

***CYP2C9 VE VKORC1 GENLERİNİN PROSTAT KANSERİ ETİYOLOJİSİNDEKİ ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI
THE ROLE OF CYP2C9 AND VKORC1 GENES IN THE ETHIOLOGY OF PROSTATE CANCER**

Ali Osman ARSLAN¹, Selma DÜZENLİ¹

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Bolu

ÖZ

Amaç: Çalışmamızda, Sitokrom p450 enzimlerini kodlayan *CYP* ve vitamin K epoksid redüktaz kompleks subunit 1 enzimini kodlayan *VKORC7* genlerinin alt gruplarındaki tek nükleotid polimorfizmlerinin bireysel ve ortak etkilerinin prostat kanseri hastalarında araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 48 prostat kanseri tanımlı erkek hasta ve 48 sağlıklı erkek birey dâhil edildi. Hasta grubu prostat tanısı almış yaş aralığı 49-86 olan gönüllü bireylerden, kontrol grubu ise prostat kanseri olmadığı belirlenmiş, 51-86 yaş grubundaki gönüllü bireylerden seçilmiştir. Katılımcıların genomik DNA'larının PCR ürünleri mikroarray yöntemi ile ayrıntılı olarak genotiplenmiştir.

Bulgular: *CYP8C5* ve *VKORC7* enzimlerini kodlayan genlerin alt gruplarının polimorfizm karşılaştırmaları hasta ve kontrol grubu arasında yüzde olarak önemli farklar göstermiştir. Örneğin *VKORC7* 2419 G>C polimorfizmi için kontrol grubunda CC alleli %25 iken hasta grubunda %34,5 olarak tespit edildi. Ayrıca *CYP8C5* *3 A>C değişimi için kontrol grubunda CC alleli %79,16 iken hasta grubunda %87,5 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda yüzde olarak hasta ve kontrol grubunda önemli farklar görülmüştür. *CYP8C5* ve *VKORC1* geninin alt gruplarının analizleri sonucunda istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir. Bunun sebebinin örnek sayısı azlığı ile alakalı olduğu ve ileri çalışmaların konuyu aydınlayacağı düşünülmüştür.

ABSTRACT

Objective: Our aim was to investigate possible effects of the genes encoding cytochrome p450 (*CYP*) and vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC7*) in prostate cancer patients.

Methods: Forty-eight cases of prostate cancer diagnosed and 48 healthy males were included in our study. The age range of the volunteers with prostate cancer was 49-86, while the control group's was 51-86 years. Genomic DNA was amplified with PCR, targeted regions were genotyped using microarray.

Result: The percentages between patient and control groups showed significant differences when the genes encoding *CYP8C5* and *VKORC7* enzymes were compared. For example, the CC allele of *VKORC7* 6853 G> C polymorphism were found to be %25 in the control and %34.5 in the patient group. In addition CC allele of *CYP8C5** 9 A> C change were found %79.16 in the control and %87.5 in the patient group.

Conclusion: Significant differences were detected in the number and percentage of patients and control groups in our study. As a result of analysis of the subgroups of *CYP8C5* gene and of the *VKORC7* gene, statistical significance were not observed, contrary to our expectations when the number of individuals is increased.

Anahtar kelimeler: *VKORC1*, *CYP2C9*, Sitokrom p894, Prostat, Kanser

Keywords: *VKORC1*, *CYP2C9*, Cytochrome p450, Prostate, Cancer

*Bu çalışma "10. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresinde" Poster sunumu olarak sunulmuştur. Uludağ Üniversitesi - Bursa 2012.

**Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Makale Geliş Tarihi : 30.07.2018

Makale Kabul Tarihi: 28.03.2019

Corresponding Author: Öğr. Gör. Dr. Ali Osman Arslan ,
Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Bolu
aliosmanarslanist@hotmail.com

GİRİŞ

Prostat kanseri tüm dünya ülkelerinde yaşayan erkeklerde en sık görülen kanser türü olup, kanserin yol açtığı ölüm nedenleri arasında akciğer ve kolon kanserlerinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Prostat kanseri yaşla birlikte artış gösterdiğinden gelişmiş olan ülkelerde önemli bir sağlık problemi oluşturmaktadır (1). Prostat kanseri ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Bunun nedeninin genetik, çevresel faktörler ve etnik yapı çeşitliliğinden kaynaklandığı bilinmektedir (2). Prostat kanserinde genetik etkinin %5-10 oranında olduğu iddia edilmektedir (3) Sitokrom p450 (*CYP016*) monooksijenaz enzimleri olgun eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında, tüm memeli hücre tiplerinde bulunan bir hem-protein ailesini teşkil ederler. *CYP* ailesi geniş alt gruplara, alt gruplar da çeşitli polimorfizmlere sahiptir (4). *CYP* enzimlerini kodlayan genlerde oluşan polimorfizmler protein ekspresyonunda azalma ya da artmaya sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da birçok endojen maddenin metabolizmasında bozulmalar meydana gelmekte ve sonuç olarak başta kanser olmak üzere birçok hastalık meydana gelmektedir. Örneğin testosteron metabolizmasında yer alan *CYP9A0*'de oluşan polimorfizmin başta prostat kanseri olmak üzere birçok kanser türüne yakınlık oluşturduğu bildirilmiştir (5). Ayrıca sitokrom p450 enzim defektlerinin karaciğer ve prostatda testosteronu inaktive ettiği bildirilmiştir (6). Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda *CYP8C5* alt grubunun polimorfizmlerini analiz ettik. Seçtiğimiz polimorfizmlerin kanser oluşum mekanizmasına etkilerini araştırdık. Seçtiğimiz polimorfizmler kanser mekanizmasında en çok çalışılan ve fenotipe etki eden *2, *3, *4, *5, *6,*11'dir (7).

Prostat kanserinde ilişkili olduğunu düşündüğümüz bir diğer parametre olan vitamin K, birçok biyokimyasal yolda kofaktör olarak görev alır. Bunların en önemlisi vitamin K bağımlı karboksilasyon reaksiyonlarıdır (8). Vitamin K'nın kofaktör görevini sürdürebilmesi için kinon formunun kinol şekline indirgenmesi gerekmektedir. Bu dönüşüm vitamin K epoksit redüktaz kompleksi subünit 1 enzimi (*VKORC7*) ile olmaktadır (9). Netice olarak *VKORC7* geni vitamin K'nın kofaktör görevini sürdürmede kilit rol oynamaktadır. Bu durumda *VKORC1* geninin vitamin K metabolizması üzerinden kanser mekanizmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (10). K vitamininin kanser hücrelerinin büyümesini in vivo ve in vitro olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir (11,12). K vitamini aktivitesinin anjiogenezin inhibe ettiği de bulunmuştur (10). Şimdiye dek *VKORC7* geninin alt gruplarında 28 polimorfizm tespit edilmiştir (13). Biz çalışmamızda bu 28 polimorfizmden en yaygın olan ve fenotipe yansıyan etkisi daha belirgin olan 8 tanesini (3673G>A, 6009C>T, 6484C>T, 6853G>C, 7566C>T, 8773C>T, 9041 G>A,5808 T>G) çalıştık. Çalışmamız ile ilk defa prostat kanseri hastalarında, sitokrom p450 2C9 (*CYP8C5*) ve *VKORC7* gen polimorfizmlerinin muhtemel ortak etkilerinin araştırılması ve prostat kanserinde *CYP8C5* ve *VKORC7* alt gruplarına ilişkin gen bölgelerindeki tek nükleotid polimorfizmlerin (SNP) populasyonumuza özgü genotip dağılımını belirlemeye çalıştık. Bu iki gen ve bunların alt gruplarındaki polimorfizmlerin birlikteliğinin prostat kanserine muhtemel etkisinin daha önemli olduğu literatür taramalarında görülmüştür. Buna dayanarak bizde çalışmamızda

