiği gözlenmiştir (Patel ve ark., 2014).

2018 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada ise B7-H3 ile CYP1B1 arasındaki ilişki incelenmiştir. Kolorektal kanser de CYP1B1 in yüksek oranda bu dokulardan izole edildiği bilinmektedir. Aynı zamanda B7-H3'ün de T hücrelerinin fonksiyonlarını inhibe ederek tümör hücresinin immün sistemden kaçınmasında anahtar bir role sahiptir. Bu nedenle, bu çalışmada, kolorektal kanserin prognozunu

öngörmek için yeni bir belirteç belirlemeyi ve tümör metabolizması ile tümör bağıışıklığı arasındaki ilişkiyi incelenmiştir. 231 hasta üzerinde yapılan bu çalışma ile CYP1B1'in kolorektal kanser hastalarının prognozu için yeni bir öngörücü biyobelirteç olabileceğini ve in vivo ve in vitro olarak CYP1B1 ile B7-H3 arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Liu ve ark., 2018).

1.5.5.3. Özofagus Kanseri

Özofagus kanseri dünya çapında en yaygın sekizinci kanserdir ve erkeklerde kansere bağlı ölümlerin yedinci en yaygın nedenidir. CYP1B1 enziminin pek çok kanserli dokudan yüksek oranda izole edildiği daha önce de belirtilmişti. Bu nedenle, yapılan bu çalışmada genetik bir varyant olan CYP1B1-rs1056836 Leu432Val geni ile özofagus skuamöz hücreli karsinomlu (ESCC) hastaların klinik özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırılmıştır. Bu çalışmaya 117 ESCC'li hasta ve 208 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. GG, GC ve CC için genotipik frekans, sağlıklı deneklerde sırasıyla %58,6, 29,8 ve 11,5 ve ESCC grubunda %51,8, 36,14 ve 12 idi. GG genotipi ile ESCC aşaması arasında bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca, bu varyasyon ve ESCC riski için istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunamamıştır (Moghadam ve ark., 2018).

1.5.5.4. Larenks Kanseri

Larenks kanseri tüm kanserlerin %2'sini meydana getirmekle birlikte baş-boyun bölgesi kanserleri içerisinde en sık görülenidir. Erkeklerde kadınlardan çok daha fazla görüldüğü bilinmektedir. Etiyolojik faktörler içinde en önemli yeri sigara tutmaktadır (Çaloğlu ve ark., 2005).

2018 yılında Çin toplumunda yapılan bir çalışmada, genetik polimorfizmlerin (*CYP1B1**2 G355T, *CYP1B1**3 C4326G ve *CYP2E1**5 G-1293C) ve çevresel faktörlerin (sigara içme ve içme) larenks kanserine yatkınlık üzerindeki etkilerini

araştırılmıştır. Bu vaka-kontrol çalışmasına larenks kanseri teşhisi konulmuş 552 Han Çinli hasta ve aynı etnik köken, benzer yaş ve cinsiyetten 666 sağlıklı kontrol deneği dahil edilmiştir. *CYP1B1**2 355T ve *CYP2E1* * 5 -1293C artmış larenks kanseri riski ile ilişkiliyken, *CYP1B1**3 4326G azalmış bir risk ile ilişkilidir. Bu polimorfizmler, larenks kanseri riski üzerinde ortak etkiler göstermiştir. Sigara içmek, alkol tüketmek larenks kanseri riskini arttırmak için iki yüksek riskli allel (*CYP1B1**2 355T ve *CYP1B1**3 4326G) ile ortak etkiler göstermiştir (Jin ve ark., 2014).

1.6. Glokom

Glokom, geri dönüşü olmayan görme kaybına yol açabilen ciddi bir hastalıktır. Özellikle primer konjenital glokom (PCG) kalıtsal bir göz hastalığıdır (Ou ve ark., 2018). Primer konjenital glokomlu hastalarda göz içi basıncı yükselir. Hipertansiyon, göz içi yapılara zarar verir ve Schlemm kanalını, kolektör kanallarını, trabeküler ağ örgüsünü ve optik sinirin moleküler yapılarını etkiler. Glokomlu hastalarda kusurlu olan önemli bir gen, optik sinir bozulması ile ilişkili bir gen olan *CYP1B1*'dir (Alsubait ve ark., 2020). Primer konjenital glokom çalışmalarında *CYP1B1*'e ait pek çok mutasyon bulunmuştur. *CYP1B1* geni ilk olarak Stoilov tarafından 1997 yılında yapılan çalışma ile primer konjenital glokom ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan araştırmalar da *CYP1B1* polimorfizmlerinden W57C, G61E, P379L, R390H, W57X, R368H'in özellikle primer konjenital glokom üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir.

1.7. Hipertansiyon

Son yıllarda insanlar ve farelerde yapılan çalışmalara bakıldığında özellikle hipertansiyon gelişimi ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz aktivasyonu ile gerçekleşen patofizyolojik değişimler ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu, inflamasyon ve entotelyal disfonksiyon gibi pek çok hastalığın gelişiminde *CYP1B1* in oldukça önemli görevleri olduğu belirlenmiştir. Bu patolojik durumlar üzerinde

nasıl etki ettiği tam olarak aydınlatılamamışsa da temel olarak CYP1B1 in aktivasyonun sonucunda metabolizmada meydana gelen reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücrede ki etkisi ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Reaktif oksijen türleri hücre içinde DNA ile de katım ürünleri oluşturarak kanser gelişimine neden olur (Shah ve ark., 2019).

Gelinen noktada çalışmalarda sadece birkaç parametrenin değerlendirilmesi yeterli olmamaktadır. Sadece genotip analizlerinin karşılaştırılması değer aynı zamanda çalışmaya konu olan bireylerin yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, sigara kullanımı, pre/post menopoz durumu, hipertansiyon, kalp damar hastalıkları, eğitim durumu, obezite gibi pek çok faktör etkili olmaktadır. Bunlara  rnek olarak 2020 yılında orta yaşlı hipertansiyonu olan Slovak kadınlarının Leu432Val ve Asn453Ser polimorfizmleri incelendiğinde, Leu432Val polimorfizminin hipertansiyon ile ilgili olduğu ancak Asn453Ser polimorfizminin hipertansiyon ile ilişkili olmadığı belirlenmiştir. Özellikle en az bir Val aleline sahip bireylerde hipertansiyon görülme oranı Leu/Leu alelli bireylere göre daha fazladır. Bunun dışında sigara içen, abdominal obezite özelliklerine sahip, sadece temel eğitimi almış kadınlarda bu oran daha fazladır. Premenopozal durum ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Falbova ve ark., 2020).

1.8. Çalışmanın Amacı:

CYP1B1 geninde meydana gelen polimorfizmlerinin tanımlanması kanser, glokom, obezite ve diğer pek çok hastalığa eğilimin belirlenerek önlem alınması açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada da sağlıklı bireylerde bu polimorfizmlerinin belirlenmesi, diğer toplumlarla karşılaştırılması ve başta kanser olmak üzere pek çok hastalıkla polimorfizm açısından anlamlı farklar olup olmadığının karşılaştırılmasına yardımcı olmak amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

- Etanol (Merck, Almanya)
- Borik Asit (Merck, Almanya)
- NaOH (Merck, Almanya)
- Agaroz (Lonza, ABD)
- PCR Master Mix (Qiagen, Almanya)
- DNA izolasyon kiti (Promega, ABD)
- DNA Ladder (Thermo Fischer, ABD)
- Problar ve primerler (Metabion, Almanya)

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- -20C⁰ lik derin dondurucu (Bosch)
- Rotatör (Labinco)
- Vortex (Labinco L46)
- Mikrosantrifüj (Hermle Z 160 M)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-160 A)
- Real Time PCR Cihazı (QIAGEN)
- Otoklav (Sanyo, MAC-235 EX)
- Thermal cycler (Kyratec)
- pH-metre (Jenway 3320)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik MD55I)
- Mini Elektroforez Tankı (Thermo EC)
- Midi Elektroforez Tankı (Thermo EC)
- Elektroforez Güç Kaynağı (E-C Apparatus Corp. EC250-90)
- Jel görüntüleme sistemi (Vilber-Lourmat, TCP-20-MX)

2.2. Örnekler

Çalışmamızda Ankara’da çeşitli hastanelere başvurmuş, herhangi bir kanser tanısı konulmamış, aralarında herhangi bir akrabalık ilişkisi bulunmayan 150 sağlıklı gönüllü birey yer almaktadır. Bireylerin 135’si erkek, 15 kadındır. Erkek bireylerin yaş ortalaması 43, kadın bireylerin yaş ortalaması 53’dir. Tüm bireylerin yaş ortalaması 44’tür. İşlemler için gerekli izinler alınması ile, dirsek bölgesinin ön taraftaki toplardamarlarından tek seferde 3 ml kan örneği araştırma grubumuzda yer alan doktor kontrolünde elde edilmiştir. Elde edilen verilerin detaylı bir şekilde analiz edilebilmesi için her bireye ait sigara, beslenme ve kahve tüketim alışkanlıkları, varsa daha önceden geçirmiş olduğu hastalıklar ve başvurulabilecek diğer detayları kapsayan bilgilendirilmiş gönüllü onay formları ile anket formları usulüne uygun doldurulmuştur (İlgili formların örnekleri ekte sunulmuştur). Yapılan işlemleri takiben alınan kan örnekleri buz içinde çalışmanın yapılacağı laboratuvara - 20°C de saklanmak üzere ulaştırılmıştır. Çalışmada ihtiyaç duyulan etik kurul kararı Ankara Üniversitesi Etik Kurulundan alınmıştır.

2.3.DNA İzolasyonu

Alınan örneklerin genotiplemesinin yapılması için öncelikle Miller ve arkadaşlarının (1988) daha önce uygulamış olduğu metoda göre hazırlanmış olan kit kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

2.4. Genotip Analizleri

Genotip analizlerinde alele özgü polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve Real-time PCR yöntemi kullanılmıştır.

PCR yöntemi hücre içinde DNA'nın kendini eşlemesi mekanizmasıdır. Çift zincirli DNA (dsDNA) molekülünün, tek zincirli DNA (ssDNA) molekülü haline gelmesi, kopyalanarak çoğaltılması ve tekrar bağlanması şeklinde gerçekleşir.

Bu teknik;

- Çift zincirli DNA'nın yüksek sıcaklıkta çözülerek tek zincir şekline gelmesi: denatürasyon
- Primer DNA 'ya bağlanması: primer eşleşmesi
- Mg^{+2} iyonlarının ve DNA polimeraz enziminin yardımıyla primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzaması: bu uzama işlemi çok sayıda PCR döngüsü ile gerçekleşir (Somma, M. ve Querci, M., 2006).

2.4.1. *CYP1B12 Arg48Gly (m1) ve Ala119Ser (m2) Polimorfizmlerinin Belirlenmesi**

*CYP1B1**2 aleline ait birbiriyle bağlantılı 2 tane polimorfizm mevcuttur. Bunlardan biri Arg48Gly, diğeri Ala119Ser'dir. Arg48Gly 'm1' olarak ifade edilir ve referans SNP numarası rs10012' dir. Ala119Ser 'm2' olarak ifade edilir ve referans SNP numarası rs1056827'dir.

