

Farmakogenetik

PHARMACOGENETICS

Tayfun ÖZÇELİK

Bilkent Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

ÖZET

“İnsanlar arasında büyük farklılıklar olmasa tıp bir sanat yerine bir bilim olabilirdi”. Sir William Osler’in 1892 yılında söylediği bu sözler tıbbın son 100 yıl içinde gösterdiği gelişime rağmen geçerliliğini hala korumaktadır. Hekimlerin hastalarının tedavisinde kullanacakları ilaçları seçerken verdikleri kararlar çoğu zaman bir sanatın icrası olarak görülmekte ve bu durum her bir hasta için farklı tedavi seçeneklerinin oluşturulmasında kullanılacak objektif kriterlerin bulunmadığını vurgulamaktadır. Bugün, William Osler’den bir asır sonra yepyeni tıbbi gelişmelerin modern tedavinin temelini oluşturacağı bir dönemin eşiğinde bulunmaktayız. Örneğin bireyin tedavide kullanılan ilaçlara verdiği yanıtta çeşitli kalıtsal faktörlerin etkili olduğu anlaşılmıştır ve bu faktörlerin tanımlanmasını amaçlayan araştırmalar hızla ilerlemektedir. Bu araştırmaların sonuçları ilaçların keşfi ve geliştirilmesi, etki mekanizmalarının aydınlatılması ve nihayet bir bireye hangi dozda en etkili olacak şekilde verilebileceği gibi konularda önemli ilerlemeleri beraberinde getirmektedir.

Anahtar sözcükler: Farmakogenetik, SNP haritaları, kişiye özel tedavi

SUMMARY

“ If there were not any gross variations among humans, medicine could be science in place of art ”. Although medicine has gone through quite a way in the last 100 years these words spoken by Sir William Osler are still valid.

The manner the physicians decide on the proper pharmaceuticals for the treatment of patients is most of the time accepted as a performance of art. And this emphasizes that there cannot be any objective criterion in establishing different treatment modalities for each individual patient.

Today a century after Sir William Osler, we are at the bridge that newest medical progresses will form the basis of modern treatments. For example, it is well known that inherited factors of an individual are important in his responses to therapeutics used during treatment. In correlation with this, researches that target to identify these factors are in rapid progression. Data obtained from these investigations will bring along important improvements on topics like discovery and development of new drugs, enlightening the mechanism through which they effect and at the end deciding on the dosage that is the most effective for each patient.

Key words: Pharmacogenetics, SNP maps, personalized treatment

Tayfun ÖZÇELİK

Bilkent Üniversitesi

Moleküler Biyoloji ve
Genetik Bölümü

Bilkent – Ankara 06533

Tel: 0312-290-2139

Faks: 0312-266-5097

e-mail: tozcelik@fen.bilkent.edu.tr

Her birey, genleri ile çevresinin etkileşiminin bir ürünüdür. Farmakogenetik, hastaların ilaçlara verdiği cevapların oluşmasında temel bir rol oynayan genetik faktörleri inceleyen bilim dalıdır (1). Farmakogenetiğin kullanımı ile yakın bir gelecekte kişiler arasındaki DNA

farklılıklarının profillerini saptayarak ve buradan elde edilecek bilgileri kullanarak bireyin belli bir ilaca vereceği yanıtı önceden belirleyebileceğiz. Bu gelişmelerin tıbbın uygulamaları ve ekonomisi üzerinde derin etkilerinin olması kaçınılmazdır. Rekombinant DNA tek-

