

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİ KANSER İLAÇLARI METABOLİZE
EDEN ENZİMLERİN POLİMORFİK ÖZELİKLERİ**

ARSALAN AMİRFALLAH

**TEMEL ONKOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

İZMİR-2013

DEU.HSI.MSc-2010970110

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİ KANSER İLAÇLARI METABOLİZE
EDEN ENZİMLERİN POLİMORFİK ÖZELİKLERİ**

**TEMEL ONKOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ARSALAN AMİRFALLAH

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Yasemin BASKIN

(Bu araştırma DEU Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından
2013.KB.SAG.036 sayılı proje ile desteklenmiştir) .

DEU.HSI.MSc-2010970110

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans programı öğrencisi, **Arsalan AMİRFALLAH** 'Anti Kanser İlaçları Metabolize Eden Enzimlerin Polimorfik Özellikleri' konulu Yüksek Lisans tezini *26.03.2013* tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Doc. Dr. Yasemin BASKIN

BAŞKAN

ÜYELER

Prof.Dr.Nur OLGUN

(ÜYE)

Prof.Dr.İlhan ÖZTOP

(ÜYE)

Prof.Dr.Hülya ELLİDOKUZ

(ÜYE)

Prof.Dr.Serap AKSOYLAR

(ÜYE)

Prof.Dr.Safiye AKTAŞ

(YEDEK ÜYE)

Prof.Dr.A.Uğur YILMAZ

(YEDEK ÜYE)

İçindekiler

İÇİNDEKİLER	i
TABLODİZİNİ	vi
ŞEKİL DİZİNİ	viii
KISALTMALAR	x
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1.GİRİŞ VE AMAÇ	5
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi	5
1.2. Araştırmanın Amacı	6
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	6
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Kanser Kemoterapisinin Tarihçesi	7
2.2. Kemoterapinin Tanımı	7
2.3. İlaçların Emilimi, Dağılımı ve Eliminasyonu	8
2.3.1. İlaç Metabolizmasının Evreleri ve Enzimleri	8
2.3.2. Faz I Enzimleri	10
2.3.3. Faz II Enzimleri	11
2.4. Kemoterapi İlaçların Toksisiteleri	12
2.4.1.Kemoterapinin Dermatolojik Toksisitesi	12
2.4.1.1.Cilt Toksisiteleri	13
2.4.1.2. Alopsi	13
2.4.1.3. Stomatit	13

2.4.2. Hematolojik Toksisite	14
2.4.3. Kardiyotoksisite	14
2.4.4. Akciğer Toksisitesi	15
2.4.5. Gastrointestinal Toksisite	15
2.4.5.1. Bulantı-Kusma	15
2.4.5.2. Diyare	16
2.4.5.3. Konstipasyon	16
2.4.6. Karaciğer Toksisitesi	17
2.4.7. Nörotoksisite	17
2.4.8. Göz Toksisitesi	18
2.4.9. Böbrek Toksisitesi	18
2.4.10. Vasküler Toksisite	18
2.4.11. Gonadal Toksisite	19
2.5. Toksisite Değerlendirme Kriterleri	19
2.6. 5- Fluorouracil (5-FU)	21
2.6.1. 5-FU'in Etki Mekanizması	21
2.6.2. 5-FU'in Biyotransformasyonu	22
2.6.3. 5-FU'in Biyotransformasyonunda Görevli Enzimler	23
2.6.3.1. Folat Metabolizmasına Katılan Enzimler	23
2.6.3.2. Dihidropirimidin Dehidrogenaz (DPD)	24
2.6.3.3. Timidilat Sentaz (TS)	25
2.6.3.4. 5-FU Kullanımında Klinikte Saptanan İlaç Toksisiteleri	26
2.7. İlaç Toksisitesindeki Farmakogenetik Belirteçlerin Rolü	28
2.7.1. 5-FU ve Kapesitabin Toksisitesini Belirleyen Farmakogenetik Belirteçler	29

3. Gereç ve Yöntem	33
3.1 Araştırmanın Tipi.....	33
3.2 Araştırmanın Yeri Ve Zamanı	33
3.3 Araştırmanın Evreni Ve Örneklemi ve Çalışma Grupları.....	33
3.4 Çalışma Materyali.....	33
3.5 Araştırmanın Değişkenleri	33
3.6. Veri Toplama Araçları	34
3.6.1. Olgu Rapor Formu.....	34
3.6.2.Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Hasta Dosyaları	34
3.6.3.Kullanılan cihazlar, sarf malzemeleri	34
3.6.4. Sequenom MassARRAY İPLEX Gold® Teknolojisi Üstünlükleri.....	35
3.7. Genetik Analiz	36
3.7.1. Çalışma Dilüsyonu	36
3.7.2. Genotipleme Testi İçin Gereken PZR Primer ve Uzama Probu Dizaynı	36
3.7.2.1. SNP Veya Mutasyon Bölgesi Seçimi	36
3.7.2.2. Amplifikasyon Primerleri Dizayn Edilmesi	36
3.7.2.4.Multipleks iPLEX Gold reaksiyonunda dikkat edilmesi gerekenler41	
3.7.5. Sequenom MassARRAY® Protokol	37
3.7.5.1.1.DNA'nın Genotipleme İçin Çoğaltılması.....	37
3.7.5.2. Thermocycler Pzr Reaksiyonları	38
3.7.5.3. dNTP Nötralizasyonu (SAP Reaksiyonu)	39
3.7.5.4. SAP Reaksiyon Kokteyli aşağıdaki gibi hazırlanır.....	39
3.7.5.6. İPLEX Gold® Reaksiyonu Hazırlama (Tek baz spesifik uzama reaksiyonu)	40
3.7.5.7. İPLEX Gold Reaksiyon Kokteyli aşağıdaki gibi hazırlanır.....	40

3.7.5.8. iPLEX Gold Reaksiyon Kokteylinin Thermocyclerde İşlem Görmesi.....	40
3.7.5.9. Resin ile temizleme.....	41
3.7.5.10. SpectroCHIP® Dağılımı.....	41
3.8. MALDI-TOF MS İle Veri Analizi.....	41
3.9. Araştırma Planı Ve Takvimi.....	42
3.10. Verilerin Değerlendirilmesi.....	43
3.11. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	43
3.12. Etik Kurul Onayı.....	43
4. Bulgular	44
4.2. Demografik Veriler.....	44
4.2.1. Olgu Grubundaki Toksisite Değerlendirmesi ve Derecelendirilmesi.....	44
4.2.2. Olgularda Saptanan Toksisiteler.....	46
4.2.3. Olgularda Kullanılan Kemoterapi Rejimleri.....	47
4.2.4. Olgularda Kullanılan Kemoterapi Rejimlerinin Yanıtları.....	47
4.3 Mutasyon Analizi Verileri.....	48
4.3.1. <i>MTHFR</i> Genine Ait C677T Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı.....	48
4.3.1.1 <i>MTHFR</i> Genine Ait C677T Genotiplerinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumları.....	48
4.3.2. <i>DPYD</i> Genine Ait A 2846 T Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı.....	49
4.3.2.1 <i>DPYD</i> Genine Ait A2846T Genotiplerinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumu.....	50
4.3.3. <i>DPYD</i> Genine Ait <i>DPYD</i> *2A (IVS14+1 G→A) Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı.....	50