Bu polimorfizmlerin belirlenmesi Aklillu ve arkadaşlarının (2002) 2 aşamalı PCR yöntemi ile (Alele özgü PCR) gerçekleştirilmiştir.

1. PCR ile her bir ekzona ait (ekzon 2) polimorfik bölgeler çoğaltılmış, akabinde yapılmış olan alele özgü PCR (2. PCR) ile mutasyonlar belirlenmiştir. 2. ekzonda bulunan Arg48Gly ve Ala119Ser bölgeleri 1. PCR' da çoğaltılmıştır. 25ul PCR reaksiyonu 100 ng genomik DNA, 1.3 mM $MgCl_2$, 0.25 μM primer (ekzon 2 için ex2F ve ex2R), %10 dimetilsülfoksit, 0,25 mM dNTP karışımı, 10mM Tris-

HCL, pH 8,3 ve 50 mM KCL içeren 1x reaksiyon tamponu içerisinde 0,75 ünite Taq polimeraz içermektedir. PCR koşulları 95°C’ de 1dakikalık ilk denatürasyonu takiben 35 PCR döngüsü erime (95 °C 15 saniye), yapışma (60 °C 20 saniye) ve sentez (72 °C 60 saniye)’ dir.

Bu şartlarda elde edilen ürünler %2’lik agaroz jel elektroforez sonrası tek bant halinde 914 bp’de saptanmıştır

1. PCR sonucu elde edilen ürün 10 kat suda seyreltildikten sonra 2. PCR’ a tabi tutulmuştur. 2. PCR için 25ul PCR reaksiyonu 0.125 µM primer (m1: Fm1wt/Fm1mt, 1/2mutR; m2: Fm2wt/Fm2mt, 1/2mutR), 0,125 mM dNTP karışımı, 10mM Tris-HCL, pH 8,3 ve 50 mM KCL içeren 1x reaksiyon tamponu içerisinde 0,75 ünite Taq polimeraz içermektedir. Alele özgü 2. PCR’ ı takiben örnekler %2’ lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuştur. PCR reaksiyonlarında kullanılan primer dizilimleri aşağıdaki çizelgede verilmektedir (Çizelge 2.1).

Bu şartlarda elde edilen ürünler %2’lik agaroz jel elektroforez sonrası yabanıl ve mutant tip için tek bant, heterozigot tip için çift bant halinde belirlenmiştir ve 416 bp’de saptanmıştır.

Çizelge 2. 1: CYP1B1*2 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan primerler ve dizilimleri

Primer ismi	Primer dizilimi 5’ - 3’
ex2F	ACG ACC CTT GGC CGC TAA AC
ex2R	GCC ACC ACC GTG CGA GTC
Fm1wt	GGA GGC GGC AGC TCC
Fm1mt	GGA GGC GGC AGC TCG
Fm2wt	TCG CCG ACC GGC CGG
Fm2mt	TCG CCG ACC GGC CGT
1/2mutR	CAG CAG CGC CAC CAG CTC

Yukarıdaki aşamalarda uygun primerler kullanılarak önce m1 daha sonra m2 polimorfizimleri belirlenmiştir. İki mutasyon birbiriyle bağlantılı olduğu için örneklerin tamamında *CYP1B1**2 Arg48Gly (m1) polimorfizmi belirlendikten sonra örneklerin %10 u rastgele seçilerek *CYP1B1**2 Ala119Ser (m2) polimorfizmi belirlenmiş ve m1 ve m2 arasında %100 uyum olduğu saptanmıştır.

2.4.2. *CYP1B1**3 Leu432Val Polimorfizminin Belirlenmesi

*CYP1B1**3 Leu432Val polimorfizmi, Brünning ve arkadaşlarının (1999) Real-time PCR yöntemine göre belirlenmiştir. Buna göre 20 µl reaksiyon karışımı 4mM MgCl₂, her bir hibridizasyon probundan 1pmol, her bir primerden 20 pmol, 2 µl DNA master hibridizasyon karışımı ve 10ng DNA içermektedir. PCR koşulları 95°C’ de 2 dakikalık ilk denatürasyonu takiben 45 PCR döngüsü erime (95 °C 3 saniye), yapışma (55 °C 10 saniye) ve sentez (72 °C 25 saniye)’ dir. Yabanıl tip alele ait prob-DNA hibridinin, mutant alele ait prob-DNA hibridine göre daha yüksek erime sıcaklığı (T_m) vermesinden yararlanılarak genotip ayrımı yapılmıştır. Kullanılan prob ve primerler ve dizilimleri Çizelge 2.2.’de verilmiştir.

Çizelge 2.2: *CYP1B1**3 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan prob ve primerler ve dizilimleri

Primer/Prob İsmi	Primer/Prob dizilimi 5’-3’
Prob A	LCR- AACTTTGATCCAGCTCGATTCTTGGACAA-
Prob B	ATGACCCACTGAAGTGACCTAACCC-FL
Primer F	GAAATAAGAATTTTGCTCACTTGC
Primer R	CTTAGAAAGTTCTTCGCCAATG

2.5. İstatistiksel Analiz

Gözlenen genotip frekanslarının Hardy-Weinberg denklemine uygunluğunun belirlenmesinde ‘ki-kare testi’ kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma Grubunun Özellikleri

Çalışmamızda yer alan toplam 150 sağlıklı bireyin yaş ve cinsiyet özellikleri ile sigara içme durumu Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışma grubunda bulunan bireylerin yaş ve cinsiyet özellikleri

Karakteristik	Birey sayısı
Toplam	150
Yaş	
≤50	100
51-60	32
≥61	18
Cinsiyet	
Erkek	135
Kadın	15
Sigara	
İçen	70
İçmeyen	54
Bırakmış	26

3.2. *CYP1B1**2 Polimorfizmine Ait Genotip Bulguları

Aşağıdaki çizelge de *CYP1B1**2 polimorfizmine ait bulgular verilmiştir. 150 sağlıklı bireyin adı soyadı, cinsiyeti ve genotip sonuçları verilmiştir.

Toplam 150 sağlıklı bireyin genotipleri incelendiğinde; 71 kişinin (%47.33) yabancı tip (*CYP1B1**1/*1) genotipe, 67 kişinin (%44.66) heterozigot (*CYP1B1**1/*2) genotipe ve 12 kişinin (%8) homozigot mutant (*CYP1B1**2/*2) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Cinsiyete göre genotipler incelendiğinde ise 135 erkek bireyden, 65 kişinin (%48.15) yabancı tip (*CYP1B1**1/*1) genotipe, 60 kişinin (%44.44) heterozigot (*CYP1B1**1/*2) genotipe ve 10 kişinin de (%7.41) homozigot mutant (*CYP1B1**2/*2) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Kadınlarda ise 6 kişinin (%40) yabancı tip (*CYP1B1**1/*1) genotipe, 7 kişinin (%46.66) ise heterozigot (*CYP1B1**1/*2) genotipe, 2 kişinin ise (% 13.34) homozigot mutant (*CYP1B1**2/*2) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir.

Aşağıda *CYP1B1* Arg48Gly/ Ala119Ser polimorfizmine ait bazı sonuçlar verilmiştir. Gözlenen genotip frekansları Hardy- Weinberg denklemine göre beklenen genotip frekansları ile uyumlu bulunmuştur

($\chi^2=0,48$).

Çizelge 3. 2: Bireylere ait *CYP1B1**2 Arg48Gly(m1) genotip özellikleri ve cinsiyetleri

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
1	M.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*2
2	H.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*1
3	E.K.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*2
4	A.B.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *2/*2
5	M.K.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*1
6	U.Y.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*1

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
7	H.K	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
8	F.Ö	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
9	M.İ	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
10	F.Ö	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
11	A.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
12	K.Y	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
13	A.Ö	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
14	S.M	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
15	Y.K	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
16	E.S	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
17	F.A	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
18	Y.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
19	Z.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
20	Ş.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
21	Ö.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
22	R.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
23	A.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
24	İ.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
25	S.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
26	V.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
27	F.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
28	T.T.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
29	G.D.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
30	M.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
31	F.C.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
32	V.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
33	M.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
34	A.O.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
35	S.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
36	F.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
37	G.O.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
38	E.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
39	A.K.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
40	E.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
41	O.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
42	R.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
43	H.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
44	V.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
45	G.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
46	F.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
47	N.K.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
48	A.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
49	A.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
50	R.N.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
51	F.K.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
52	S.Y.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
53	E.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
54	A.F.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
55	A.R.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
56	İ.P.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
57	Y.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
58	H.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
59	F.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
60	E.T.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
61	A.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
62	A.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
63	M.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
64	S.A..	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
65	Y.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
66	M.Ş.N.I.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
67	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
68	H.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
69	F.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
70	R.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
71	Y.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
72	F.S.	Kadın	<i>CYP1B1*2/*2</i>
73	Y.Z.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
74	K.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
75	M.T.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
76	G.K.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
77	Z.Ö.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
78	İ.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
79	S.M.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
80	M.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
81	S.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
82	S.Z.M.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
83	R.G.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
84	F.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
85	N.E.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
86	H.A.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
87	F.T.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>
88	T.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
89	R.A.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
90	M.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
91	M.N.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
92	S.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
93	S.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*2</i>

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
94	H.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
95	D.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
96	T.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
97	S.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
98	R.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
99	N.I.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
100	B.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
101	R.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
102	S.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
103	Ş.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
104	A.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
105	F.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
106	S.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
107	C.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
108	Ş.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
109	K.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
110	H.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
111	E.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
112	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
113	B.H.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
114	İ.U.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
115	Y.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
116	E.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
117	H.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
118	O.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
119	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
120	S.U.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
121	D.C.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
122	Y.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>

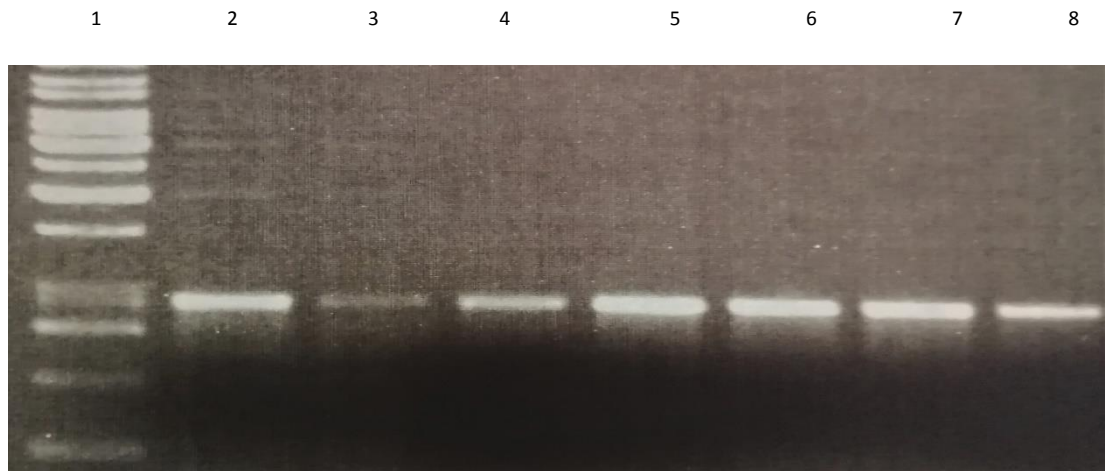
Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
123	H.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
124	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
125	T.A.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
126	T.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
127	T.Ü.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
128	E.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
129	M.C.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
130	E.P.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
131	H.P.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
132	R.C.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
133	İ.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
134	O.N.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
135	H.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
136	İ.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
137	A.K.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
138	H.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
139	F.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
140	B.A.	Erkek	<i>CYP1B1*2/*2</i>
141	Ç.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
142	B.Z.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
143	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
144	H.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
145	F.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
146	Ö.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
147	A.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*2</i>
148	M.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
149	M.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
150	H.H.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>

Aşağıdaki Çizelge 3.3'te gözlenen frekans değerleri (%) ile beklenen frekans değerleri (%) belirtilmiştir.