nolojisinin tıbbi olan etkileri son yirmi yıl içinde kalıtsal hastalıklara neden olan nükleotid değişimlerinin (mütasyonlar) tanımlanması üzerinde yoğunlaşmış ve büyük başarılar elde edilmiştir. Şimdi ise bilim bir adım daha ileri giderek kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, sporadik kanserler gibi sık rastlanan hastalıkların gelişiminde önemli bir yer tutan ve bireyler arasındaki metabolik farklılıklardan kaynaklanan nükleotid değişimlerini tanımlayabilecek teknolojik düzeye ulaşmıştır (2) (Tablo I). Burada bir örnek olarak Türk toplumunda mesane kanserine yatkınlık açısından bir risk faktörü oluşturması olası bazı gen polimorfizmleri üzerinde yapılan çalışmaları verebiliriz (3). Çalışma kapsamında incelenen gen polimorfizmleri glutatyon s-transferaz (GST) lokuslarını içermektedir. *GSTM1* (+/-) ve *GSTT1* (+/-) genotipleri ile, *GSTP1* 313 AG veya GG, polimorfizmlerinin mesane kanserine yatkınlıkla ilişkisi bir hasta-kontrol çalışması kapsamında incelenmiştir (Tablo II). Çalışma grupları 121 mesane

kanseri hastasından ve 121 yaş-cinsiyet açısından uyumlu kontrolden oluşturulmuştur. Yaş, cinsiyet ve sigara öyküsü göz önüne alınarak gerekli düzeltmeler yapıldıktan sonra, *GSTM1* (-) genotipinin 1.94 (95% CI 1.15- 3.26) ve *GSTP1* 313 AG veya GG genotiplerinin ise 1.75 (95% CI 1.03- 2.99) kat riske neden olduğu gözlenmiştir. Bu risk her iki lokus için, riskli genotipler kombine edildiğinde 3.91 (95% CI 1.88-8.13) kat artmış olarak saptanmıştır (Tablo III). *GSTT1* lokusu ile mesane kanseri arasında bir ilişki ise tesbit edilmemiştir. Sigara öyküsü ve riskli genotip bir arada bulunduğu risk *GSTM1* lokusu için 2.81 (95% CI 1.23-6.35), *GSTP1* lokusu içinse 2.38 (95% CI 1.12-4.95) olarak bulunmuştur. Bu bulgular *GSTM1* (-) ve *GSTP1* 313 AG veya GG genotiplerinin mesane kanseri için bir risk faktörü olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca gen-gen (*GSTM1*- *GSTP1*) ve gen-çevre (*GSTM1*-sigara öyküsü, *GSTP1*-sigara öyküsü) etkileşimleri gözlemlenen riski önemli ölçüde artırmaktadır.

Tablo I. Genler ve hastalıklar *

Tek gen mütasyonları ve nadir görülen hastalıklar kalıtımı)	Gen polimorfizmleri ve sık görülen yatkınlık (Mendel hastalıklarına (çok genli; kompleks kalıtım)
Yüksek penetranslı nadir görülen kalıtsal hastalıklar	Hastalığa yatkınlık lokusları
Kistik fibrosis (<i>CFTR</i> geni)	Geç yaşta ortaya çıkan Alzheimer hastalığı
Kalıtım: otozomal resesif	Yatkınlık geni <i>ApoE</i> (19q13)
Lokus: 7q31	Yatkınlık geni (12)
Mütasyon: Hastaların ~ %70'inde 508. kodonda 3 bç delesyonu	Migren
Huntington hastalığı	Yatkınlık genleri (19p13 ve Xq24)
Kalıtım: otozomal dominant	İnsulin'e bağımlı olmayan diyabetes mellitus
Lokus: 4p16.3	Yatkınlık geni (12q ve 2q)
Mütasyon: sitozin/adenin/guanin tekrarının >35 olması	Psoriasis
	Yatkınlık geni (3q21)

*Rotes AD. *Pharmacogenetics and the practice of medicine. Nature 2000; 405: 857-865'den uyarlanmıştır.*

Tablo II. *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* genotiplerinin mesane kanseri hastalarında ve yaş-cinsiyet uyumlu bireylerde dağılımı

Lokus	Genotip	Hasta n=121 (%)	Kontrol n=121 (%)	Kaba OR (95% CI)	Uyarlanmış OR* (95%CI)	p
<i>GSTM1</i>	(+)	46 (38.02)	66 (54.55)	1.96 (1.18-3.22)	1.94 (1.15-3.26)	0.010
	(-)	75 (61.98)	55 (45.45)			
<i>GSTP1</i>	A/A	67 (55.37)	83 (68.60)	1.76 (1.04-2.94)	1.75 (1.03-2.99)	0.034
	A/G	42 (34.71)	33 (27.27)			
	G/G	12 (9.92)	5 (4.13)			
	A/G or G/G	54 (44.63)	38 (31.40)			
<i>GSTT1</i>	(+)	97 (80.17)	100 (82.64)	1.17 (0.61-2.22)	1.27 (0.66-2.47)	0.620
	(-)	24 (19.83)	21 (17.36)			

*Yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre uyarlanmıştır.