4.3.3.1. <i>DPYD</i> Genine Ait <i>DPYD</i> *2A (IVS14+1 G→A) Wild Tip Genotipinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumu	51
4.3.4. <i>DPYD</i> Genine Ait <i>DPYD</i> *9A (T85C) Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı.....	51
4.3.4.1. <i>DPYD</i> Genine Ait <i>DPYD</i> *9A (T85C) Genotiplerinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumları	52
4.3.5. <i>DPYD</i> Genine Ait <i>DPYD</i> *7 (T 1679C) Genotiplerinin Olgu Grubu Arasındaki Dağılımı	53
4.3.5.1. <i>DPYD</i> Genine Ait <i>DPYD</i> *7 (T 1679C) genotipindeki MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Wild Tip Mass Spektrumu	56
4.3.6. <i>TYMS</i> Geninin <i>TYMS</i> 1494 ins del Genotiplerinin Olgu Grubu Arasındaki Dağılımı.....	56
4.3.6.1. <i>TYMS</i> Genine Ait <i>TYMS</i> 1494 ins/del Genotiplerinin , MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Wild Tip Mass Spektrumu	55
4.4. Polimorfik Genlerin Tosisite İlişkisi.....	56
4.4.1. <i>MTHFR</i> 677C>T Mutasyonu ile Toksisite Varlığı Arasındaki İlişki	56
4.4.2. <i>MTHFR</i> 677C>T Mutasyonu ile El ve Ayak Sendromu Toksisitesi Arasındaki İlişki.....	55
4.5 Çalışma Grubumuzun Mutasyon Sonuçlarının Diğer Etnik Gruplardaki Mutasyon Sonuçları ile Karşılaştırılması.....	55
4.6Tüm Olguların <i>DPYD</i> , <i>TYMS</i> , <i>MTHFR</i> Mutasyonları ve Toksisite Durumları	58
4.7Tüm Olguların <i>DPYD</i> , <i>TYMS</i> , <i>MTHFR</i> Mutasyon Durumları ve Kemoterapi Yanıtları	62
5. Tartışma.....	73
6.Sonuç ve Öneriler.....	80
7.Kaynaklar	82
8. Ekler	
8.1 Etik kurul raporu	93
8.2 Özgeçmiş ve yayınlar.....	94

Tablolar Dizini

Sayfa No

Tablo 1. Kemoterapi toksisite değerlendirme kriterleri	20
Tablo 2. 5-FU'in toksisite beliteçleri ve roleri	31
Tablo 3. Kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler	34
Tablo 4. Tek assay için iPLEX Gold® ürünleri arasındaki kütle farklılıkları	37
Tablo 5. Sequenom PCR reaktif seti kullanılarak pcr kokteyl hazırlanması	38
Tablo 6. SAP kokteylinin hazırlanması	39
Tablo 7. Her kuyu için aynı multiplex assay ve kuyulara farklı DNA.....	39
Tablo 8. Olguların demografik bilgileri	45
Tablo 9. MC677T genotiplerinin olgu gurubu arasındaki dağılımı	48
Tablo 10. DA2846T genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı	49
Tablo11. <i>DPYD</i> *2A (IVS14+1 G→A) genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı	50
Tablo12. <i>DPYD</i> *9A (T85C) genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı	51
Tablo13. <i>DPYD</i> *7 (T 1679C) genotiplerinin olgu gurubu arasındaki dağılımı	53
Tablo14. <i>TYMS</i> 1494 ins /del genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı	54
Tablo 15. <i>MTHFR</i> 677C>T mutasyonu ile toksisite varlığı arasındaki ilişki	56
Tablo 16. <i>MTHFR</i> 677C>T mutasyonu ile el ve ayak sendromu toksisitesi arasındaki ilişki	57
Tablo 17. <i>MTHFR</i> 677C>T mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı	57
Tablo 18. <i>DIVS14+1G>A</i> mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı	58
Tablo 19. <i>D85T>C</i> mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı	58
Tablo 20. <i>D2846A>T</i> mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı.....	58
Tablo 21. Homozigot (mutant) <i>M677C>T</i> mutasyonu olan olguların toksisite durumları	58

Tablo 22: Heterozigot <i>M677C>T</i> mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları	59
Tablo 23: Heterozigot <i>DIVS14G>A/G</i> mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları	60
Tablo 24: Homozigot <i>D85T>C/T</i> mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları	60
Tablo 25: Heterozigot <i>D85T>C/T</i> mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları	60
Tablo 26: Heterozigot <i>TS 1494ins/del</i> mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları	61
Tablo 27: Homozigot (mutant) <i>TS 1494ins/del</i> mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları	62
Tablo 28: Heterozigot <i>M677C>T</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları	62
Tablo 29: Homozigot (mutant) <i>M677C>T</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları ...	63
Tablo 30: Heterozigot <i>DIVS14G>A/G</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları	64
Tablo 31: Homozigot (mutant) <i>D85T>C/T</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları ..	64
Tablo 32: Heterozigot <i>D85T>C/T</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları	64
Tablo 33: Homozgot(mutant) <i>TS 1494ins/del</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları	65
Tablo 34: Heterozigot <i>TS 1494ins/del</i> mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları	65
Tablo35: Tüm Olguların Mutasyon Sonuçlarına	67

Şekiller Dizini

Sayfa No

Şekil 1. İlaçların metabolizmasının evreleri	9
Şekil 2. İlaçların metabolizmasında görevli Faz1 ve Faz 2 enzimleri	11
Şekil 3: 5- FU'in kimyasal yapısı	21
Şekil 4. 5-FU metabolik yolağındaki <i>MTHFR</i> enzimi	24
Şekil 5: 5-FU metabolik yolağındaki DPD enzimi.....	25
Şekil 6: 5-FU metabolik yolağındaki TS enzimi.....	26
Şekil 7: 5-FU'in Metabolik Yolağı	32
Şekil 8: Hedef bölge amplifikasyonu, SAP inkübasyonu, tek baz spesifik uzama ve spektrumgörüntüsü	40
Şekil9: MALDI-TOF reaksiyon şeması ve spektro görüntüsü.....	42
Şekil 10.Çalışma planı	42
Şekil 11. Olgu gurubundaki toksisite durumu	44
Şekil 12. Toksisite olan olgulardaki, toksisite grade dağılımı.....	45
Şekil 13. Toksisite olan olgulardaki, düşük grade, yüksek grade dağılımı	46
Şekil 14. Olgularda saptanan toksisiteler	46
Şekil 15. Olgu gurubundaki kullanılan kemoterapi rejimlerinin dağılımı.....	47
Şekil 16. Olgu Gurubunun kemoterapi rejimlerine verdikleri yanıtlar	47
Şekil 17. <i>MTHFR</i> , C677T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi (M677CC)	48
Şekil 18: <i>MTHFR</i> , C677T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan heterozigot genotipi (M677CT)	49
Şekil 19. <i>MTHFR</i> , C677T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan homozigot mutant genotipi (M677CC)	49