Çizelge 3.3: *CYP1B1**2 genotiplerinin dağılımı

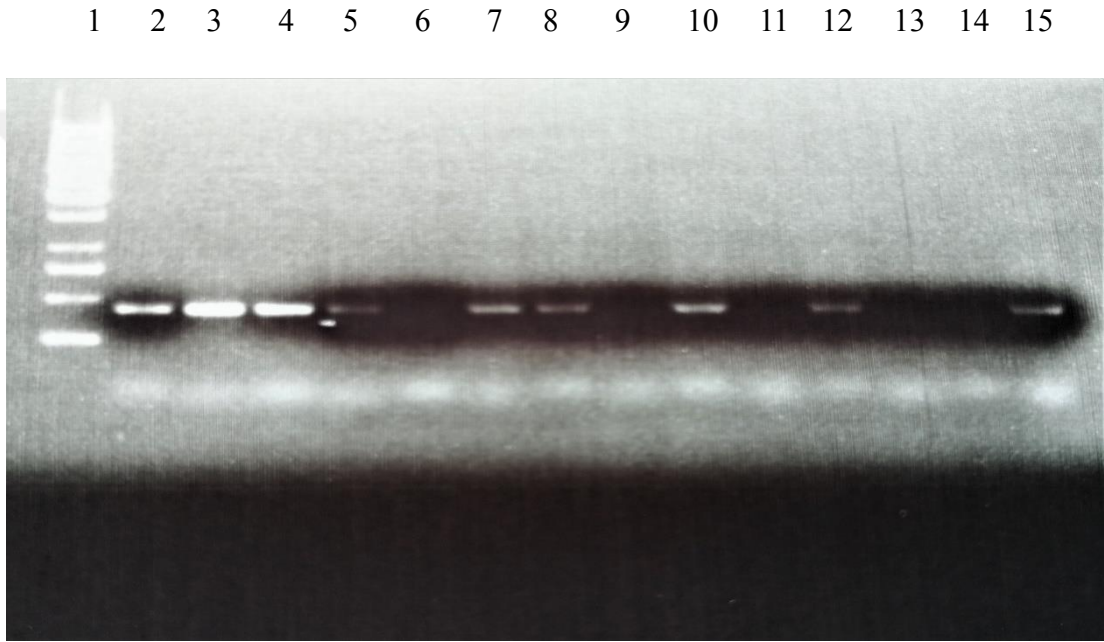
Genotip	n (150)	Gözlenen Frekans (%)	Beklenen Frekans (Hardy-Weinberg Eşitliğine Göre)
<i>CYP1B1</i> *1/*1	71	47,33	48,5
<i>CYP1B1</i> *1/*2	67	44,66	42,3
<i>CYP1B1</i> *2/*2	12	8	9,2

Şekil 3.1'de bazı örneklerin 1. PCR sonucunda elde edilen agaroz jeldeki görüntüleri görünmektedir. Her örnek için agaroz jelde tek bir kuyu kullanılmıştır ve ilk kuyuya 5 ul DNA Ladder (1kb) diğer kuyulara ise 15 ul örnek+ 3 ul DNA Loading (DNA bağlayıcı) olacak şekilde yükleme yapılmıştır. Örneklerin 100V, 500 mA' de 40 dakika boyunca jelde yürütülmüştür. Daha sonra UV ışığı altında kontrol edilmişlerdir.



Şekil 3.1. *CYP1B1**2 142C →G (m1) (Arg48Gly) polimorfizminin belirlendiği yedi numuneye ait alele özgü PCR1 ürünleri. PCR ürünleri 914 bp de görülmektedir.

Şekil 3.2 'de *CYP1B1**2 polimorfizminin belirlendiği yedi numuneye ait alele özgü PCR2 ürünleri 416 bp uzunluğunda görülmektedir. Her örnek için agaroz jelde ikişer kuyu kullanılmış, ilk kuyuya yabanıl tip primerin kullanıldığı PCR ürünü, ikinci kuyuya ise mutant primerin kullanıldığı PCR ürünü yüklenmiştir. 2-3, 4-5 nolu kuyular (sütunlar) heterozigot numuneleri, 8-9, 10-11, 12-13 nolu kuyular yabanıl tip numuneleri ve 6-7 ve 14-15 nolu kuyular mutant numuneyi göstermektedir. 1 nolu sütunda ise 1 kb lik DNA Ladder görünmektedir.



Şekil 3.2. *CYP1B1**2 142C →G (m1) (Arg48Gly) polimorfizminin belirlendiği yedi numuneye ait alele özgü PCR2 ürünleri. PCR ürünleri 416 bp de görülmektedir.

*CYP1B1**2 355G→T (m2) (Ala119Ser) polimorfizmi 150 bireye ait örnekler arasından rastgele seçilen 15 örnekte belirlenmiştir. Sonuçların *CYP1B1**2 142C→G (m1) (Arg48Gly) polimorfizm sonuçları ile %100 uyumlu olduğu gözlenmiştir.

3.3. *CYP1B1**3 Polimorfizmine Ait Genotip Bulguları

Aşağıdaki çizelge de *CYP1B1**3 Leu432Val polimorfizmine ait sonuçlar verilmiştir. Bireylerin ad soyadı, cinsiyeti ve belirlenen genotip özellikleri çizelge de belirtilmiştir (Çizelge 3.4).

Toplam 150 sağlıklı bireyden 59'nun (%39,33) yabanıl tip (*CYP1B1**1/*1) genotipe, 76'sının (%50,67) heterozigot (*CYP1B1**1/*3) genotipe, 15'nin (%10) ise homozigot mutant (*CYP1B1**3/*3) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Cinsiyete göre genotiplere bakıldığında ise erkek bireylerde 52 kişinin (%38.52) yabanıl tip (*CYP1B1**1/*1) genotipe, 70 kişinin (%51,85) heterozigot (*CYP1B1**1/*3) genotipe ve 13 kişinin ise (%9.63) homozigot mutant (*CYP1B1**3/*3) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Kadınlarda ise 7 kişinin (%46.66) yabanıl tip (*CYP1B1**1/*1) genotipe, 6 kişinin (%40) heterozigot (*CYP1B1**1/*3) genotipe, 2 kişinin ise (%13.34) homozigot mutant (*CYP1B1**3/*3) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir.

Belirlediğimiz genotip frekansları Hardy-Weinberg denkleminde göre beklenen genotip frekansı ile uyumlu bulunmuştur ($\chi^2 = 1,794$).

Çizelge 3. 4: Bireylere ait *CYP1B1**3 Leu423Val genotip özellikleri ve cinsiyetleri

Sıra	İsim Soyisim	Cinsiyet	Genotip
1	M.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*3
2	H.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*3
3	E.K.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*3
4	A.B.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*3
5	M.K.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *3/*3
6	U.Y.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *3/*3
7	H.K.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *3/*3
8	F.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1</i> *1/*1

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
9	M.İ	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
10	F.Ö	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
11	A.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
12	K.Y	Kadın	<i>CYP1B1*3/*3</i>
13	A.Ö	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
14	S.M	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
15	Y.K	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
16	E.S	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
17	F.A	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
18	Y.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
19	Z.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
20	Ş.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
21	Ö.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
22	R.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
23	A.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
24	İ.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
25	S.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
26	V.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
27	F.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
28	T.T.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
29	G.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
30	M.K.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
31	F.C.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
32	V.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
33	M.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
34	A.O.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
35	S.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
36	F.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
37	G.O.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*3</i>

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
38	E.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
39	A.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
40	E.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
41	O.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
42	R.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
43	H.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
44	V.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
45	G.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
46	F.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
47	N.K.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
48	A.B.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
49	A.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
50	R.N.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
51	F.K.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*3</i>
52	S.Y.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
53	E.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
54	A.F.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
55	A.R.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
56	İ.P.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
57	Y.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
58	H.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
59	F.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
60	E.T.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
61	A.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
62	A.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
63	M.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
64	S.A..	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
65	Y.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
66	M.Ş.N.I.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
67	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
68	H.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
69	F.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
70	R.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
71	Y.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
72	F.S.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
73	Y.Z.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
74	K.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
75	M.T.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*3</i>
76	G.K.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
77	Z.Ö.	Kadın	<i>CYP1B1*3/*3</i>
78	İ.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
79	S.M.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*3</i>
80	M.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
81	S.K.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
82	S.Z.M.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
83	R.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
84	F.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
85	N.E.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
86	H.A.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*3</i>
87	F.T.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*3</i>
88	T.K.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
89	R.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
90	M.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
91	M.N.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
92	S.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
93	S.G.	Kadın	<i>CYP1B1*1/*1</i>
94	H.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
95	D.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>