CYP2C9 ve *VKORC1* genlerinin alt gruplarındaki polimorfizmleri beraber araştırmayı öngördük.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya katılan bireyler, Abant İzzet Baysal Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı tarafından takip edilen ve prostat kanseri tanısı almış ve tedavileri bu yönde olan hastalar arasından seçildi. Çalışmamız için gerekli etik kurul onayı ve bilgilendirilmiş hasta olur formları önceden alındı. (22/02/2011 tarihli ve B:30.2.AİBÜ.0.20.05.04.-050.01.04-40 sayılı etik kurul) Hastalar prostat kanseri teşhisi konmuş 49-86 yaş arası bireylerden seçildi. Kontrol grubu ise prostat kanseri olmadığı biyokimyasal ve muayene yöntemleriyle belirlenmiş, yaşları 51-86 arasında olan gönüllü kişiler arasından seçildi. Çalışmamıza imkânlar ölçüsünde 48 prostat kanseri tanılı hasta ve 48 sağlıklı birey dâhil edildi. Hastaların dâhil edilme kriterleri; kesin prostat kanseri tanısı almamış hastalar, hastanın başka sistemik hastalığının olması, daha önce prostat dışında kanser tanısı almış olan hastalar. Çalışmaya dâhil edilme kriterleri ise; hastanın patolojik olarak kesin prostat tanısı almış olması, hastanın başka sistemik hastalığının olmaması, eşlik eden başka bir kanserinin olmaması.

Araştırmaya dahil edilen kişilerin periferik venöz kanları EDTA'lı (etilendiamintetraasetik asit) tüpler içine alınarak +4 derecede muhafaza edildi. Sonrasında tüplere alınan 10 ml kandan ayrıştırılan lökositlerden uygun izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit (50) kullanılarak genomik DNA'ları Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik laboratuvarında izole edildi.

İzole edilen genomik DNA'lar uygun şartlarda hazırlanan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) karışımı içine eklenerek, uygun PCR şartlarına göre ilgili gen bölgelerinin amplifikasyonu yapıldı (Tablo 1 ve 2). Amplifikasyon işleminden elde edilen PCR ürünleri ilgili DNA bölgelerine özel probalar yardımıyla INFINITI™ AutoGenomics mikroarray cihazında çalışılarak *CYP8C5* ve *VKORC1* gen bölgelerine ait alt grupların polimorfizmleri tespit edildi. Mikroarray cihazı ile çalışma ilgili firmadan hizmet alımı şeklinde sağlanmıştır. Mikroarray analizinin sonucunda elde edilen hasta ve kontrol grubu sonuçları için her bireyin tek tek homozigot, heterozigot ve wild type (yabani tip) olarak sayıları ve toplam wild-heterozigot-homozigot sayıları EpiInfo 3.5.1 istatistik programı ile hesaplandı. Ki-Kare testi sonuçlarına göre, p< 0,05 olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi. Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir [Proje numarası: 2011.08.03.432].

Tablo 1: PCR master miks'in hazırlanışı (1 örnek için)

Amplifikasyon miksi	17.5 µl (PCR için gerekli bileşenler*)
Titanium Taq polimeraz	0.5 µl

Total Hacim 18µl

(*: dNTP, Mg, H₂Odd, primerler)

BULGULAR

Çalışmamızdaki hasta grubunun yaş ortalaması 71 olup prostat spesifik antijen (PSA) ortalaması ise 37,63 ng/mg'dir. Kontrol grubunun yaş ortalaması 68 olup PSA

Tablo 2: Çalışmamızın PCR şartları

Step Sayısı	Sıcaklık (C)	Zaman	Siklus Sayısı
1	94	2 dakika	1
2a	94	20 saniye	
2b	60-54(0.5/siklus)	30 saniye	12 x
2c	72	30 saniye	
	94	20	
3	54	30	30x
	72	30	
4	72	2 dakika	1