Şekil 20. <i>DPYD</i> , A 2846 T genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan wild tip genotipi (D2846AA).....	50
Şekil 21. <i>DPYD</i> *2A (IVS14+1 G→A) genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan wild tip genotipi	51
Şekil 22. <i>DPYD</i> *9A (T85C) genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan wild tip genotipi	52
Şekil 23. <i>DPYD</i> *9A (T85C) genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan heterozigot genotipi	52
Şekil 24. <i>DPYD</i> *9A (T85C) genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan homozigot(mutant) genotipi	53
Şekil 25. <i>DPYD</i> *7 (T 1679C) genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan wild tip genotipi	54
Şekil 26. <i>TYMS</i> 1494 ins/del genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan wild tip genotipi	55
Şekil 27. <i>TYMS</i> 1494 ins/del genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan heterozigot genotipi	55
Şekil 28. <i>TYMS</i> 1494 ins/del genotipindeki, MassARRAY® TYPERS 4.0 ile saptanan homozigot mutant genotipi	56

Kısaltmalar

5-FU: 5 Flurourasil

DPYD: Dihidropirimidin dehidrogenaz

MTHFR: Metilentetrahidrofolat redüktaz

Gİ: Gastrointestinal

PD: Farmakodinamik

PK: Farmakokinetik

FMO: Flavin monooksijenaz

NAT: N-asetil transferazlar glukuroniziltransferazlar

UGT: Glukuronoziltransferaz

GST: Glutasyon-S-Transferazlar

Rpm: revolutions (or rotations) per minute

RCF (g): relative centrifugal field

dk: dakika

ml: mililitre

µl: mikrolitre

sn: saniye

°C: Celcius

nm: nanometre (Dalga boyu)

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

dNTP: Deoksinukleotid

ddNTP: Dideoksinukleotit

H₂O: su

dH₂O: distile su

EKG: elektro kardiyo gram

KTB: kemoreseptör tetikleyici bölgesine

VOD: veno oklüziv hastalık

dUMP :deoksiüridin monofosfatla

FUMP: 5-fluorouridine-5-monophosphate

MTHF: metilentetrahidrofolatı

İTR: ilaç toksisite reaksiyonları

NHL: non Hodgkin lenfoma

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren Onkoloji Enstitüsü Müdürümüz Prof.Dr.Nur OLGUN'a.

Destek ve katkılarından dolayı Onkoloji Enstitüsü Müdür Yardımcısı Prof.Dr. İlhan ÖZTOP'a.

Başta Enstitü Sekreteri Şenay AÇIKALIN olmak üzere yardımlarından dolayı enstitünün tüm çalışanlarına ve idari personeline.

Yalnızca bu tezi yazarken değil, tüm yüksek lisans eğitimim boyunca, bilgisini ve zamanını benimle cömertçe paylaşan, eğitimimin gelişiminde en çok emegi geçen her zaman yanımda olan ve desteğini hiç bir zaman benden esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr.Yasemin BASKIN'a.

Tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasındaki değerli katkıları için Prof.Dr.Hülya ELLİDOKUZ'a,

Tez çalışmam sırasında bana her türlü yardımda bulunan, bilgi ve desteklerini bizimle paylaşan Uzman. Dr. Ölçüm Ümit UNAL'a.

Bilgisi, desteği ve arkadaşlığıyla her zaman yanımda olan ve yardımını benden hiç bir zaman esirgemeyen Msc. Gizem ÇALIBAŞI'na.

Gündüz Tedavi Merkezinde bana tezime çalışma imkanı sağlayan baş hemşire Deniz Ağan Arslan'a ve olgulardan kan örneği toplarken bana yardımcı olan Gündüz tedavi Merkezinin tüm hemşirelerine ve çalışanlarına

Olguların klinik bilgilerinin taranması sırasındaki yardımlarından dolayı tüm Tıbbi Onkoloji BD çalışanlarına,Yüksek Lisans eğitimimde, gösterdikleri yakın ilgi ve destekleri için

Temel Onkoloji ABD öğretim üyelerine,

Varlığı ve desteği ve arkadaşlığı için Yusuf Kağan DAĞDEVİREN'e

Yardımları ve arkadaşlıkları ile her zaman yanımda olan tekniker Ayşe ÖZCAN KESKİN'e ve tekniker Nurçin KAYACIK'a

Son olarak, tüm eğitim, çalışmalarım ve sıkıntılarım boyunca her şekilde yanımda olan ve manevi desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen, beni amaçlarıma ulaşmak için her zaman destekliyen, sevgili eşim Mandana SANAJOU'ya

Her türlü desteklerinden dolayı ve hiç bir zaman bizi yalnız bırakmayan SANAJOU ve AMİRFALLAH ailerine, teşekkürlerimi sunarım.

Arsalan AMİRFALLAH

ÖZET
ANTİ KANSER İLAÇLARI METABOLİZE EDEN ENZİMLERİN POLİMORFİK
ÖZELİKLERİ

Arsalan AMİRFALLAH

Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, 35340 İnciraltı, İzmir

Yazışma adresi: arsalan.amirfallah@gmail.com

Amaç: 5-Florourasil (5-FU) kırk seneden beri bir çok solid tumorun sağaltımı için kullanılmaktadır. 5-FU sağaltımı alan hastaların %15' indeki derece III-IV mukozit, nötropeni, bulantı, diyare, miyelosüpresyon, el-ayak sendromu toksisiteleri, 5-FU metabolik yolağındaki Dihidropirimidin dehidrogenaz (DPYD), Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), Timidilat sentaz (TS) enzimlerinin polimorfik özellikleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmanın amacı 5-FU ilacının metabolizmasını ilgilendiren enzimlere ait genlerin popülasyona özgü polimorfizimlerinin belirlenmesi; bu polimorfizimler ile sağaltım sonuçlarının ve gözlenen toksisitelerin ilişkili olarak incelenmesidir.