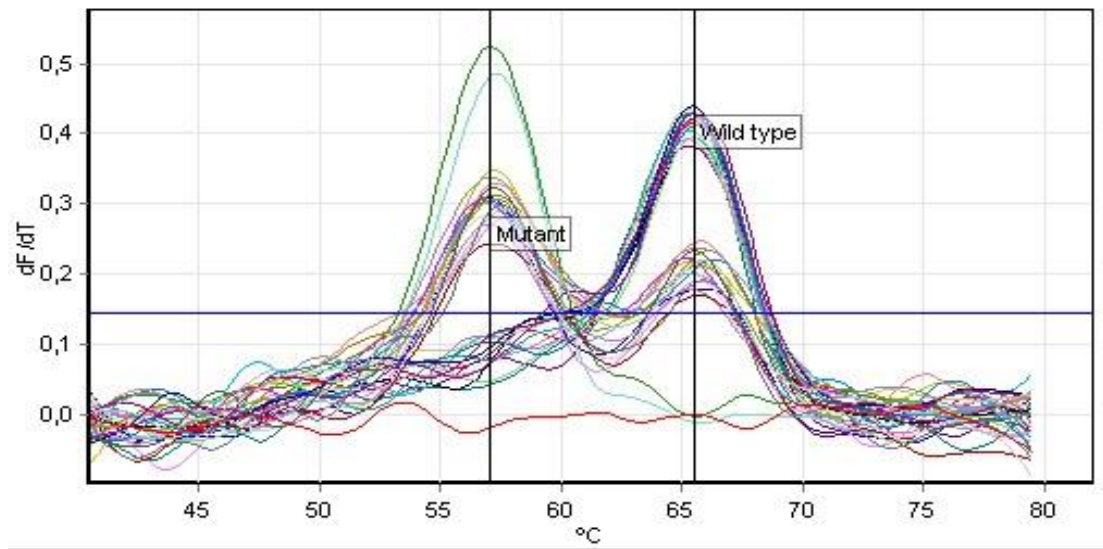
Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
96	T.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
97	S.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
98	R.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
99	N.I.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
100	B.İ.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
101	R.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
102	S.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
103	Ş.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
104	A.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
105	F.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
106	S.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
107	C.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
108	Ş.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
109	K.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
110	H.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
111	E.A.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
112	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
113	B.H.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
114	İ.U.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
115	Y.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
116	E.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
117	H.K.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>
118	O.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
119	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
120	S.U.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
121	D.C.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
122	Y.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
123	H.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
124	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>

Sıra	İsim Soysim	Cinsiyet	Genotip
125	T.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
126	T.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
127	T.Ü.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
128	E.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
129	M.C.D.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
130	E.P.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
131	H.P.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
132	R.C.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
133	İ.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
134	O.N.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
135	H.B.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
136	İ.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
137	A.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
138	H.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
139	F.E.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
140	B.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
141	Ç.S.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
142	B.Z.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
143	A.A.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
144	H.Ç.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
145	F.Y.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
146	Ö.G.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
147	A.T.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
148	M.K.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*1</i>
149	M.Ö.	Erkek	<i>CYP1B1*1/*3</i>
150	H.H.	Erkek	<i>CYP1B1*3/*3</i>

Çizelge 3.5’ te *CYP1B1**3 Leu423Val polimorfizmine ait genotip frekansları ve beklenen frekans değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.5: *CYP1B1**3 genotiplerinin dağılımı

Genotip	n (150)	Gözlenen Frekans (%)	Beklenen Frekans (%) (Hardy-Weinberg Eşitliğine Göre)
<i>CYP1B1</i> *1/*1	59	39,33	41,8
<i>CYP1B1</i> *1/*3	76	50,67	45,7
<i>CYP1B1</i> *3/*3	15	10	12,5



Şekil 3.3. Real-time PCR ile genotip ayrımı için kullanılan erime sıcaklığı grafiği ile *CYP1B1**3 polimorfizmine ait bazı bireylerin sonuçları.

4. TARTIŞMA

Toksik maddelerin detoksifikasyonundan sorumlu metabolik enzimlerin en önemli gruplarından birisi de CYP süper ailesidir. Bu ailenin önemli bir izozimi olan CYP1B1, reaktif östrojen metabolitlerinin oluşmasında ve PAH' lar gibi çevresel karsinojenlerin aktivasyonunda görev alan anahtar bir enzimdir. Metabolik aktivasyon sonucunda oluşan ürünler, esas bileşikten daha toksik hale gelmektedirler ve DNA hasarı oluşturabilmektedir. *CYP1* ailesindeki diğer genlerden farklı olarak *CYP1B1*, prostat, meme, uterus ve endometrium gibi steroidojenik dokularda yüksek oranda ifade edilir. Bu durum hormon aracılı kanserlerdeki rolünü göstermektedir. CYP1B1'in kimyasal karsinogenezisdeki rolü ilk olarak *cyp1b1*'den yoksun farelerde gösterilmiştir. Bu farelerin fibroblast hücrelerinin 7,12- dimetilbenz[a]antrasen (7,12-DMBA) tarafından oluşturulan tümörlere dirençli olduğu gözlenmiştir. Bu durum CYP1B1'nin günümüzde bir neoplastik fenotip göstergesi olarak da düşünülmesine neden olmuştur.

CYP1B1 geni kromozom 2p21 de lokalize olmuştur ve 543 aminoasitlik bir proteini kodlar. İnsan *CYP1B1* geninde aminoasit değişimine ve enzim aktivitesinde değişikliğe neden olan 5 farklı tek nükleotit polimorfizmi bildirilmiştir. Bunlar Arg48Gly (*CYP1B1**2), Ala119Ser (*CYP1B1**2), Leu432Val (*CYP1B1**3), Asn453Ser (*CYP1B1**4) ve Ala443Gly (*CYP1B1**7) polimorfizmleridir. Bu polimorfizmlerden Arg48Gly, Ala119Ser, Leu432Val ve Asn453Ser'in yüksek hidroksilasyon aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ala119Ser ve Leu432Val polimorfizmlerinin yabanıl tip enzime göre 2 ile 4 kat yüksek aktivite gösterdikleri bilinmektedir. Dolayısıyla CYP1B1 aktivitesi yüksek olan bireylerde gerek endojen maddelerin gerekse de eksojen çevresel kimyasalların karsinojenik ve mutajenik özellikteki aktif ara ürünlerinin fazla miktarda oluşmasına bağlı olarak farklı kanser türlerine yakalanma riski daha yüksek olabilmektedir. Dolayısıyla bu polimorfizmlerin çeşitli kanser türlerinin gelişme riskine katkıda bulunabileceği

düşünülmektedir. Nitekim literatürde çelişkili sonuçlar olmakla birlikte, birçok çalışmada *CYP1B1* polimorfizmlerinin çeşitli kanser türlerinin oluşma riskini arttırdığını farklı toplumlarda gösteren çalışmalar mevcuttur.

Kanser gelişimine katkıda bulunan genlerdeki polimorfik farklılıklar moleküler epidemiyoloji çalışmalarının önemli bir unsurudur. Bu polimorfik farklılıklar, özellikle tek nükleotit polimorfizmleri hormonlara, hormon metabolitlerine, prokarsinojenlere ve ksenobiyotiklere daha yüksek oranda maruz kalan bireylerin kansere duyarlılıklarına kısmen de olsa açıklık getirebilir. Yapılan polimorfik çalışmalarda göstermiştir ki üzerinde çalıştığımız *CYP1B1* enzimi ve diğer pek çok polimorfik enzim türlerinin, çevresel kimyasal bileşikler ve kanser gelişimi üzerindeki etkilerinin araştırılması oldukça önemlidir. Genetik polimorfizm ile polimorfik özellik gösteren enzimin aktivitesi değişebilmekte ve bu durum bireylerin karsinojenleri metabolize etme kapasitelerini değiştirebilmektedir. Özellikle çevresel prokarsinojenlerin karsinojen türevlerine dönüşümleri hızlanmakta ve dolayısıyla varyant genotipe sahip bazı bireylerin kansere duyarlılığını etkileyebilmektedir.

Genetik polimorfizmin gerek aynı toplum içinde farklı alt grupların gerek toplumlar arasında belirlenmesi, bazı hastalıkların veya patolojik durumların belirli toplumlarda neden daha fazla görüldüğünü belirlemek adına oldukça önemlidir.

Türk toplumunda 50 kadında yapılan bir çalışmada *CYP1B1**2 alel frekansı %29, *CYP1B1**3 alel frekansı %71,5 bulunmuştur. (Kocabaş ve ark., 2005). Bu çalışmada ise 150 sağlıklı bireyin *CYP1B1**2 alel frekansı %30,33, *CYP1B1**3 alel frekansı %35,34 bulunmuştur. Buna göre *CYP1B1**2 alel frekansı Türk toplumunda yapılan önceki çalışma ile uyumluluk taşımaktadır. Ancak *CYP1B1**3 alel frekansı önceki çalışma ile uyumlu bulunmamıştır. Bu farklılık *CYP1B1**3 polimorfizmi belirlenirken iki çalışma arasındaki kullanılan yöntem farkından kaynaklanıyor olabilir. Kocabaş ve arkadaşlarının çalışmasında klasik PCR yöntemi kullanılırken bizim çalışmamızda bu polimorfizmi belirlemek için Real-Time PCR yöntemi kullanılmıştır.

Farklı ülke toplumları arasındaki aynı gene ait polimorfik farklılıkları belirlemek toplumların o gen ile ilişkili hastalıklara yatkınlığını irdelemek ve öngörebilmek açısından oldukça önemlidir. Bütün bu belirtilenler ışığında üzerinde çalıştığımız polimorfizmlerin diğer ülkeler ile kıyaslama yapılması gerekmektedir. Üzerinde çalıştığımız polimorfizmlerin sonuçlarını diğer ülke toplumları ile yapılan çalışma sonuçlarıyla kıyasladığımızda aşağıdaki çizelgeler elde edilmiştir.

*CYP1B1*2* polimorfizminin diğer ülkelere göre dağılımları incelendiğinde Almanlar üzerinde yapılan çalışmada *CYP1B1*2* 'nin alel frekansı %30,16, Kanadalılarda %29,15, Polonyalılarda %33,42, İspanyollarda %20,74 ve bizim çalışmamızda ise %30,33 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). *CYP1B1*2* alel frekansı Almanya, Kanada ve Polonya toplumları ile benzerlik göstermekte, sadece İspanyol toplumunda yapılan çalışmadan farklılık taşımaktadır. Dolayısıyla *CYP1B1*2* polimorfizminin toplumumuzdaki görülme sıklığının beyaz ırk toplumları ile benzerlik taşıdığı söylenebilir.

Çizelge 4.1: *CYP1B1*2* polimorfizm sonuçlarının diğer ülkelerle karşılaştırılması

Ülke	n (Örnek Sayısı)	Arg48Gly (Yabanıl tip) (%)	Arg48Gly (Heterozigot Tip) (%)	Arg48Gly (Homozigot Mutant) (%)	Referanslar
Almanya	675	47,70	44,29	8,01	Rudolph ve ark. (2011)
Kanada	1292	50,38	40,94	8,68	Cleary ve ark. (2010)
Polonya	597	44,39	44,39	11,22	Trubicka ve ark. (2010)
İspanya	258	62,40	33,72	3,88	Landi ve ark. (2005)
Türkiye	150	47,33	44,66	8	Bu çalışma

*CYP1B1**3 polimorfizminin bu çalışma ve diğer ülkelerle olan sonuçları incelendiğinde ise; Çek Cumhuriyeti’nde *CYP1B1**3 alel frekansı %40,07, Çin’de %17,27, Almanlarda %40,67, Hintlilerde 21,67, Amerikalılarda %54,45 ve bu çalışmamızda ise %35,34 bulunmuştur (Çizelge 4.2). Çizelgeden de görüleceği üzere *CYP1B1**3 alel frekansı Almanya ve Çek Cumhuriyeti toplumları ile benzerlik göstermektedir. Ancak Çin, Hindistan ve Amerikan toplumları ile yapılan çalışmalardan farklılık göstermektedir. Bu durum *CYP1B1**3 polimorfizminin Türk toplumunda görülme sıklığının Avrupa beyaz ırk toplumları ile benzerlik taşıdığını göstermektedir. Çalışma sonuçlarımızın Çin, Hindistan ve Amerikan toplumları ile yapılan çalışmaların sonuçlarından farklılık göstermesini ırk farklılıklarından (Çin, Hindistan - Asya ırkı ve Amerika - Afro Amerikan ırkı) kaynaklanması ile açıklayabiliriz.