Tablo 3: CYP2C9 alt gruplarının hasta ve kontrol gruplarındaki genotip ve allellerinin sayısal olarak yorumlanması

Polimorfizmler		Hasta (n:48)	%	Kontrol (n:48)	%	p
CYP2C9*2 C >T	CC	39	% 81.25	45	%93.75	p >0.05
	TT	0	%0	3	% 6.25	
	CT	9	%18.75	0	% 0	
	C	87	% 90.62	90	% 93.75	
	T	9	%9.37	3	% 3.12	
CYP2C9*3 A>C	AA	42	% 87.5	38	% 79.16	p >0.05
	CC	0		2	% 4.16	
	AC	6	% 12.5	8	% 16.66	
	A	90	% 93.75	84	% 87.5	
	C	6	% 6.25	12	% 12.5	
CYP2C9*4 T>C	TT	48	100%	48	100%	p >0.05
	CC	0		0	% 0	
	TC	0		0	% 0	
	T	96	100%	96	100%	
	C	0		0		
CYP2C9*5 C>G	CC	47	% 97.91	48	100%	p >0.05
	GG	0	% 0	0	% 0	
	CG	1	% 2.08	0	% 0	
	C	95	% 98.96	96	100%	
	G	1	% 1.04	0		
CYP2C9*6 del A	AA	48	100%	48	100%	p >0.05
	...	0	% 0	0	% 0	
	A	96	100%	96	100%	
	...	0	%0	0	% 0	
CYP2C9*11 C>T	CC	48	100%	47	% 97.91	p >0.05
	TT	0	% 0	0	% 0	
	CT	0	% 0	1	% 2.08	
	C	96	100%	95	%98.95	
	T	0	%0	1	% 1.04	

ortalaması ise 2,04 ng/mg'dir.

Çalışmamızda *CYP8C5* ve *VKORC7* enzimlerini kodlayan genlerin alt gruplarının polimorfizm karşılaştırmaları hasta ve kontrol grubu arasında yüzde olarak önemli farklar göstermiştir. Çalışmamızda *CYP8C5* ve *VKORC7* genlerinin alt gruplarındaki polimorfizmlerin hasta ve kontrol grubu açısından istatistiksel değerlendirilmesi ve sayısal olarak yorumlanması tablo 3 ve tablo 4'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Dünyada prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanserler arasında dördüncü sıradadır (14). Prostat kanseri

ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Bunun nedeninin genetik, çevresel faktörler ve etnik yapı çeşitliliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (2).

Kanserin multifaktöriyel bir hastalık olduğu bilinmekle birlikte, bu faktörler ile ilişkisinin aydınlatılabilmesi için, moleküler çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda akciğer kanseri, meme kanseri, kolorektal kanseri, ağız kanseri gibi kanser vakalarında, *CYP016* enzim ailesi ve alt gruplarında meydana gelen polimorfizmlerin önemli derecede ilişkili olduğu tespit edilmiştir (15-20). Örneğin, akciğer kanseri ile ilgili yapılan bir çalışmada, sigara içenlerde akci-

Tablo 4: VKORC7 alt gruplarının hasta ve kontrol gruplarındaki genotip ve allellerinin yorumlanması