Yöntem: 5-FU sağaltımı alan 85 kanser hastası çalışmaya alındı. *DPYD*, *TYMES*, *MTHFR* enzimleri kodlayan genler, yeni nesil Sequenom MassARRAY Analyzer 4 ile tek nükleotid değişimleri açısından tarandı .

Bulgular: Altı olguda toksisite saptanamazken, toksisite saptanan 79 olgunun, 47'sinde, hematopoeitik toksisite, 18'inde, el ve ayak sendromu, 11'inde, gastrointestinal toksisite ve 3'ünde ise, deri toksisitesi saptandı. MTHFR 677 C>T mutasyon oranı; % 47,1 wild tip, % 43,5 heterozigot, % 9,4 homozigot mutanttı. TS 1494 ins/del mutasyon oranı; % 36,5 wild tip, % 38,4 heterozigot, % 24,7 homozigot mutant olarak saptandı. DIVS14G>A/G allelik frekansı %0.6 olarak saptandı. *DPYD* 85T>C mutasyon oranı; % 47,1 wild tip, % 43,5 heterozigot, % 9,4 homozigot mutant olarak saptandı. *DPYD* 2846A>T ve D1679T>G/T mutasyonları hiç saptanmadı.

Sonuç: *MTHFR* 677C>T mutasyonu olan olgularda el ve ayak sendromu ve *TS1494ins/del* mutasyonu olan olgularda hematopoitik toksisiteler daha fazla gözlenmiştir. Ancak toksisite derecesi ile bir ilişki saptanmadı. Seçilen enzimlerin genotiplerinin belirlenmesi 5-FU toksisitesi riskini tahmin etmek için önemlidir. Toksisite ile genotip ve etnik kökenin ilişkisini doğrulamak için popülasyonu temsil gücüne sahip bir çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: 5-FU Metabolik Yolağı, *MTHFR*, *TS*, *DPYD*, polimorfizm, farmakogenetik.

ABSTRACT
POLYMORPHIC CHARACTERISTICS OF ENZYMES THAT METABOLIZE
ANTICANCER DRUGS

Arsalan AMİRFALLAH

Dokuz Eylul University, Institute of Oncology, 35340 Inciraltı İzmir/TURKEY

Correspondence address: arsalan.amirfallah@gmail.com

Objective: 5-Fluorouracil (5-FU), the mainstay of solid tumor chemotherapy over the last 40 years, induces grade III–IV toxicities in up to 15% of patients with polymorphisms in the dihydropyrimidine dehydrogenase (*DPYD*), thymidylate synthase (*TS*), and methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) genes. These toxicities include mucositis, neutropenia, nausea, diarrhea, myelosuppression, hand-foot syndrome. Aim of this study was to analyse polymorphisms characteristics of enzymes that include in 5-FU metabolic pathway, identification of population-specific gene polymorphisms and investigation the results of treatment and observed toxicities associated with related polymorphisms.

Method: Eighty five patients getting 5-FU chemotherapy were included to the study. The enzymes (*DPYD*, *TS*, *MTHFR*) taking place in the metabolic processes of the 5-FU, scanned at SNP level with new generation Sequenom MassARRAY Analyzer 4 in terms of single nucleotide polymorphisms.

Results: Six patients had no toxicity. Toxicities types in 79 patients were: 47 patients with hematopoietic toxicities, 18 with hand and foot syndrome, 11 gastrointestinal toxicities and 3 patients with skin toxicities. *MTHFR* 677 C>T mutation status was; 47,1% wild type, 43,5% heterozygot, 9,4% homozygot mutant. *TS* 1494 ins/del mutation status was; 36,5% wild type, 38,4% heterozygot, 24,7% homozygot mutant. Allelic frequency of *DIVS14G*>A/G was 0.6%. *DPYD* 85T>C mutation status was; 47,1% wild type, 43,5% heterozygot, 9,4% homozygot mutant. There were no mutation in *DPYD* 2846A>T and D1679T>G/T polymorphisms.

Conclusion: Foot and hand syndrome was detected more in the patients who had MTHFR 677 C>T mutation also hematopoietic toxicities were in high range in patients with TS 1494 ins/del mutation. Determination of selected enzymes polymorphic characteristics are important in order to predict the risk of toxicity of 5-FU. To verify the relationship between toxicity and genotype population based studies among different ethnic groups should be done.

Key Words: 5-FU metabolic pathway, MTHFR, TS, DPYD, pharmacogenetics polymorphism

1.Giriş ve Amaç

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Son yirmi yılda cerrahi, radyasyon ve kemoterapi alanındaki gelişmeler ile kanser sağkalımı artmış olsa da kemoterapi ile ilişkili toksisiteler daha fazla karşımıza çıkmaktadır. Kemoterapi ile ilişkili toksisite ve ilaç etkinliğinin her hastada farklı oluşması verilen ilacın metabolizma süreci ile ilişkilendirilmektedir. Bu açıdan ilaç metabolizması, biyotransformasyonu ve detoksifikasyon mekanizmalarındaki enzimlerin genetik yapılarındaki varyasyonlar önem kazanmaktadır. Tüm biyolojik bilimlerde olduğu gibi insan genomunun sekanslaması ve DNA analiz tekniklerinin geliştirilmesi, ilaç etkinliği ve toksisitesinin bireye özgü değişkenliğini anlamamızda çok önemli bir milad oluşturmaktadır. Kanser sağaltımında tedavi klavuzlarında tanımlanmış standart kemoterapi rejimlerinin kullanılması kabul görmüş bir yaklaşımdır. Ancak aynı standart sağaltımın hastadan hastaya değişken sağaltım farklı tedavi sonuçlarına ulaşması sağaltım planları yapılırken darha farklı parametrelerinde değerlendirilmesini düşündürmektedir. Bir çok klinik değişkenin (yaş, cinsiyet, diyet, organ fonksiyonları, tümör biyolojisi) ilaç yanıtları ile ilişkisi bilinmektedir. İlaçların farmakokinetik ve farmakodinamik süreçleri ile ilgili moleküler düzeydeki bilgilerimiz artıkça bu süreçlerde rol oynayan enzimlerin moleküler yapısının da bu değişkenler arasında değerlendirilmesi önerilmektedir. Hem ilacı metabolize eden enzimlerin hem de ilacın moleküler hedeflerindeki genetik farklılıkların tedavi sonuçları üzerinde önemli bir rolünün olduğu kabul edilmektedir. Bireye özgü klinik ve moleküler özelliklerin sağaltım planlarında göz önüne alınması artık kanser sağaltımında önem kazanan bireyseleştirilmiş sağaltımı ön plana çıkarmaktadır. Bu noktada insanların ilaçlara yanıtında görülen çeşitliliğin genetik temelerini ortaya koyan ve farmakogenomik olarak adlandırılan yeni bir bilim alanı oluşmaktadır. Genetik varyasyonlara bağlı olan ilacın vucutaki emilimi (yavaş, hızlı), metabolize edilmesi (yavaş, hızlı, çok hızlı), ilacın etki yeri (tam, yetersiz), ilacı ve metabolitlerini vucutan atma (yavaş, hızlı) yeteneğindeki farklılıklar bu bilim alanının kapsamındadır. Bu çalışmaların kanser kliniğindeki anlamı, en uygun ilaç yanıtını öngörebilir miyim? Kim de toksisite geliştirecek öngörebilir miyim? Sorularına yanıt verebilmesidir. Kemoterapi ajanlarının büyük çoğunluğu için metabolik enzimler ve hücrel hedefleri oldukça yaygın bir genetik polimorfizime sahiptirler (1). Bu nedenle klinik klavuzlarda belirtilen standart sağaltımı alan ve standartlara uygun olarak izlenen bir hasta grubunda gözlenen ilaca yanıt