Çizelge 4.2: *CYP1B1**3 polimorfizm sonuçlarının diğer ülkeler ile karşılaştırılması

Ülke	n (Örnek Sayısı)	Leu432Val (Yabanıl tip) (%)	Leu432Val (Heterozigot) (%)	Leu432Val (Homozigot mutant) (%)	Referanslar
Çek Cum.	122	30,83	58,20	10,97	Soucek ve ark. (2010)
Çin	278	69,78	25,90	4,32	Tai ve ark. (2010)
Almanya	300	36,33	46	17,67	Harth ve ark. (2008)
Hindistan	150	60,67	35,33	4	Singh ve ark. (2008)
Amerika	1226	20,88	49,34	29,78	Li ve ark. (2005)
Türkiye	150	39,33	50,67	10	Bu çalışma

Bu veriler ışığında ülkemizde *CYP1B1* polimorfizmi ile ilgili çalışmalar çok az sayıda olmakla beraber bu gen polimorfizmlerinin Türk toplumunda görülme sıklığı ile ilgili net veriler bulunmamaktadır. Aynı ülkedeki farklı topluluklarda farklı

genotip sonuçları alındığından bir ülkeye ait az sayıdaki çalışma sağlıklı bir genelleme yapılmasına yetecek yeterli veriyi oluşturamaz. Dolayısıyla bu  alışma Türk toplumunda bu polimorfik genin dağılımını ortaya koyma ve diğer toplumlarla karşılaştırma yapabilme olanağı vermiştir. İlavenen ileriye dönük olarak Türk toplumunda kanser ve çeşitli hastalıklarda bu polimorfik genin etkisinin ne ölçüde olabileceğinin belirlenmesine yardımcı olabilecektir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tüm sonuçlar ve bilgiler ışığında;

1. *CYP1B1**2 polimorfizminin diğer Avrupa beyaz ırkları ile karşılaştırıldığında benzerlikler gösterdiği,
2. *CYP1B1**3 polimorfizminin diğer Avrupa beyaz ırkları ile karşılaştırıldığında benzerlik gösterdiği ancak Çin ve Hindistan gibi Asya ırkları ve Afro Amerikan ırkları ile farklılıklar gösterdiği söylenebilir.

Öneriler:

CYP1B1 polimorfizmlerinin over, endometrium, böbrek, prostat ve akciğer kanseri gibi çeşitli kanserlerle, ayrıca glaukoma gibi hastalıklarla ve son dönemde obezite ve kalp hastalıkları ile de ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar göz önüne alındığında toplumumuzda *CYP1B1* polimorfizminin hem kadınlarda hem de erkeklerde belirlenmesi gerekmektedir. Aynı zamanda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler hala belirsizliğini korumaktadır. Daha kesin ve tutarlı sonuçlar elde edebilmek için, farklı ve aynı popülasyonlarda yapılan çalışmalar, kişi sayısı, beslenme koşulları, yaşam şartları ve aile öyküsü gibi parametrelerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu tarz araştırmalar daha çok kişi üzerinde ve daha kapsamlı yapılmalıdır.

ÖZET

Türk Toplumunda Bazı Bireylerde CYP1B1 Gen Polimorfizminin İncelenmesi

Toksik maddelerin detoksifikasyonundan sorumlu metabolik enzimlerin en önemli gruplarından birisi sitokrom P450 (CYP) süper ailesidir. Birçok karsinojen bileşiğin 1. faz enzimleri ile oksidasyon sonrası biyoaktivasyona uğradığı ve bu metabolik aktivasyonun yoğun olarak CYP ailesi tarafından gerçekleştirildiği düşünüldüğünde CYP ekspresyonundaki değişiklikler etkin bir toksikolojik faktördür. CYP1, CYP1A ve CYP1B olmak üzere iki alt aileye ayrılır. Bu gruptaki enzimler içerisinde CYP1B1 izozimi önemli bir yere sahiptir. CYP1B1, reaktif östrojen metabolitlerinin oluşmasında ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi çevresel karsinojenlerin aktivasyonunda görev alan önemli bir enzimdir. *CYP1B1* geninde meydana gelen polimorfizmler enzim aktivitesinde değişikliğe yol açar. Bunun sonucunda glokom, obezite ve kalp-damar hastalıkları gibi hastalıklarla ilişkili olabilecekleri gibi hormon aracılı kanserlerle, aynı zamanda polisiklik aromatik hidrokarbonların metabolizmasında rol oynadıkları için akciğer kanseri ile de ilişkili olabilirler. *CYP1B1* geninde meydana gelen tek nükleotit polimorfizmlerinden *CYP1B1**2 (Arg48Gly, Ala119Ser) ve *CYP1B1**3 (Leu432Val) polimorfizmleri enzimin aktivitesinde değişikliklerle sonuçlanır. Bu çalışmada *CYP1B1**2 ve *CYP1B1**3 polimorfizmleri Türk toplumunda 150 sağlıklı bireyde incelenmiş ve bu polimorfizmler farklı toplumlarda yapılan önceki çalışmalardaki sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak *CYP1B1* genindeki *CYP1B1**2 ve *CYP1B1**3 polimorfizmlerinin Avrupa beyaz ırk toplulukları ile benzer olduğu, ancak diğer ırktaki toplumlarla benzerliğin olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: CYP1B1, Çevresel Karsinojenler, Polimorfizm, Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

SUMMARY

Investigation of CYP1B1 Gene Polymorphism in Some Individuals in Turkish Population

One of the most important groups of metabolic enzymes responsible for detoxification of toxic substances is the cytochrome P450 (CYP) super family. Considering that many carcinogenic compounds are bioactivated by phase 1 enzymes after oxidation and this metabolic activation is intensely carried out by the CYP family, changes in CYP expression are an effective toxicological factor. CYP1 is divided into two subfamilies, CYP1A and CYP1B. CYP1B1 isozyme has an important place among enzymes in this group. CYP1B1 is an important enzyme involved in the formation of reactive estrogen metabolites and activation of environmental carcinogens such as polycyclic aromatic hydrocarbons. Polymorphisms occurring in the *CYP1B1* gene cause changes in enzyme activity. As a result, they may be associated with diseases such as glaucoma, obesity and cardiovascular diseases, as well as with hormone-mediated cancers, as well as lung cancer as they play a role in the metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. *CYP1B1**2 (Arg48Gly, Ala119Ser) and *CYP1B1**3 (Leu432Val) polymorphisms of single nucleotide polymorphisms that occur in the CYP1B1 gene result in a change in the activity of the enzyme. In this study, *CYP1B1**2 and *CYP1B1**3 polymorphisms were examined in 150 healthy individuals in the Turkish population and these polymorphisms were compared with the results of previous studies conducted in different populations. As a result, it was determined that *CYP1B1**2 and *CYP1B1**3 polymorphisms in the CYP1B1 gene are similar to European Caucasian populations, but not with other racial populations.

Keywords: CYP1B1, Environmental Carcinogens, Polymorphism, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

KAYNAKLAR

- ADA AO, KUNAK SC, HANCER F, BİLGİN S, SÜZEN SH, ALPAR S, GÜLHAN M, KURT MB, İŞCAN M. (2010). CYP and GST polymorphisms and survival in advanced non-small cell lung cancer patients. *Neoplasma*, **57**, 6.
- AKLILLU E, OSCARSON M, HIDESTRAND M, LEIDVIK B, OTTER C (2002). Functional analysis of six different polymorphic CYP1B1 enzyme variants found in an Ethiopian population. *Mol Pharmacol*; **61**: 586-594.
- ALSUBAIT A, ALDOSSARY W, RASHID M, ALGAMDI A, ALRFAEI BM. (2020). CYP1B1 gene: Implications in glaucoma and cancer. *J Cancer*, **11(16)**:4652-4661.
- ALVER E., DEMİRCİ A., ÖZCİMDER M. (2012). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve sağlığa etkileri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **3(1)**: 45-52.
- ANDARIEH MG, ZABIHI E, MOSLEMI D, DELAVAR MA, HAJI-AHMADI M, MONFERAD AS, JORSARAEI SGA, GHASEMI M, ESMAEILZAHED S. (2017). Cytochrome P-450 1B1 Leu432Val Polymorphism Does Not Show Association With Breast Cancer in Northern Iranian Women With a History of Infertility. *Biomark Insights* **12**:1177271916689058.
- ANTONARAKIS SE. (1998). Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. *Human mutations*, **11(1)**: 1-3.
- ANZERBACHER P, ANZERBACHEROVA E. (2001). Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. *Cell Mol Life Sci*, **58 (5-6)**: 737-747.
- ARSLAN S, KARADAYI S, YILDIRIM ME, ÖZDEMİR O, AKKURT I. (2011). The association between methylene- tetrahydrofolate reductase gene polymorphism and lung cancer risk. *Molecular biology reports*, **38(2)**: 991-996.
- AYPAK ÜS. (2009). Zenobiyotik metabolizması. *YYU Veteriner fakültesi dergisi 2009*, **20(2)**: 75- 78.
- BAILEY LR, ROODI N, DUPONT WD, PARL FF. (1998). Association of cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphism with steroid receptor status in breast cancer. *Cancer Res.*, **58(22)**:5038-41.
- BANDIERA S, WEIDLICH S, HARTH V, BROEDE P, KO Y, FRIEDBERG T. (2005). Effect of the Asn453Ser polymorphism on the post-translation regulation of CYP1B1 expression. *Molecular pharmacology*, **67(2)**: 435-443.
- BRUNING T, ABEL J, KOCH B, LORENZEN K, HARTH V, DONAT S, SACHINIDIS A, VETTER H, BOLT HM, KO Y. (1999). Real-time PCR-analysis of the cytochrome P450 1B1 codon 432-polymorphism. *Arch Toxicol*. **73(8-9)**:427-30.
- BUTTERS JT, SAKAI S, RICHTER T, PINEAU T, ALEXANDER DL, SAVAS U, DOEHMER J, WARD JM, JEFCOATE CR, GONZALEZ FJ. (1999). Cytochrome P450 CYP1B1 determines susceptibility to 7,12- dimethylbenz [a] anthracene-induced