Polimorfizmler		Hasta (n:48)	%	Kontrol (n:48)	%	p
3673G>A	GG	28	%58.33	26	%54.16	p >0.05
	AA	7	%14.59	13	%27.08	
	GA	13	%27.08	9	%18.75	
	G	69	%71.87	61	%63.54	
	A	27	%28.12	35	%36.45	
5808 T>G	TT	21	%43.75	16	%33.33	p >0.05
	GG	16	%33.33	18	%37.5	
	TG	11	%22.91	14	%29.16	
	T	53	%55.20	46	%47.91	
	G	43	%44.79	50	%52.08	
6853 G>C	GG	15	%31.25	11	%22.91	p >0.05
	CC	17	%34.41	12	%25.0	
	GC	16	%33.33	24	%50.0	
	G	46	%47.91	46	%47.91	
	C	50	%52.08	48	%50	
6009 C>T	CC	32	%66.66	35	%72.91	p >0.05
	TT	5	%10.41	0	%0	
	CT	11	%22.91	13	%27.08	
	C	75	%78.12	83	%86.45	
	T	21	%21.87	13	%13.54	
6484 C>T	CC	11	%22.91	11	%22.91	p >0.05
	TT	23	%47.91	23	%47.91	
	CT	14	%29.16	14	%29.16	
	C	36	%37.5	36	%37.5	
	T	60	%62.5	60	%62.5	
7566 C>T	CC	16	%33.33	12	%25.0	p >0.05
	TT	16	%33.33	13	%27.08	
	CT	16	%33.33	23	%47.91	
	C	48	%50.0	47	%48.95	
	T	48	%50.0	49	551.04	
8773 C>T	CC	47	%97.91	48	%100.0	p >0.05
	TT	0	%0	0	%0	
	CT	1	%2.08	0	%0	
	C	95	%98.95	96	%100	
	T	1	%1.04	0	%0	
9041 G>A	GG	27	%56.25	21	%43.75	p >0.05
	AA	6	%12.5	7	%14.58	
	GA	15	%31.25	20	%41.66	
	G	69	%71.87	62	%64.58	
	A	27	28.12%	34	%35.41	

ğer kanseri riskinin periferik kan lenfositlerindeki *CYP1A1* ve *CYP1B1*'in indüklenmesi sonucu gerçekleştiği ortaya konmuştur (21). Diğer bir çalışmada *CYP8A79*, *CYP41A1* gen polimorfizmleri ile akciğer kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (22). Bir başka çalışmada da kolorektal kanserli hastalarda *CYP7B7* gen polimorfizmine bakılmış ve önemli bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (15). Ayrıca başka bir çalışmada *CYP8D2*'nin rolünden de bahsedilmiş ve zayıf metabolizör fenotipe sahip olan ve sigara içen olgularda akciğer kanseri riskini azalttığı fakat meme kanseri ile de ilişkili olduğu görülmüştür (23). Testosteron metabolizmasında yer alan *CYP3A4*'deki bir polimorfizmin prostat kanserine yakınlık oluşturduğu gösterilmiştir (5). Prostat kanseri

etiolojisinde de *CYP016* enzim sisteminde *CYP9A0*, *CYP8C5* gibi alt gruplarındaki polimorfizmlerin prostat kanseri oluşumundaki rolü araştırılmıştır. Bu çalışmalarda *CYP016* enzim ailesinin karsinogenez üzerinde etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Farklı kanser türlerinde *CYP8C5* alt grupların polimorfizm bağlantısı araştırılmış olsa da, bizim çalışmamız prostat kanserinde *CYP2C9* ve alt grupları ile yapılan ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Çalışmamız için *CYP8C5*'un alt gruplarından fenotipe etkileri olan *2, *3, *4, *5, *6, *11 seçilmiştir. Örnek sayısı azlığı sebebi ile istatistiksel fark bulunamamış olsa da *CYP8C5**8 için hasta grubunda %18,75, kontrol grubunda ise sıfır heterozigotluk tespit edilmiştir. Kanımızca bu sonuç örnek sayısının artması

halinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç verecektir. *CYP2C9*3* için kontrol grubunda $\pm 8,5^0$ homozigot mutant genotipe rastlanırken, hasta grubunda % 0 oranında görülmüştür. *CYP8C5*1* alt grup polimorfizmi hasta grubunda %2,08 oranında heterozigotluk gösterirken, kontrol grubunda görülmemiştir. *CYP8C5*77* polimorfizmi ise hasta grubunda heterozigot genotip görülmezken kontrol grubunda %2,08 oranında heterozigotluk görülmüştür.