farklılıkları ve gözlenen toksisitelerin bireylerin genetik yapıları ile değerlendirilmeleri literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

Dünyada bu alanda yapılan çalışmalarda enzimleri kodlayan genlerin allelik varyasyonlarının etnik guruplar arasında farklılıklar içerdiği gösterilmektedir. Türkiye kaynaklı, toplumu temsil eden bir genetik çalışması bulunmamaktadır. Türkiye popülasyonunda ilaç metabolizmasında rol oynayan enzimlerin yaygın genetik varyantlarının belirlenmesi, etkin kanser sağaltımında ulusal protokollerin oluşturulmasına yönelik önemli bir bilgi birikimi sağlayacaktır.

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı kanser sağaltımı için, rutin sağaltım protokollerinde yer alan 5-fluorourasil (5-FU) ilacının metabolizmasını ilgilendiren enzimlere ait genlerin [Dihidropirimidin dehidrogenaz (*DPYD*), Metilentetrahidrofolat redüktaz (*MTHFR*), Timidilat sentaz (*TS*)] popülasyona özgü, polimorfizimlerini belirlemek; bu polimorfizimlerle sağaltım sonuçları ve gözlenen toksisiteleri ilişkili olarak incelemektir. Çalışma ilaç uygulaması, tedavi protokol değişikliği ve invaziv bir süreci kapsamamaktadır. Kesitsel ve gözlemsel düzeyde bilgi üretimine yöneliktir.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri :

1. Tümörlerinin sağaltımı için rutin sağaltım protokollerinde yer alan 5-FU ilacının metabolizmasını ilgilendiren genlere ait, Türkiye popülasyonuna hakim bir mutasyon var mıdır?
2. Olgularda saptanan toksisite ile 5-FU ilacını metabolize eden enzim polimorfizimleri arasında anlamlı bir ilişki var mıdır?
3. Olguların sağaltım yanıtları ile 5-FU ilacını metabolize eden enzim polimorfizimleri arasında anlamlı bir ilişki var mıdır?

2.Genel Bilgiler

2.1. Kanser Kemoterapisinin Tarihçesi

1900'lerin başlarında Paul Ehrlich 'kemoterapi' terimini ortaya atmıştır. Amerika Birleşik Devletleri' nde kanser kemoterapisi ilk kez 1940'da nitrojen mustardın lenfomaların tedavisinde kullanılmasıyla başlanmıştır, arkasından C. P. Rhoads nitrojen mustardı önemli bir antikanser etkisi olan ilaç olarak tanımlamıştır. 1948'de antimetabolitler, 1950'de kortikosteroidler, 1953'te busulfan, 1959'da siklofosfamid ve arkasından kullanılmakta olan çeşitli antikanser ilaçlar bulunup kanser kemoterapisi alanına girmiştir. Ulusal Kanser Enstitüsü (National Cancer Institute, NCI) ilaç deneylerinde L-1210 fare lösemisini 1955-75 yılları arasında, P-388 fare lösemi türünü de 1975'ten sonra kullandı ve 40 yararlı antikanser ilaç geliştirdi. 1985'ten 1990'a kadar değişik kanser türlerine ait 60 hücre kültürü elde edildi. İn vitro olarak etkinliği saptanan ilaçlar ile daha sonra klinik uygulamalara geçildi. Faz I çalışmalarında ilacın maksimal tolere edilen dozu ve farmokinetiği araştırılır. Faz II'de ilacın antitümör etkinliği ve yan etkileri, Faz III'de standart tedavilerle karşılaştırmalı etkinliği araştırılır. Faz IV'te ise primer tedavilerle entegrasyon araştırılır. İlk sitotoksik ilaç olan nitrogen mustardın bulunması 2. Dünya Savaşı yıllarına rastlar. Nitrogen mustard ile ilk olarak lenfomalı hastalarda başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu tarihten itibaren bazı alkilleyici ajanlar, metotreksat gibi antimetabolitler, vinka alkaloidleri ve ilk tümör antibiyotiği olan aktinomisin-D geliştirilmiştir (2).

2.2. Kemoterapinin Tanımı

Kemoterapi, özellikle çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, doğal veya sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavi şeklidir. 1960' lı yıllara kadar kemoterapi palyatif (hafifletici) amaçla, bazı klinik bulguların azaltılması ve hastanın yaşamını biraz daha uzatmak amacıyla kullanılmıştır. Tüm kanserlerinin yaklaşık %5'ini oluşturan belirli bazı hastalıklarda küratif (tedavi edici) olduğu ve bununla birlikte sık görülen kanser tiplerinde de daha az etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak son yirmi yılda kemoterapinin cerrahi ve radyoterapi ile ayrı ayrı veya birlikte kullanılması birçok kanser türünde iyileşme oranını arttırmıştır. Bu gelişme sitostatik ilaçların adjuvan olarak kullanımı ile mümkün olmuştur. Adjuvan kemoterapi, bölgesel hastalığın klinik bulgu veren rezidüel tümör bırakmayacak şekilde tamamının çıkarılmasından sonra verilen ek tedavidir. Böyle bir tedavinin amacı, subkilinik, rezidüel, lokal

hastalığın ve daha sık olarak da olası metastazların kontrolüdür. Bu görüşten kaynaklanan neoadjuvan kemoterapi 1980’lerde ortaya çıkmış olup preoperatif ve postoperatif dönemde kanser hücrelerinin yayılması ve çoğalmasını önlemek amacıyla önerilen tedavidir. Kemoterapinin bir başka uygulama alanı da özel durumlarda tümör küçültücü cerrahiden sonra kemoterapi verilmesidir. Bazı vakalarda tümör kitlesinin küçültülmesi ilaç tedavisine cevap şansını arttırabilmektedir (3).