- lymphomas. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, **959(1)**: 341-354.
- CAVALIERI EL, ROGAN EG. (2002). A unified mechanism in the initiation of cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **959(1)**: 341-354.
- CAVALLI-SFORZA LL, BODMER WF. (1999). *The Genetics of human populations*. Courier Dover Publications.
- CECCHIN E, RUSSO A, CAMPAGNUTTA E, MARTELLA L, TOFFOLI G. (2004). Lack of association of CYP1 B1*3 polymorphism and ovarian cancer in a Caucasian population. *Int J Biol Markers*, **19**: 160-163.
- CERNANOVA V, DANKOVA Z, LUPTAKOVA L, CVICELOVA M, SIVIKOVA D. (2016). The association of Asn453Ser polymorphism in CYP1B1 gene with selected somatic and biochemical variables in Slovak women of different menopause **statüs**. *Menopause* , **23(5)**:577-83.
- CHEN B, QIU LX, LI Y, XU W, WANG XL, ZHAO WH, WU JO. (2010). The CYP1B1 Leu432Val polymorphism contributes to lung cancer risk: Evidence from 6501 subject. *Lung Cancer*, **70(3)**: 247-252.
- CLEARY V, HEGARTY J. (2010). Understanding sexuality in women with gynaecological cancer. *Eur J Oncol Nurs*, **15(1)**:38-45.
- CLEMENS MR. (1991). Free radicals in chemical carcinogenesis. *Klinische Wochenschrift*, **69(21-23)**: 1123-1134.
- CRESPI CL, BRUCE W, STEIMEL DT, SMITH T, YANG CS, SUTTER TR. (1997). Development of a human lymphoblastoid cell line constitutively exoressing human CYP1B1 cDNA: substrate specificity with model substrate and promutagens. *Mutagenesis*, **12(2)**: 83-89.
- ÇALOĞLU M, ÇALOĞLU V, UZAL C, KARAGÖL H, TOKATLI F, UYGUN K. (2005). Larenks Kanserli Olgularda Lokal Bölgesel Kontrol Sonuçlarımız ve Prognostik Faktörler: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Deneyimi. *Türk Onkoloji Dergisi*, **20(1)**: 20-26.
- DANIELSON PB. (2002). The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Current drug metabolism*, **3(6)**: 561-597.
- DAWSON JH, SONO M. (1987). Cytochrome P-450 and chloroperoxidase: thiolate-ligate heme enzymes. Spectroscopic determination of their active-site structures and mechanistic implications of thiolate ligation. *Chemical Reviews*, **87(5)**: 1255-1276.
- ECONOMOPOULOS KP, SERGENTANIS TN. (2010). Three polymorphism in cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) gene and breast cancer risk: a meta analysis. *Breast cancer research and treatment*, **122(2)**: 545-551.
- ELING T, CURTIS J, BATTISTA J, MARNETT LJ. (1986). Oxidation of (+) – 7,8-dihydroxy -7,8- dihydrobenzo [a] pyrene by Mouse keratinocytes: evidence for peroxy radical and monooxygenase-dependent metabolism. *Carcinogenesis*, **7(12)**: 1957-1963.

- ERBAYCU AE, USLU Ö, TUKSAVUL F, GÜLPEK M, GÜRSOY S, DELİBAŞ M, GÜÇLÜ SZ. (2009). Sigara içenlerde ve içmeyenlerde Akciğer Kanseri: Genel Özelliklerde Farklılık Var Mı? *International Journal of Hematology and Oncology*. **2(19)**: 95-99.
- ERGÜÇ Eİ, ORHAN HG. (2019). Östrojenle indüklenen meme kanseri tedavi yaklaşımları ve melatoninin tedavideki yeri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, **39(2)**: 113-128.
- FALBOVA D, VOROBEOVA L, CERNANOVA VC, BENUS R, WSOLOVA L, SIVAKOVA D. (2020). Association of cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms and environmental biomarkers with hypertension in Slovak midlife women. *Menopause*. doi: 10.1097/GME.0000000000001605.
- FRANKLIN MR, YOST GS. (2000). Biotransformation: Abalance between Bioactivation and Detoxification, Chapter 3. WILLIAMS, P.L. (2000). *Principles of Toxicology Environmental and Industrial Applications*, 2nd Edition. Published in Canada.
- FRIEDBERG EC, WALKER GC., SIEDE W. (1995) DNA Repair and Mutagenesis. *American Society for Microbiology Press*, Washington, DC.
- GARFINKEL D. (1958). Studies on pig liver microsomes. I. Enzymic and pigment composition of different microsomal fractions. *Archives of biochemistry and biophysics*, **77(2)**: 493-509.
- GHISARI M, LONG M, ROGE DM, OLSEN J, BONEFELD- JORGENSEN E. (2017). Polymorphism in xenobiotic and estrogen metabolizing genes, exposure to perfluorinated compounds and subsequent breast cancer risk: A nested case-control study in the Danish National Birth Cohort. *Environ Res.*; **154**:325-333.
- GONZALEZ FJ, TUKEY RH. (2006). Drug metabolism. Goodman and Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutic*. **11^a ed.** McGraw- Hill, 71-91.
- GOODMAN M T, MCDUFFIE K, KOLONEL LN, TERADA K, DONLON TA, WILKENS LR, GUO C, LE MARCHAND L. (2001). Case- control study of ovarian cancer and polymorphisms in genes involved in catecholestrogen formation and metabolism. *Cancer Epidemiology Biomarkers, prevention*, **10(3)**: 209-216.
- GORINOVA N, NEDKOVSKA M, ATANASSOV A. (2005). Cytochrome P450 monooxygenases as a tool for metabolizing of herbicides in plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **19(1)**: 105.
- GUEGUEN Y, MOUZAT K, FERRARI L. (2006). Cytochromes P450: xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance. *Ann Biol. Clin*, **64(6)**: 535-548.
- GÜLHAN PY, ATAÖĞLU Ö, BALBAY EG, ANNAKKAYA AN. (2019). Akciğer Kanseri Tanısıyla Serviste Yatırılarak İzlenen Hastalarımızın Genel Özellikleri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **9(3)**: 150-154.
- GÜNEŞ S, BAĞCI H, SARIKAYA Ş. (2003). Prostat kanseri genetiği. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi*, **20(3)**: 152-158.

- HARTH V, SCHAFER M, ABEL J, MAINTZ L, NEUHAUS T, BESUDEN M, PRIMKER, WILKESMANN A, THIER R, VETTER H, KO YD, BRUNING T, BOLT H, ICKSTADT K. (2008). Head and neck squamous-cell cancer and its association with polymorphic enzymes of xenobiotic metabolism and repair. *J Toxicol Environ Health* **71(13-14)**:887-97.
- HAYES CL, SPINK DC, SPINK BC, CAO JQ, WALKER NJ, SUTTER TR. (1996). 17 beta-estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **93(18)**: 9776-9781.
- HENDERSON BE, ROSS RK, PIKE MC, CASAGRANDE JT. (1982). Endogenous hormones as a major factor in human cancer. *Cancer Research*, **42(8)**: 3232-3239.
- HOOD CA, GERMAN F, PATEL H, PAGE K, MENAKURU M, PARK JH. (2007). Fast conventional Fmoc solid-phase peptide synthesis with HCTU. *Journal of Peptide Science*, **14**: 97-101.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). (1983). Polynuclear aromatic compounds: Part I. Chemical, environmental and experimental data. *IARC Monographs on the Evaluations of Carcinogenic Risk Chemicals on Human*, **32**: 1-453.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). (1984). Polynuclear aromatic compounds, Part 3, industrial exposures in aluminium production, coal gasification, coke production and iron and steel founding. *IARC Monographs on the Evaluations of Carcinogenic Risk Chemicals on Human*, **34**: 1-129.
- JIN J, LIN F, LIAO S, BAO Q, NI L. (2014). Effects of SNPs (*CYP1B1**2 G355T, *CYP1B1**3 C4326G, and *CYP2E1**5 G-1293C), smoking, and drinking on susceptibility to laryngeal cancer among Han Chinese . *PLoS One*, **9(10)**: e106580.
- JOHN K, RAGAVAN N, PRATT MM, SINGH PB, AL-BUHEISSI S, MATANHELLA SS, MARTIN FL. (2009). Quantification of phase I/II metabolizing enzyme gene expression and polycyclic aromatic hydrocarbon -DNA adduct levels in human prostate. *The Prostate*, **69(5)**: 505-519.
- KACHAKOVA D, MITKOVA A, POPOV E, BELTCHEVA O, VLAHOVA A, DĪKOV T, CHRISTOVA S, MITEV V, SLAVOV C, KANEVA R. (2016). Polymorphisms in androgen metabolism genes AR, CYP1B1, CYP19, and SRD5A2 and prostate cancer risk and aggressiveness in Bulgarian patients. *Turk J Med Sci*, **46**: 626-640.
- KARAHASANOĞLU T. (2001). Kolorektal Kanserler: Tanı ve Cerrahi Tedavi. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu*, 271-279.
- KLAASEN CD, WATKINS III JB. (2017). Casarett & Doull's Toksikolojinin Temelleri . Ankara Nobel Tıp Kitapevi, s: 79.
- KLINGENBERG M. (1958). Pigments of rat liver microsomes. *Archives of biophysics*, **75(2)**: 376-386.

- KOCABAŞ NA, SARDAŞ S, KARAKAYA AE. (2005). Polymorphisms related to estrogen and xenobiotic metabolism in healthy Turkish women. *Arch Med Res.* ,**36(1)**: 19-23.
- KRONENBERG S, ESSER C, CRKBERG C. (2000). An aryl hydrocarbon receptor conformation acts as the Functional core of nuclear dioxin signaling. *Nucleic acids research*, **28(12)**: 2286-2291.
- KUMAR V, SINGH S, AHMED RS, BANERJEE BD, AHMED T, PASHA ST. (2009). Frequency of common CYP1B1 polymorphic variations in Delhi population of Northern India. *Environ Toxicol Pharmacol.*, **28(3)**: 392-6.
- LANDI MT, BERGEN AW, BACCARELLI A, PATTERSON JR, GRASSMAN J, TERMINASSIAN M, MOCARELLI P, CAPORASO N, MASTEN SA, PESATORI AC, PITTAMN GS, BELL DA. (2005). CYP1A1 and CYP1B1 genotypes, haplotypes and TCDD-induced gene expression in subject from Seveso, Italy. *Toxicology*, **207(20)**: 191-202.
- LANG M, PELKONEN O. (1999). Metabolism of xenobiotics and chemical carcinogenesis. *IARC Sci Publ*, **148**: 13-22.
- LI G, LIU Z, STURGIS EM, CHAMBERLAIN RM, SPITZ MR, WEI Q. (2005). CYP2E1 G1532C, NQO1 Pro187Ser, and CYP1B1 Val432Leu polymorphisms are not associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,**14(4)**:1034-6.
- LIEHR JG, RICCI MJ. (1996). 4-Hydroxylation of estrogens as markes of human mammary tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **93(8)**: 3294-3296.
- LIEHR JG. (1990). Genotoxic effects of estrogens. Mutation Research/Reviews in Genetic tumors. *Toxicology*, **238(3)**: 269-276.
- LIU X, WANG F, WU J, ZHANG T, LIU F, MAO Y, HUA D. (2018). Expression of CYP1B1 and B7-H3 significantly correlates with poor prognosis in colorectal cancer patients. *Int J Clin Exp Pathol*, **11(5)**:2654-2664.
- MARTINEZ AG, LORIA BG, TEJERO ME, SIERRA-SANTOYO A, CEBRIAN ME, LOPEZ-CARRILLO L. (2017). *CYP1A1*, *CYP1B1*, *GSTM1* and *GSTT1* genetic variants and breast cancer risk in Mexican women. *Salud pública Mex*, **59**: 5.
- MARTINEZ-RAMINEZ OC, PEREZ-MORALES R, CASTRO C, FLORES-DIAZ A, SOTO-CRUZ K, ASTORGA-RAMOS A, GONSEBATT ME, CASAS L, VALDES-FLORES M, RUBIO J. (2012). Polymorphisms of catechol estrogen metabolism pathway genes and breast cancer risk in Mexian women. *The Breast*, **30**:1e9.
- MCLELLAN RA, OSCARSON M, HIDESTRAND M, LEIDVIK B, JONSSON E, OTTER C, INGELMAN- SUNDBERG M. (2000). Characterization and Functional Analysis of Two Common Human Cytochrome P450 1B1 Variants. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **378 (1)**: 175-181.
- MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res*, **16**: 1215.
- MIYOSHI Y, TAGUCHI T, KIM SJ, TAMAKI Y, NOGUCHI S. (2005). Prediction of

response to docetaxel by immunohistochemical analysis of CYP3A4 expression in human breast cancers. *Breast Cancer*, **12(1)**: 11-15.