Tablo III. *GSTM1* (-) ile *GSTP1* 313 AG veya GG genotiplerini beraber taşıyan kişilerde mesane kanseri riski

Riskli genotip	<i>GSTM1</i>	<i>GSTP1</i>	Hasta (n=121)	Kontrol (n=121)	Kaba OR (95%CI)	Uyarlanmış OR** (95%CI)
Hiç yok*	(+)	A/A	24	41	1.00 (referral)	1.00 (referral)
Bir	(-)	A/A	43	42	1.75 (0.94-3.25)	2.07 (1.00-4.30)
	(+)	A/G, G/G	22	25	1.50 (0.69-3.74)	1.89 (0.91-3.93)
İki	(-)	A/G, G/G	32	13	4.20 (1.85-9.58)	3.91 (1.88-8.13)

*Bu grupta risk taşımayan genotiplerin beraber yer aldığı bireyler bulunmaktadır. "Hiç yok" OR analizleri için referans grup olarak kullanılmıştır.

**Yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre uyarlanmıştır.

Farmakogenetiğin güçlü araştırma araçları sayesinde hastalıkların heterojenitesi ve bireylerin ilaçlara verdikleri yanıtlar moleküler düzeyde sınıflandırılabilir. Bireylerin ilaçlara verdikleri yanıtların farklılığı klinikte önemli bir problemdir. Bu farklılıklar bir ilaca yanıt alınmamasından bünyenin ilaca ters tepki vermesine kadar uzanan geniş bir spektrumu kapsamakta, bunun yanında ilaçlar arası ters etkileşim gibi başka problemleri de içermektedir. Klinik açıdan hasta hafif bir rahatsızlıktan ciddi şikayetlere ve nadiren ölüme kadar gidebilen tepkiler verebilmektedir. İngiltere'de yapılan bir araştırmaya göre hastaneye yatan her 15 hastadan birinin yatış sebebi ters ilaç etkileşimine bağlıdır (4). Yine ABD'de yapılan bir araştırmanın sonuçlarına göre her yıl reçeteli ilaçların ters etkilerine bağlı olarak 106,000 kişi ölmekte, 2.2 milyon kişi ise çeşitli zararlar görmektedir (5).

İnsan Genomu ve Polimorfizmler

İnsan genomu projesinde elde edilen başarılar ve gelişen moleküler genetik, DNA dizi analizi teknikleri farmakogenetik alanında yürütülen araştırmalara büyük bir ivme kazandırmıştır. Burada üzerinde dikkatle durulması gereken husus, çeşitli enzimleri, iyon kanallarını ve pek çok farklı reseptörü içeren hedef genlerdeki dizi farklılıklarının (polimorfizm) ilaçlara verilen yanıtta etkili olduğunun anlaşılması ve aynı zamanda bu polimorfizmlerin hızlı tarama metodları ile saptanmasını mümkün kılan teknolojilerin gelişmiş olmasıdır (6).

Farmakogenetik araştırmaları günümüzde iki ana

alan üzerinde yoğunlaşmıştır. Birinci alanda yapılan çalışmalar, çeşitli hastalıklarla ilişkili olan genlerin ve gen ürünlerinin aydınlatılmasını ve böylece yeni ilaçlar için hedef olacak moleküllerin tanımlanmasını amaçlamaktadır. İkinci alanda ise bireyin çeşitli ilaçlara verdiği yanıtın belirlenmesinde etkili olan genlerin allelik farklılıklarını tanımlamayı amaçlayan çalışmalar yapılmaktadır.