2.3. İlaçların Emilimi, Dağılımı ve Eliminasyonu

İlaçların vücut membranlarından geçerek kan dolaşımına girmesi emilim olarak tanımlanır. Gastrointestinal (Gİ) kanal, solunum sistemi ve deri, ilaçların vücuda girdikleri en önemli yollardır (4). Emilim sonucunda kana geçen ilaçlar, kapillerden damar dışına geçerek interstisyel sıvıya ve etki yerine dağılırlar (5). Metabolizma (biyotransformasyon) ve atılım (ekskresyon) eliminasyonda rol oynayan temel iki olaydır. Lipofilik yapıdaki zenobiyotikler biyotransformasyona uğrayarak hidrofilik hale geçer ve idrar ile atılır. Atılım ise, kimyasal yapısı değişen zenobiyotiklerin çeşitli yollardan organizmayı terk etmesidir. İlaçların vücuttan eliminasyonunda rol oynayan en önemli iki organ, böbrekler ve karaciğerdir (6). İnce barsaklar da metabolizasyonda rol oynar (7). Uçucu maddeler akciğerlerden elimine edilir. İn hale edilen ilaçların biyotransformasyonunda nazal epiteller önemli rol oynarlar. Feçes, safra, vücut sekresyonları ve süt ile eliminasyon da diğer yollar arasındadır. Böbreklerden ilaçların ve metabolitlerinin eliminasyonu glomerüler filtrasyon, tubüler sekresyon ve pasif tubüler reabsorpsiyon ile olur (8).

2.3.1. İlaç Metabolizmasının Evreleri ve Enzimleri

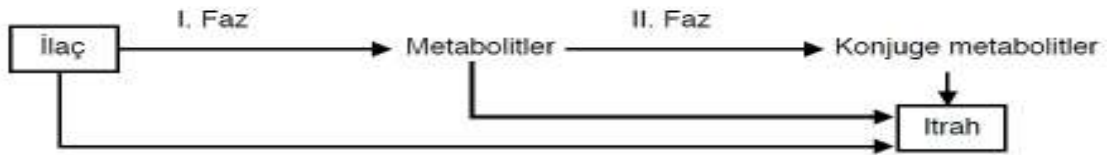
İlaçların enzimlerin etkisi ile kimyasal değişikliklere uğramasına biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon sonucu ilaçlar genellikle daha az etkili veya etkisiz bileşikler haline getirilir. Bu yüzden biyotransformasyona, biyoinaktivasyon veya detoksikasyon da denilir. Biyotransformasyon sonucu ilaçlar daha polar hale gelirler, lipid/su partiyon katsayıları azalır ve suda çözünürlükleri artarak vücuttan daha kolay atılırlar. Biyotransformasyon yapan enzimlerin bazıları az veya çok tüm hücrelerde bulunur. Büyük kısmı ise spesifik olarak belirli organlarda (karaciğer, gastrointestinal mukoza ve lümeni, böbrek, akciğer ve diğer yapılar) bulunurlar.

Metabolizmada başrol oynayan organ karaciğerdir. İlacın metabolizması, farmakodinamik (pharmacodynamics, PD) ve farmakokinetik (pharmacokinetics, PK) süreçlerini içerir ve her bir işleme birden fazla gen ve protein dahil olmaktadır. Farmakodinamik süreç, ilacın etkisini yerine gitmesinde görevli olan proteinleri ve hücre içinde ilaçla etkileşen proteinleri kapsar. Farmakokinetik süreç ise ilacın metabolizma ve vücuttan atılma sürecinde rol olan tüm enzim ve proteinleri kapsar (9). İlaçların metabolizması genellikle iki fazdan oluşur (Şekil 1).

I. Faz: oksidasyon, redüksiyon, kopma gibi kimyasal reaksiyonlar oluşur.

II. Faz: İlaç veya metabolitlerinin bazı maddelerle bağlanması ve konjugasyonlar oluşur.

Bazı ilaçlar sadece I. faz reaksiyonlarına maruz kaldıktan sonra itrah edilirler. Birinci faz sitokrom P450 olarak da bilinen bir grup monooksijenaz tarafından kataliz edilen hidroksillenmedir. İkinci faz hidroksillenmiş türler glukuronik asit, sülfat veya glutatyon gibi bir grup hidrofil bileşiklerle konjuge edilir. İlaç metabolizmasındaki bu iki fazın genel amacı bunların suda çözünürlüğünü arttırmak ve böylece vücuttan atılmalarını kolaylaştırmaktır. Bu iki evre sonunda lipofil maddeler vücuttan atılabilecek suda çözünür bileşikler haline çevrilir (10,11).



Şekil 1. İlaçların metabolizmasının evreleri

Enzimler; hidroksilasyon, dealkilasyon, deaminasyon, N-oksidasyon ve sulfoksidasyon gibi oksidatif tepkimeleri katalize ederler. Metabolize edilen lipofilik maddeler, daha polar hidrofilik bileşiklere dönüşürler ve bu şekilde vücuttan atılmaları olanaklı hale gelir. Metabolitler sıklıkla ana molekülden daha az aktiftirler, ancak aktif de olabilirler. Metabolitlerin toksik, karsinojen veya teratojen olmaları da mümkündür. Metaboliti karsinojen olan bir maddeyi metabolize eden enzimin indüksiyonu doğal olarak karsinojen etki yapacaktır. Enzimler seçici değildirler ve birçok kimyasal konfigürasyonu tanıyabilirler. Ancak belli yapıdaki kimyasal