MOGHADAM AR, MEHRAMIZ M, ENTERAZI M, ABOUTALEBI H, KOHANSAL F, DADJOO P, FIUJI H, NASIRI M, ALEDAVOOD SA, ANVARI K, SIMAB SA, KHORRAMI MS, MORADI A, HASSANIAN SM, FERNS GA, SALES SS, AVAN A. (2018). A genetic polymorphism in the CYP1B1 gene in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus: an Iranian Mashhad cohort study recruited over 10 years . *Pharmacogenomics*, **19(6)**:539-546.

MOIGIN C, CABANNE F, CANIVEC M, SEALLA R. (1990). *Plant Sci.*, **66**: 195.

MULDER G, DENCKER L. (2014). Farmasötik Toksikoloji. Nobel Tıp Kitapevi (2014), s:52.

MURRAY GI, MELVIN WT, GREENLEE WF, BURKE MD. (2001). Regulation, function and tissue-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Annual review of pharmacology and Toxicology*, **41(1)**: 297-316.

MURRAY GI, TAYLOR MC, MCFADYEN MC, MCKAY JA, GREENLEE WF, BURKE MD, MELVIN WT. (1997). Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer research*, **57(14)**: 3026-3031.

MUSELLIM B. (2007). Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi. *Akciğer Kanserine Güncel Yaklaşım Sempozyum Dizisi*, **58**: 113-8.

NELSON DR, KAMATAKI T, WAXMAN DJ, GUENGERICH FP, ESTABROOK RW, FEYEREISEN R, GONZALEZ FJ, COON MJ, GUNSALUS IC, GOTOH O, OKUDA K, NEBERT DW. (1993). *DNA Cell Biol.*, **12**:1-51.

OKOBI MN, BUNKER CH, GARTE SJ, ZMUDA JM, EZEOME ER, ANYANWU SN, UCHE EE, OSIME U, OJUKWU J, KULLER LH, FERRELL RE, TAIOLI E. (2009). Cytochrome P450 1B1 Val432Leu polymorphism and breast cancer risk Nigerian women: a case control study. *Infect Agent Cancer*, **4(1)**: 12.

OMURA T, SATO R. (1961). *J.Biol. Chem.*, **237**:1375-1376.

OMURA T, SATO R. (1964). The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J.Biol. Chem.*, **239(7)**: 2370-2378.

OU Z, LIU G, LIU W, DENG Y, ZHENG L, ZHANG S, FENG G. (2018). Bioinformatics analysis of CYP1B1 mutation hotspots in Chinese primary congenital glaucoma patients. *Biosci Rep*, **38(4)**:BSR20180056.

ÖZBAY L. (2012). Klinik biyoeşdeğerlilik çalışmalarının klinik ilaç metabolizması çalışmalarına katkısı. *Türkiye klinikleri j pharm sci 2012*; **1(1)**: 9-15.

ÖZBEK YK, ÖZTÜRK T, TÜZÜNER BM, CALAY Z, ILVAN S, SEYHAN FM, KISAKESEN HI, ÖZTÜRK O, İŞBİR T. (2010). Combined effect of CYP1B1 codon 432 polymorphism and N-acetyltransferase 2 slow acetylator phenotypes in relation to breast cancer in the Turkish population. *Anticancer research*, **30(7)**: 2885-2889.

ÖZEROL E. (1996). Sitokrom P450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri. *Journal of Turgut*

Özal Medical Center; **3(3)**, 257.

- PASSARGE M, PASSARGE E. (1995). Color Atlas of Genetics. TMP, New York.
- PATEL SAA, BHAMBRA U, CHARALAMBOUS MP, DAVID RM, LIGHTFOOD T, BOOBIS AR, GOODERHAM NJ. (2014). Interleukin-6 mediated upregulation of CYP1B1 and CYP2E1 in colorectal cancer involves DNA methylation, miR27b and STAT3. *Br J Cancer*, **9;111(12)**:2287-96.
- PEREZ- CADAHIA B, VALDIGLESIAS V, PASARO E, MENDEZ J, LAFFON B. (2007). Genetic polymorphism in cytochrome P450 1B1 in a Spanish population. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*, **101(1)**: 70-2.
- PESCH B, DUSING R, RABSTEIN S, HARTH V, GREENTRUP D, BRUNING T, LANDT O, VETTER H, KO YD. (2004). Polymorphic metabolic susceptibility genes and longevity: a study in octogenarians. *Toxicol Lett.* ,**151(1)**:283-90.
- PHARMA VARIATION CONSORTIUM (PharmVar). *CYP1B1* allele nomenclature. <https://www.pharmvar.org/gene/CYP1B1>. Erişim Tarihi: 01.10.2020
- PROKUDIN I, SIMONS C, GRIGG J, STOREN R, KUMAR V, PHUA Z, SMITH J, FLAHERTY M, DAVILA S, JAIMESON R. (2013). Exome sequencing in developmental eye disease leads to identification of causal variants in GJA8, CRYGC, PAX6 and CYP1B1. *Eur J Hum Genet*, **22(7)**:907-15.
- RODIN SN, RODIN AS. (2000). Human lung cancer and p53: the interplay between mutagenesis and selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97(22)**: 12244-12249.
- ROSE LR, HODGSON E. (2004). Metabolism of Toxicants, Chapter 7. *A Textbook of modern Toxicology, 3rd edition . Published by John Wiley and Sons, Inc., Hoboken ,New Jersey.*
- ROZMAN KK, KLAASEN CD. (2001). Absorption, distribution, and excretion of toxicants. In: Casarett and Doull's Toxicology: *The Basic Science of Poisons Klaasen CD (Ed), TheMcGraw-Hill Companies, New York.*
- RUDOLPH E, DYCKHOFF G, BECHER H, DIETZ A, RAMROTH H. (2011). Effects of tumour stage, comorbidity and therapy on survival of laryngeal cancer patients: a systematic review and a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, **268(2)**:165-79.
- RYLANDER-RUDQVIST T, WEDREN S, GRANATH F, HUMPHREYS K, AHLBERG S, WEIDERPASS E, OSCARSON M, INGELMAN-SUNDBERG M, PERSSON I. (2003). Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Carcinogenesis*, **24(9)**:1533-9.
- SASAKI M, TANAKA Y, KANEUCHI M, SAKURAGI N, DAHIYA R. (2003). CYP1B1 gene polymorphism have higher risk for endometrial cancer and positive correlations with estrogen receptor α and estrogen receptor β expressions. *Cancer research*, **63(14)**: 3913-3918.
- SASAKI M, TANAKA Y, KANEUCHI M, SAKURAGI N, DAHIYA R. (2003). Alleles of polymorphic sites that correspond to hyperactive variants of CYP1B1 protein are

- significantly less frequent in Japanese as compared to American and German populations. *Hum Mutat.*, **21(6)**: 652.
- SCHENKMAN JB. (1991). Induction of diabetes and evaluation of diabetic state on P450 expression. *Methods Enzymol* **206**:325–331.
- SELLERS TA, SCHILDKRAUT JM, PANKARTZ VS, VIERKANT RA, FREDERICKSEN ZS, OLSON JE, CUNNINGHAM J, TAYLOR W, LIEBOW M, MCPHERSON C, HARTMAN LC, PAL T, ADJEL AA. (2005). Estrogen bioactivation, genetic polymorphisms and ovarian cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, **14(11)**: 2536-2543.
- SHAH BR, XU W, MRAZ J. (2019). Cytochrome P450 1B1: role in health and disease and effect of nutrition on its expression. *RSC Advances*, **9**:21050-21062.
- SHAH PP, SINGH AP, SINGH M, MATHUR N, MISHRA BN, PANT MC, PARMAR D. (2008). Association of functionally important polymorphisms in cytochrome P4501B1 with lung cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **643(1)**:4-10.
- SHIMIZU Y, NAKATSURA Y, ICHINOSE M, TAKAHASHI Y, KUME H, MIMURA J, FUKII-KURIYAMA Y, ISHIKAWA T. (2000). Benzo[a] pyrene carcinogenicity is lost mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97(2)**: 779-782.
- SINGH AP, SHAH P, MATHUR N, BUTERS JTM, PANT M, PARMAR D. (2008). Genetic polymorphisms in cytochrome P4501B1 and susceptibility to head and neck cancer. *Mutat Res.*, 639(1-2):**11-9**.
- SISSUNG TM, PRICE DK, SPARREBOOM A, FIGG WD. (2006). Pharmacogenetics and regulation of human cytochrome P450 1B1: implication in hormone-mediated tumor metabolism and a novel target for therapeutic intervention. *Molecular cancer research*, **4(3)**: 135-150.
- SLIWINSKI T, SITAREK P, STETKIEWICZ T, SOBCZUK A, BLASIAK J. (2010). Polymorphism of the ERalpha and CYP1B1 genes in endometrial cancer in a Polish subpopulation . *J Obstet Gynaecol Res* , **36(2)**:311-7.
- SOMMA M, QUERCI M. (2006). The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms. *Joint Research Centre (JRC)*, **6**: 3-28.
- SOUCEK P, SUSOVA S, MOHELNIKOVA- DUCHONOVA B, GROMADZINSKA J, MORAVIEC-SZTANDERA A, VODICKA P, VODICKA L. (2010). Polymorphisms in metabolizing enzymes and the risk of head and neck squamous cell carcinoma in the Slavic population of the central Europe. *Neoplasma*, **57(5)**:415-21.