Çalışmamıza, kanser oluşum mekanizmalarında rolü olan ve vitamin K metabolizma yolağında etkili olan *VKORC1* geni de dâhil edilmiştir. *VKORC1* geni vitamin K'nın metabolizmadaki rolüne bağlı olarak damarlarda koagülasyon kaskatında önemli rol oynamaktadır ve anjiogenezle yakından ilgilidir (19). Vitamin K'nın genel kanser riskini azalttığı bilinmektedir (20). *VKORC7* alt gruplarındaki gen polimorfizm çalışmaları sonucunda akciğer kanserli bireylerde bu *VKORC7* polimorfizmlerinin önemli olduğu bildirilmiş ayrıca bir başka çalışmada da *VKORC7* geni ve alt gruplarında polimorfizmlerin hepatoselüler karsinomda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (24). Ayrıca, vitamin K'nın K1 formunun prostat kanseri riskini azalttığı da bildirilmiştir (25). Bunun yanı sıra vitamin K'nın çeşitli kanser türleri üzerinde koruyucu bir etkisinin olduğu da bildirilmiştir (26). Biz çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda, *VKORC1* geni alt gruplarında *VKORC7 6484* polimorfizmini sırası ile %34,41 ve %47,91 homozigot mutant olarak tespit ettik. *VKORC7 2419* polimorfizmi için ise %34,41 ve %25 oranında homozigot mutant genotip gördük. Bir diğer alt grup olan *VKORC7 3122* için homozigot mutant genotip hasta grubunda %33,33 oranında, kontrol grubunda ise %27,08 oranında görülmüştür. *VKORC7 5607*'de ise hasta grubunda %31,25 oranında görülen heterozigot genotip kontrol grubunda %41,66 olarak görülmüştür. Analiz sonuçlarımızda *VKORC7* genotip yüzdeleri açısından önemli derecede sayısal farklılıklar tespit ettik. Türk toplumunda veya başka bir popülasyonda benzer herhangi bir çalışmanın yapılmamış olması bizim çalışmamıza ayrı bir değer katarken, verilerimizi birebir karşılaştırma imkânını elimizden almıştır. *CYP2C9* ve *VKORC1* genlerinin alt gruplarının prostat kanseri ile ilişkilerinin aydınlatılmasını amaçlayan çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında genotip yüzdeleri bakımından önemli farklılıklar tespit ettik. İstatistiksel anlam elde edilememesini örnek sayısı kısıtlılığına bağlayarak kanser etiolojisinin aydınlatılmasında benzer çalışmalara önayak olduğumuz düşünülmektedir. Ayrıca bu ve benzeri ileri çalışmaları ile, *VKORC1* ve *CYP2C9* enzimlerini kodlayan genlerin alt gruplarında meydana gelen polimorfizmlerin tespiti ile prostat kanseri tedavisine farmokogenetik açıdan bakma fırsatını da doğurmuş olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer*. 2001; 37: 4-66.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2002; 55: 74-108.
3. Coffey DS. Similarities Of Prostate And Breast Cancer: Evolution, Diet, And Estrogens. *Urology*. 2001; 57: 31-38.
4. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 1-42.
5. Rebbeck TR, Jaffe JM, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB. Modification Of Clinical Presentation Of Prostate Tumors By A Novel Genetic Variant In *Cyp3a4*. *J Natl Cancer Inst*. 1998; 90: 1225-1229.
6. Kumagai J, Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Ogushi T, Horie-Inoue K et al. Cytochrome P450 2B6 is a growth-inhibitory and prognostic factor for prostate cancer. *Prostate*. 2007; 1;67: 1029-1037.
7. Yin I, Miyata T. 'Warfarin dose and the of *CYP2C9* and *VKORC I* Jarionnle and perspectives. *Thrombosis Research*. 2007.
8. Vermeer C, Knapen MHJ, Schurgers LJ. Vitamin K and metabolic bone disease. *Clin Pathol*. 1998; 51: 424-426.
9. Holzer G, Grasse AV, Zehetmayer S, Bencur P, Bieglmayer C, Mannhalter C. Vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) gene mutations in osteoporosis: A pilot study. *Transl Res*. 2010; 156(1): 37-44.
10. Wang Y, Zhen Y, Shi Y, Chen J, Zhang C, Wang X et al. Vitamin K epoxide reductase: a protein involved in angiogenesis. *Mol Cancer Res*. 2005; 3:317-323.
11. New AS. Bone health: the role of micronutrients. *Br Med Bull*. 1999; 55(3):619-633.
12. Monographs. Vitamin K2. *Altern Med Rev*. 2009; 14 (3): 284-293.
13. Montes R, Gaona ER, Martinez-Gonzalez MA, Alberca I, Hermid J. The 1639G > A polymorphism of the *VKORC1* gene is a major determinant of the response to acenocoumarol in anticoagulated patients. *British Journal of Haematology*. 2006; 133: 183-187.
14. Walsh PC, Retik BA, Vaughan ED, Wein AJ. Campbell's urology. 9th ed. Philadelphia, *Saunders Co*. 2007; 3001-3221.
15. Habano W, Gamo T, Sugai T, Otsuka K, Wakabayashi G, Ozawa S. *CYP1B1*, but not *CYP1A1*, is downregulated by promoter methylation in colorectal cancers. *Int J Oncol*. 644³; 78(8): 54² 9-1091.
16. Liao LH, Zhang H, Lai MP, Lau KW, Lai AK, Zhang JH et al. The association of *CYP2C9* gene polymorphisms with colorectal carcinoma in Han Chinese. *Clin Chim Acta*. 2007; 380(16): 191-196.
17. Levkovich NN, Gorovenko NG, Myasoedov DV. Association of polymorphic G1934A variant (allele *4) of *CYP2D6* gene with increased risk of breast cancer development in Ukrainian women. *Exp Oncol*. 2011; 33(3): 136-139
18. Gan CQ, Wang XY, Cao YD, Ye WX, Liu H, Sun YY. Association of *CYP2C19*3* gene polymorphism with breast cancer in Chinese women. *Genet Mol Res*. 2011; 10(4):3514-3519.
19. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. Mechanisms of disease, the pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (part one). *N Engl J Med*. 1992; 326(1): p.242-250
20. Nimptsch K, Rohrmann S, Nieters A, Linseisen J. Serum Undercarboxylated Osteocalcin as Biomarker of Vitamin K Intake and Risk of Prostate Cancer: A Nested Case- Control Study in the Heidelberg Cohort of the European Prospective Investigation