maddelere bir ölçüde özgülükleri olduğu söylenebilir. Bir enzimin yokluğunda metabolik yolun değişebilmesi nedeniyle metabolizma tamamen kaybolmaz, yalnızca etkinliği azalır. Diğer bir deyişle enzim aktivitesindeki değişikliklerde metabolizma başka bir enzim tarafından sağlanabilmekte, bu şekilde organizma olası tehlikeli etkileşmelerden ve zehirlenmelerden korunmaktadır. İlaç biyotransformasyon enzimleri bütün vücuda dağılmıştır ve pek çok subselüler kompartmanda bulunur. Omurgalılarda karaciğer, biyotransformasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimler için en zengin kaynaktır. Biyotransformasyon enzimleri başta karaciğerin parankimal hücrelerinde (hepatositlerde) olmak üzere, böbrekte tübülüs hücrelerinde, akciğerde klara hücrelerinde, ince barsakta mukoza hücrelerinde, testislerde sertoli hücrelerinde bulunurlar. Aynı zamanda deri, akciğerler, burun mukozası, göz, adren, pankreas, dalak, kalp, beyin, ovaryum, plasenta, plazma, eritrosit, trombosit, lenfosit ve aortada da bulunur. Karaciğer ve diğer pek çok organda bulunan ilaç biyotransformasyon enzimleri büyük oranda endoplazmik retikulum (mikrozomlara) ya da sitozolde lokalize olmuşlardır. Daha az oranda da mitokondri, çekirdek ve lizozomlarda bulunurlar. Sitozolik enzimler; alkol, aminler, ksantinleri okside eden enzimlerdir. Mikrozomal monooksijenazların en önemli enzim sistemi sitokrom P450 enzim sistemidir. Bu sistemin karaciğer dışında, insan vücudunda yüzlerce tip izozimi mevcuttur. Vücuda alınan ilaçların %50'si sitokrom P450 izoformları tarafından metabolize edilir. Aynı zamanda ilaçların etki süresinin ve şiddetinin belirlenmesinde önemli görevleri vardır. Mikrozomal ve mitokondrial P450 enzimlerinin, steroid hormonların, safra asitlerinin, yağda çözünen vitaminlerin biyosentezinde ve katabolizmasında rol oynaması, sitokrom P450'nin katalitik çok yönlülüğünü gösterir. Biyotransformasyon olaylarının %90'ı mikrozomal enzimlerle, %10'u sitozolik enzimlerle olur. Diğer monooksijenaz da flavin monooksijenaz (FMO) olup sitokrom P450'ye benzer. Karaciğer, böbrek ve akciğerlerin endoplazmik retikulumunda yerleşim gösterirler. Nitrojen, sülfür ve fosfor hetero-atomlarını içeren xenobiotiklerin oksidasyonu ve bazı inorganik iyonların oksidasyonunu yürütürler (10). İki tip ilaç metabolize eden enzim grubu bulunmaktadır.

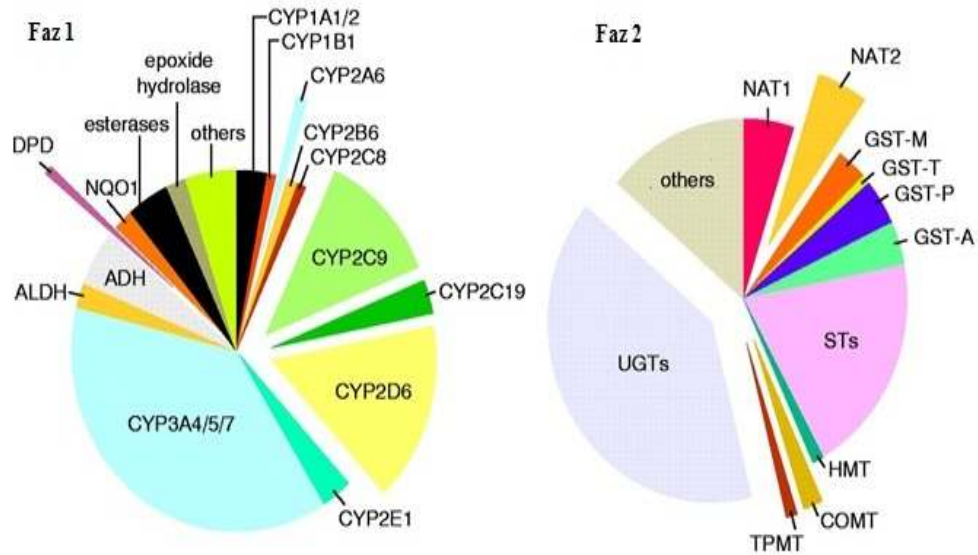
2.3.2. Faz I Enzimleri

Öncelikli olarak oksidasyon, redüksiyon, hidroksilasyon ve demetilasyon işlemlerini yaparlar. Bu işlemlerle yabancı maddeler (bunlar xenobiotic olarak bilinir) metabolizma

yolunda faz II'ye hazırlanmış olur. Faz I metabolizması büyük ölçüde P450 enzimleri ile gerçekleşir. Bu enzimler hepatositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Karaciğer dışında barsaklar, böbrekler, akciğer ve beyinde, büyük ölçüde de hücrelerin düz endoplazmik retikulumunda yer alırlar. Enzimler hidroksilasyon, dealkilasyon, deaminasyon, N-oksidasyon ve sulfoksidasyon gibi oksidatif tepkimeleri katalize ederler. Aldehid dehidrogenaz, epoksid hidroksilaz, NADPH sitokrom P450 redüktaz, UDP glukuronil transferaz, glutatyon S-transferaz ve FMO gibi enzimler de ilaç metabolizmasında önemlidir (Şekil 2). Beş grup FMO tanımlanmıştır. Bunların herbiri birden beşe kadar sayılarla adlandırılırlar. FMO'ların CYP sisteminden farklı olarak dışardan alınan maddelerle aktiviteleri etkilenmez.

2.3.3. Faz II Enzimleri

İkinci fazda ilaç veya metabolitleri bazı maddelerle bağlanır. Glukronat veya sulfat ile konjugasyon ve asetilasyon işlemlerini yaparlar. Faz II metabolizması büyük ölçüde N-asetil transferazlar (NAT), UDP glukuroniziltransferazlar (UGT), Glutatyon-S-Transferazlar (GST) enzimleri ile gerçekleşir (12).



Şekil 2. İlaçların metabolizmasında görevli Faz I ve Faz II enzimleri (13).

2.4. Kemoterapi İlaçların Toksisiteleri

Kemoterapötik ilaç kullanımında dikkate alınması gereken durumlardan biri de ilaç toksisitesidir. Bu grup ilaçların optimal kullanımında etki mekanizmaları, biyoyararlanım, eliminasyon yolu ve ilaç etkileşiminin bilinmesi yanında toksisitelerinin de bilinmesi ve izlenmesi önem taşımaktadır. Genel olarak kemoterapötik ilaçlara bağlı sık görülen yan etkiler bulantı ve kusmalar ve doz ilişkili miyelosüpresyon olmakla birlikte ilaçların kendine özgü daha spesifik toksisiteler de bulunabilmektedir. Klinik açıdan bakıldığında ilaç toksisitesi hastalarda morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır. İlaç toksisiteleri yan etkinin derecesine göre: derece 1, hafif; derece 2, orta; derece 3, şiddetli; derece 4, hayatı tehdit eden ve derece 5, ölümle sonuçlanan olmak üzere 5 kategoriye ayrılmıştır. Her bir toksik etki ortaya çıkma zamanı, spesiflik ve düzelebilirlik gibi özelliklere göre tanımlanmaktadır. İlaç toksisitesi uygulamayı takiben hemen (akut) görülebileceği gibi (bulantı, kusma), 2-3 hafta sonra (subakut) (miyelosüpresyon) ya da çok daha uzun süreçte (kronik) (katarakt, sekonder maligniteler) ortaya çıkabilmektedir. Antrasiklinlere bağlı kardiyo toksisite ve sisplatine bağlı nefrotoksisite ise kümülatif toksisiteye örnektir. Kümülatif toksisite hastadan hastaya değişebilen farmakodinamik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Kemoterapötiklere bağlı toksisite gelişmesinde ilacın maksimum plazma konsantrasyonu yanında yaş, performans durumu, öncesinde kemoterapi yada radyoterapi alıp almaması, organların fonksiyonel durumu, beslenme ve ayrıca genetik polimorfizm gibi bir çok faktör önem taşımaktadır (14,15,16). Kemoterapi sırasında ortaya çıkan semptomların izlenmesi medikal onkoloji ve hematoloji pratiğinde önemli bir yere sahiptir. Toksisitenin değerlendirilmesinde süresi, yaşam kalitesine ve psikososyal problemlere etkileri de düşünülmelidir (17). Yan etki ile karşılaşıldığında tedavide yapılacak değişiklikler, eklenecek destek tedavi yaklaşımları ve bu konuda bilgilerin güncellenmesine dikkat edilmelidir (18). NCI kemoterapi sırasında ortaya çıkan yan etkiler için kullanılan terminoloji ile semptomların şiddetini değerlendirmede kriterler belirlemiştir.