- STOILOV I, AKARSU AN, ALOZIE I, CHILD A, BARSOUM-HOMSY M, TURACLI ME, OR M, LEWIS RA, ÖZDEMİR N, BRICE G, AKTAN SG, CHEVRETTE L, COCA-PRADOS M, SARFAZİ M. (1998). Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *Am J Hum Genet*, **62(3)**: 573–584.
- SUTTER TR, TANG YM, HAYES CL, WO YY, JABS EW, LI X, HIN Y, CODY CW, GREENLEE WF. (1994). Complete cDNA sequence of a human dioxin-inducible mRNA identifies a new gene subfamily of cytochrome P450 that maps to chromosome 2. *Journal of Biological Chemistry*, **269(18)**: 13092-13099.
- TAI J, YANG M, NI X, YU D, FANG J, TAN W, HUANG Z, WU C, CHEN X, WANG G, ZHOU W, CHEN X, ZHANG W, MA L, LIN D, HAN D. (2010). Genetic polymorphisms in cytochrome P450 genes are associated with an increased risk of squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx in a Chinese population. *Cancer Genet Cytogenet*, **196(1)**:76-82.
- TANAKA Y, SASAKI M, KANEUCHI M, SHIINA H, IGAWA M, DAHIYA R. (2002). Polymorphisms of the CYP1B1 gene have higher risk for prostate cancer. *Biochemical and biophysical research communications*, **296(4)**: 820-826.
- TANG YM, GREEN BL, CHEN GF, THOMPSON PA, LANG NP, SHINDE A, LIN DX, TAN W, LYN-COOK BD, HAMMONS GJ, KADLUBAR FF. (2000). Human CYP1B1 Leu432Val gene polymorphism: ethnic distribution in African-American, Caucasians and Chinese; oestradiol hydroxylase activity; and distribution in prostate cancer cases and controls. *Pharmacogenetics and Genomics*, **10(9)**: 761-766.
- TANG YM, WO YYP, STEWART J, HAWKINS AL, GRIFFIN CA, SUTTER TR, GREENLEE WF. (1996). Isolation and characterization of the human cytochrome P450 CYP1B1 gene. *Journal of Biological Chemistry*, **271(45)**: 28324-28330.
- TENG Y, HE C, ZUO X, LI X. (2013). Catechol-O-methyltransferase and cytochrome P-450 1B1 polymorphism and endometrial cancer risk: a meta analysis. *International Journal of Gynecological Cancer*. **23(3)**: 422-430.
- TRUBICKA J, GRABOWSKA-KLUJSZO E, SUCHY J, MASOJE B, SERRANO-FERNANDEZ P, KURZAWSKI G, CYBULSKI C, GORSKI B, HUZARSKI T, BYRSKI T, GRONWALD J, ZLOWOCKA E, KLANDY J, BANASZKIEWICZ Z, WISNIOWSKI R, KOWALSKA E, LUBINSKI J, SCOTT RJ. Variant alleles of the CYP1B1 gene are associated with colorectal cancer susceptibility. *BMC Cancer*, **11**:10:420
- TSUCHIYA Y, NAKAJIMA M, KYO S, KANAYA T, INOUE M, YOKOI T. (2004). Human CYP1B1 is regulated by estradiol via estrogen receptor. *Cancer Research*, **64(9)**: 3119-3125.
- TSUCHIYA Y, NAKAJIMA M, YOKOI T. (2005). Cytochrome P450- mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. *Cancer letters*, **227(2)**: 115-124.
- VURAL NEVİN. (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık fakültesi yayınları no:73, s:43*

- WANG F, ZOU YF, SUN GP, SU H, HUANG F. (2011). Association of *CYP1B1* gene polymorphisms with susceptibility to endometrial cancer: a meta-analysis. *Asian Pasific Journal of Cancer Prevention*, **12**: 2343-2348.
- WO YYP, STEWART J, GREENLEE WF. (1997). Functional Analysis of the Promoter for the Human *CYP1B1* Gene. *The Journal of Biological Chemistry*, **272**: 26702-26707.
- ZHANG H, LI L, XU Y. (2013). *CYP1B1* polymorphisms and susceptibility to prostate cancer: a meta- analysis. *PLoS ONE*, **8**(7): e68634.



EKLER

EK 1: Anket Formu

1. Adı Soyadı :
2. Yaşı :
3. Cinsiyeti : E ☐ K ☐
4. Kilosu, Boyu :
5. Doğum Yeri :
6. Yaşadığınız Yerler (İLİ, İLÇESİ, KÖYÜ, SÜRESİ)
 - 1).....
 - 2).....
 - 3).....
 - 4).....
7. Meslek :
Meslekte Çalışma Süresi (Yıl Olarak) :
Bundan Önce Çalıştığınız İş ve İşyerleriniz ?
:.....
8. Sigara İçme Alışkanlığınız;
Hiç İçmedim ☐ Halen İçiyorum ☐ Eskiden İçiyordum ☐
Günde Paket /Yıl Bırakalı Yıl Oldu
9. Bulunduğunuz Ortamda (Ev / İş)
Sigara İçiliyor ☐ Sigara İçilmiyor ☐
10. Alkol Kullanıyor musunuz ?
Evet ☐ Hayır ☐
Hangi Sıklıkta :.....
11. Kahve İçme Alışkanlığınız Var mı ?

Var ☐

Yok ☐

Günde 1 Bardak ☐

Günde 2 Bardak ☐

3 ve Daha Fazla ☐

14. Başka Sağlık Sorunlarınız Var mı ?

Var ☐

Yok ☐

Neler ?.....

12. Aile Bireylerinizde ve Sizde Herhangi bir Genetik Hastalık Var mı ?(Şeker Hastalığı, Kanser gibi)

Nedir ?.....

13. Son Bir Yıldır Kullandığınız İlaçlar (Vitamin dahil) Nelerdir, Ne Kadar Süredir Alıyorsunuz ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....

14. Beslenme Alışkanlığınız? (En Fazla Tercih Edilene 1 PUAN olmak üzere, En

Aza Doğru 1'den 5'e kadar Numara Veriniz)

Et haşlama ☐

Izgara ☐

Kızartma ☐

Sebze ☐

Meyve ☐

TEŞEKKÜRLER

EK 2: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Çalışmanın adı:

Türk toplumunda bazı bireylerde CYP1B1 gen polimorfizminin incelenmesi

Çalışmanın anlaşılabilir dilde adı:

Toplumumuzda metabolik enzimlerin kişiler arasındaki genetik farklılıklarının incelenmesi.

Sayın gönüllü;

Çalışma nedeniyle hekim tarafından size herhangi bir müdahalede bulunmayacaktır. Rutin kan tahlilleriniz için alınacak olan kanda diğer tahlillerinize ilaveten çalışmada belirtilen tahliller yapılacaktır.

1. Çalışmanın amacı:

Bu çalışmanın amacı vücuda sigara dumanı veya kirli hava ile giren çeşitli yabancı kimyasal maddelerin vücutta uğradığı değişimlerde önemli görevi olan CYP1B1 enzimini kodlayan gende kişiler arasındaki değişikliklerin incelenerek bu genin toplumumuzdaki dağılımı konusunda ön veri elde edilmesidir.

2. Sizin için beklenen yarar:

Çalışma sonunda hangi CYP1B1 gen tipine sahip olduğunuz belirlenerek sonucun ne anlama geldiği hakkında bilgilendirileceksiniz.

3. İstemli Katılım:

Bu çalışma programına katılma kararınız tamamen kendi isteğinize bağlı olacaktır. Çalışmaya katılmamakta serbestsiniz. Eğer bu çalışmada yer almak istemiyorsanız bunu belirtmeniz yeterlidir.

4. Verilerin Gizliliği:

Araştırmaya katılmanız halinde araştırmadan elde edilen bilgi ve bulgular kimlik bilgileriniz tamamen gizli kalmak koşuluyla istendiğinde ilgili makamlara verilebilir ve tıp alanında yayınlanan yurt içi veya yurt dışı dergilerde yayınlanabilir.

5. Çalışmayı Bırakmak:

Eğer çalışmaya katılırsanız herhangi bir anda gerekçeli veya gerekçesiz olarak, kendi rızanızla, hiçbir kayba uğramaksızın bu kararı ilgiliye bildirmeniz suretiyle çalışma programından ayrılabilirsiniz.

6. İzlenecek Yöntemler:

Rutin kan tahlilleriniz için alınacak olan kanda rutin tahlillerinize ilaveten çalışmada belirtilen tahliller yapılacaktır. Kendiniz ile ilgili bilgileri içeren bir anket doldurulacaktır.

7. Çalışmada size doktor ya da bir başkası tarafından herhangi bir cerrahi, tıbbi veya genetik müdahale ya da ilaç veya kimyasal madde verilmesi kesinlikle söz konusu değildir. Dolayısıyla çalışma sırasında ve sonucunda sizde herhangi bir genetik değişim ya da zarar asla söz konusu olmayacaktır. Sizden alınan kan örneklerinin kullanılmadan kalan bölümü olursa başka amaçla kullanılmayacak, tıbbi atıkların imha yöntemlerine uygun bir şekilde yok edilecektir.

8. Çalışmada uygulanacak testlerle ilgili olarak siz ve sosyal güvencenizi sağlayan kurum hiçbir mali yük altına girmez.

EK 3: Gönüllü Olur (Rıza) Formu:

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni önceden okudum. Bunlar hakkında bana sözlü ve yazılı açıklamalar yapıldı. Çalışma ile ilgili tüm sorularıma tatmin edici cevaplar aldım. Bu söz konusu çalışmaya kendi rızamla, baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı, Soyadı:

Telefonu:

Tarih:

İmzası:

Doktor Adı, Soyadı:

Tarih:

İmzası:

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı: Fatma Özlem

Soyadı: KARGIN SOLMAZ

Doğum yeri ve tarihi: Uşak- 1983

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: ozlemhayati@hotmail.com

Cep telefonu: 05067516874

II. Eğitim Bilgileri

2011- İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Yüksek Lisans

2007- İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

2002- Malatya Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi

1998- Malatya Atatürk Ortaokulu

1995- Malatya Kemal Özalper ilkokulu

Yabancı dili: İngilizce (iyi)

III. Ünvanları

2007 – Eczacı

2011- Uzman Eczacı

IV. Mesleki Deneyim:

2007- 2008: Hedef Ecza Deposu Sivas Şubesi Mesul Müdür

2008-2013: Ağrı Devlet Hastanesi

2013- Halen çalışıyor : Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi

V. Bilimsel İlgi Alanları

Makale:

1. BATÇIOĞLU K, KARGIN FÖ, SATILMIŞ B, GÜL M, UYUMLU AB, BÜYÜKTUNCEL E. (2012). Comparison of in vivo chemoprotective and in vitro antimicrobial activity of different garlic (*Allium sativum*) preparations. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**,: 2885-2894.
2. KARGIN SOLMAZ FÖ, ADA AO. (2019). Cytochrome P450 1B1*2 Gene Polymorphism in a Turkish Population. *FABAD J. Pharm. Sci.*, **44(3)**: 215-218.

Poster: Investigation of CYP1B1 (*CYP1B1**2 m1 and m2) gene polymorphisms in a Turkish population. *ISOPS-12 Poster Programme June 26, 2018*.