- into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18(1): 49-56
21. Kellerman G, Shaw CR, Luyten-Kellerman M. Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Inducibility And Bronchogenic Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1973;298: 934-937.
 22. Tamaki Y, Arai T, Sugimura H, Sasaki T, Honda M, Muroi Y, et al. Association between cancer risk and drug-metabolizing enzyme gene (CYP2A6, CYP2A13, CYP4B1, SULT1A1, GSTM1, and GSTT1) polymorphisms in cases of lung cancer in Japan. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2011; 26: 516-522.
 23. Ayesh R, Idle JR, Ritchie JC, Crothers MJ, Hetzel MR. Metabolic Oxidation Phenotypes As Markers For Susceptibility To Lung Cancer. *Nature*, 1984; 312: 169-170.
 24. Wang Y, Luo F, Zheng Y, Fan X, Chen J, Zhang Y, Hui R. VKORC1 haplotypes influence the performance characteristics of PIVKAI for screening of hepatocellular carcinoma. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48: 1475-9.
 25. Wijen PA, Bekers O, Drent M. Development of cocaine-induced interstitial lung damage in two CYP2C and VKORC1 variant allele carriers. *MolDiagn Ther.* 2011; 15: 177-80
 26. Lamson DW, Plaza SM. The anticancer effects of vitamin K. *Altern Med Rev.* 2003; 8: 303-318.