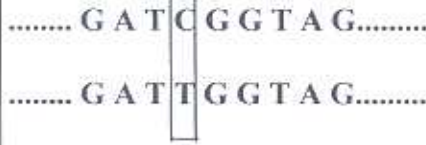
Yeni İlaçlar İçin Hedef Moleküllerin Tanımlanması

Bu alanda yapılan çalışmalar, özellikle tek nükleotid polimorfizmlerinin (*single nucleotide polymorphisms* - SNP) tanımlanması üzerinde odaklanmıştır. Genom projesi ile ilgili olarak başlatılan araştırma programları arasında SNP projesi önemli bir yer tutmaktadır. SNP projesi kapsamında DNA molekülünde bulunan ve bireyler arasında tek bir nükleotid farklılığı gösteren değişimlerin saptanması amaçlanmaktadır. Bu farklılıklar daha sonra diyabet, kanser ve artrid gibi hastalıklarla ilişkisi olan genlerin haritalanmasında ve tanımlanmasında kullanılacaktır. Bu genlerin kodladıkları proteinlerin yeni geliştirilecek ilaçlar için hedef olması beklenmektedir. Bu ilaçların polimorfizm temeline dayanan çalışmalarla geliştirilecek olması bireylerin ilaçlara verdikleri farklı yanıtların da moleküler temellerinin aydınlatılması ve ilaç seçiminde dikkate alınacak faktörlerin belirlenmesi yönünden önemli sonuçları olacaktır. Böylece bireylerin genetik yapısına uygun ilaçların seçimi ve kullanımı gündeme gelecektir (Şekil 1).

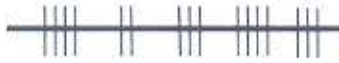
SNP nedir?



Bir kromozom üzerinde bulunan belli bir lokusta insanlar arasında nükleotid farklılıkları bulunabilir.



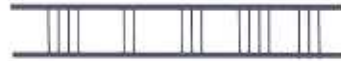
SNP haritası nedir?



DNA üzerindeki SNP'lerin konumu.

SNP haritası bir ilaca verilecek cevabı önceden saptamada nasıl yardımcı olur?

Klinik çalışmalar sonucu ilaca iyi cevap veren hastaların SNP profili.



Klinik çalışmalar sonucu ilaca iyi cevap vermeyen hastaların SNP profili.



İlaca iyi cevabı önceden saptamamızı sağlayan SNP profili.



İlaca iyi olmayan cevabı önceden saptamamızı sağlayan SNP profili.



Şekil 1. SNP'ler ve farmakogenetik*

*Roses AD. *Pharmacogenetics and the practice of medicine. Nature 2000; 405: 857-865'den uyarlanmıştır.*

Yukarıda değinilen araştırmaların önümüzdeki yıllarda büyük bir bilgi birikimine neden olması ve yüzbinlerce yeni tek nükleotid polimorfizminin tanımlanması şaşırtıcı olmayacaktır. Bu araştırmaların asıl önemli sonuçları, yapılması uzun yıllar sürecek olan genotip - fenotip ilişkisi çalışmaları ilerlediğinde alınacaktır. Özellikle herhangi bir polimorfizmin allelik farklılıklarının farmakolojik veya toksikolojik açılardan ne anlam ifade ettiğinin anlaşılması ilgili polimorfizmin farmakogenetik öneminin belirlenmesinde merkezi bir yere sahip olacaktır.

Ters İlaç Etkileşimleri ile İlişkili Genetik Farklılıkların Tanımlanması

Halen kullanımında olan ilaçlara bireylerin verdiği cevap ile genetik polimorfizmlerin ilişkisini inceleyen araştırmalar klinik açıdan kısa dönemde uygulamaya konulabilecek çalışmalardır. İlaçlar için reseptör olan, ilaç taşınmasında görev alan ve sinyal ileti yollarında bulunan moleküllerin polimorfizmleri klinikte ilaca verilen cevabın belirlenmesinde büyük önem taşıyabilirler. Bunun yanında ilaçların vücuttan uzaklaştırılmasını da içeren çeşitli ilaç metabolizması reaksiyonlarında görev alan proteinleri kodlayan genlerin fonksiyonlarını etkileyen polimorfizmler üzerinde ilk etapta çalışılan gruba oluşturmaktadır. Bu genlerde bulunan polimorfizmler ilaca hiç cevap alınamamasından abartılmış bir cevaba kadar uzanan bir spektrumu kapsayabilir (Tablo IV).

Halen yaklaşık 20 farklı ilaç metabolize edici enzimde polimorfizmler tanımlanmış olup bu polimorfizmlerin çeşitli etnik gruplarda farklı allel ve genotip frekansları ile temsil edildikleri ve tedavi amaçlı ilaç kullanımında farklı cevapların alınmasından sorumlu olabilecekleri gösterilmiştir. Bunların arasında sitokrom

P450 enzimlerinin ve tiyopürin metiltransferaz'ın polimorfizmlerini sayabiliriz. Örneğin sitokrom P450'ler özellikle karaciğerde görev yapan bir çoklu gen ailesini oluşturmaktadır ve günümüzde kullanılan ilaçların (Tablo V) pek çoğunun metabolik eliminasyonundan sorumludur (7). Bu genlerin ifade (ekspresyon) veya fonksiyon düzeylerinin belirlenmesinde etkili olan genetik polimorfizmler bilinmektedir. Az metabolize edici genotip taşıyan bireylerde sitokrom P450 genlerinde aktiviteyi önleyici mutasyonların bulunduğu gösterilmiştir ve bu kişiler çeşitli ilaçların vücutlarında metabolize edilmesinde ciddi sorunlar yaşamaktadırlar. Bunun yanında bir ilacın vücutta aktif hale gelmesini sağlayacak metabolizma reaksiyonlarını yürüten genlerde de mutasyonlar sonucu fonksiyon kaybı bulunabilir.

Farmakogenetik testler tüm dünyada kısıtlı sayıda eğitim hastanesinde ve özelleşmiş akademik merkezde yapılmaktadır. Halen İskandinav ülkeleri bu konuda en gelişmiş durumdadırlar. En sık yapılan test ise psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların seçimi ile yakın ilgisi olan CYP2D6 genotiplemesidir. Farmakogenetik kullanımı olan genotip tayini testleri aynı zamanda yüksek miktarda test materyalini işleme alabilecek özel laboratuvarlar tarafından da yapılmaktadır. Ama bu testlerin özellikle polimorfik gen metabolizması ile yakın ilgisi olan ilaçlar açısından yaygın kullanıma girip girmeyeceği henüz belirsiz bir konudur. Burada bir ilacın hangi dozda kullanılacağı belirlenirken çalışmaları yürüten ilaç endüstrisinin tutumu önemli bir rol oynayacaktır. İlaç endüstrisinin genotip tayini yapılması yönünde adım atmasında ilaçların kullanımına izin veren otoritelerin alacakları kararlar belirleyici nitelik taşıyacaktır.

Tablo IV. İlaç metabolizmasında yer alan genlerin polimorfizmlerinin potansiyel etkileri

- Uzamış farmakolojik etki
- Ters ilaç etkileşimleri
- İlaç ön maddesinin aktivasyonunun olmaması
- İlaç toksisitesi
- Artmış etki dozu
- Zararlı olabilecek alternatif yollardan metabolize edilmesi
- Artmış ilaç-ilaç etkileşimi

Tablo V. Sitokrom P450 CYP2D6'in substratı olan ilaçlar

Nörolojik veya psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar

Amitriptilin, clomipromine, clozapine, desipramine, desmethylcitalopram, luvoxamine, fluoxetine, haloperidol, imipramine, levomepromazine, maprotiline, mianserin, nortriptaline, olanzapine, paroxetine, perphenazine, risperidone, thioridazine, tranlycypromine, venlafaxine, zuclopenthixol

Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar

Alprenolol, amiodarone, indoramin, mexiletine, nimodipine, oxprenolol, propranolol, timolol

Farmakogenetik testlerin yaygınlaşması için göz önünde bulundurulması gereken önemli bir husus kullanılan terminolojinin dikkatle seçilmesidir. Böylece genetik sözcüğünün yanlış değerlendirilmelere neden olması önlenbilir. Kalıtsal hastalıklar açısından genetik testlere baktığımızda DNA analizi bir hastalığın tanısında, taşıyıcıların tespitinde veya hastalığın presemptomatik teşhisinde kullanılmaktadır. Bu testler bir ilacın vücutta nasıl metabolize edileceği konusunda bilgi veren genetik testlerden farklıdır. Yakın bir gelecekte bireyin bir ilaca vereceği cevabı önceden belirleyen belli bir hastalıkla veya tek bir lokusla sınırlı olmayan genetik profil belirleme testleri yaygın olarak kullanılabilir. Bu nedenle terminolojinin açık ve net olması gerekmektedir. Özellikle tek gen hastalıkları ile ilgili testler göz önüne alındığında "genetik test" deyiminin otomatik olarak bir hastalıkla ilişkilendirilmesi olasılığına karşı önlem alınmalıdır.

Yakın bir geçmişe dek bireyin herhangi bir ilaca karşı vereceği cevabın belirlenmesinde yalnız "fenotipleme testleri" kullanılıyordu. Bunun için ise test edilen ilacın/maddenin belli dozlarda direkt olarak ilgili kişiye verilmesi gerekiyordu. Hem ekonomik olmaması hem de çok zaman alması açısından bu testlerin uygulanması zordu. Halbuki DNA analizi metodlarının gelişmesi ile test edilen kişiye ilgili madde veya ilacı vermeden ve az miktarda kan, ağız epitel hücreleri veya köklü saç gibi örnekleme metodları ile genotip tayinleri artık kolayca yapılmaktadır. Yine üzerinde önemle durulması gereken bir başka nokta ise farmakogenetik testler konusunda doktorların bilgilendirilmesi ve bu testlerin sonuçlarını nasıl kullanacakları hakkında eğitilmeleridir. Bugün için henüz üretilmemiş olsalar da yakın bir gelecekte farmakogenetik açıdan önemli olan polimorfizmleri topluca içeren mikroçiplerin kullanıma sunulması kuvvetle olası görülmektedir. Yakın bir

gelecekte bir hastaya uygulanacak tedaviye karar verirken farmakolojik önemi olan gen lokuslarının polimorfizmlerinin dikkate alınmaması etik açıdan kabul görmeyebilir. Ekonomik açıdan da bireyin tedavi protokolü düzenlenirken deneme yanılma metodu ile doz belirlemesi uygun olmayacaktır. Sırf kullanılacak ilacın miktarı değil, bundan daha da önemli olarak komplikasyonlar sonucu kişilerin hastaneye yatması bu şekilde önlenbilir.

Farmakogenetik alanında meydana gelen gelişmeler bize ilaçla tedaviye hakim olan empirik yaklaşımlarını yerini yavaşça olsa bireye özgü tedavi yaklaşımlarına doğru yönlendirmektedir. Bu önemli gelişmelerin tüm boyutları ile irdelenebilmesi için tıp eğitimi programlarına farmakogenetik başlığının da eklenmesi çok yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Vogel F. Moderne probleme der human genetik. *Ergb Inn Med Kinderheild* 1959;12:52-125.
2. Roses AD. Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature* 2000;405:857-865.
3. Törüner GA, Akyerli C, Uçar A, et al. "Polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and bladder cancer susceptibility" *Arch Toxicol* (in press)
4. The cost of adverse drug reactions [editorial]. *Adverse Drug React Toxicol Rev* 1997;16:75-78.
5. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1200-1205.
6. Weber WW. *Pharmacogenetics*. Oxford: Oxford University Press, 1997.
7. Wolf CR, Smith G. *Pharmacogenetics*. *Br Med Bull* 1999;55:366-386.