2.4.1.Kemoterapinin Dermatolojik Toksisitesi

2.4.1.1.Cilt Toksisiteleri

Kemoterapiye bağlı toksisitelerde majör toksik organlardan birisi cilttir. Hipersensitivite reaksiyonları ya da allerjik olaylar (raş, ürtiker, angioödem, kontakt dermatit) nitrozürelere hariç

hemen hemen tüm kemoterapi ilaçları ile görülebilmektedir (19,20,21). Deri ve mukozal hücrelerin hızlı bölünmeleri nedeniyle deri kemoterapiye özellikle duyarlıdır. Kemoterapötiklerin en sık toksisitelerinden biri de alopesi ve sitomatitdir (22,23).

2.4.1.2. Alopsi

Alopesinin fiziksel etkisi yanında emosyonel etkisi de önem arzeder. Saçlar genellikle ilaç verilmesini takiben 2-4 hafta içerisinde dökülmeye ve tedavi sonrası çıkmaya 3-6 ay içinde başlar. Sıklıkla antrasiklinler, alkile ediciler ve nitrozürelere bağlı olarak görülür ve reverzibildir. Saç dökülmesini önlemede kafa derisinin kan akımını azaltmak, saç köklerini farmakolojik olarak korumak ve kemoterapi etkisini lokal olarak in-aktif etmek gibi önlemler alınabilir.

2.4.1.3. Stomatit

Stomatit, kemoterapötiklerin doz sınırlayıcı etkilerinden biri olup; eritem, ödem ve atrofi (sıklıkla ülserasyona ilerler) ile karakterize ağız ve oro-farinks mukozasının bir inflamasyonudur. Stomatit şiddet ve sıklığı birçok faktöre bağlı değişir. Kemoterapi alan hastaların %40 kadarında stomatit gelişir. Yüksek doz tedavi alan olgularda bu oran %78'e kadar çıkar. Ağız infeksiyonları ve herpes simplek virüsü stomatit şiddetini artırır. Tipik bir stomatit tedavinin ilk haftasında gelişmektedir. Bu olgularda tedavi öncesi ağız/diş bakımı, izotonikli ağız gargaraları ve orofarinjyal ağrıların tedavisi önem taşır. Antrasiklin ve alkile edicilere bağlı tırnak, deri ve mukozalarda farklı karekterde pigmentasyonlar gelişir. Busulfan, adison hastalığına benzer pigmentasyon yaparken, bleomisin düğme tarzı pigmentasyon ve hidroksiüre travmatize zonlarda pigmentasyona yol açabilmektedir. Antrasiklin sonrası tırnaklarda sıklıkla pigmentasyon ve çizgilenmeler görülebilir. Lenfoma yada Hodgkin hastalığı tedavisi sonrasında transver "leukonychia" görülebilir. Güneşe maruz alanlarda ağırlı eritem, kaşıntı, ödem ve bazen deskuamasyon gibi fotosensitivite reaksiyonları gelişebilir. Radyasyon verilmiş alanlarda eşzamanlı veya 7 gün içinde verilmiş metotreksat radyasyon toksisitesini artırarak inflamatuvar dermatitis oluşturabilir. Yüksek doz sitarabin ve doksorubisin alan lenfoma ve akut miyeloblastik lözemi (AML) olgularında eritematöz plag ve ödemle birlikte olan el ve ayak (hand & foot) sendromu gelişebilir. Tirozin kinaz inhibitör (imatinib gibi) kullanıcılarında özel bir akneiform raş gelişebilir. Hidroksiüre ve karmustin ilişkili telenjektaziler, busulfan ile eritema nodosum, busulfan/klorambusil ve metotreksat ilişkili eksfoliatif dermetitis ve metotreksat ilişkili furunkolizis görülebilir.

2.4.2. Hematolojik Toksisite

Hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanılan sitotoksik ajanların büyük çoğunluğu kemik iliğini süprese ederek sitopenilere neden olur. Bu kemik iliği rezervi azalmış (ileri yaş, miyelodisplazi, öncesinde kemoterapi kullanımı gibi) olgularda daha şiddetli olarak görülür. En sık ve doz sınırlayıcı miyelotoksisite granülositopeni ve takiben trombositopenidir. Renal toksisiteye yol açan ajanlar (sisplatin ve karboplatin gibi) eritropoetini azaltarak anemiye katkı yapar. Miyelosüpresyonda nadir seviye zamanı kemoterapötik ajanın sınıfı ve dozuyla değişkenlik gösterir. Antrasiklinler ve siklofosfamid için bu süre 6-12 gün olup, karmustin için 3-5 hafta kadar gecikebilir. Hücre siklusuna spesifik ajanlar (metotreksat ve sitarabin gibi) daha erken dönemde (3-5 gün içinde) miyelosüpresyon oluştururlar. Metotreksata bağlı miyelotoksisite 48 saat içinde lökoverin başlanması ile azaltılabilir. Siklofosfamid sonrası amifostin kullanımı miyelosüpresyonu azaltabilir. Tirozinkinaz inhibitörleri (imatinib gibi) STAT (signal transducers and activators), Raf ve diğer reseptör signal iletilicileri ile etkileşim sonucu sitopenilere neden olabilir. Tipik olarak doz ilişkili hafif pansitopeni oluşabilir (bazen erken dönemde bile). DNA'ya hasar veren kemoterapötiklere bağlı miyelodisplastik sendrom ve AML ve diğer sekonder maligniteler geç dönemde görülebilecek ciddi yan etkilerdir (24).

2.4.3. Kardiyotoksisite

Antikanser tedavinin potansiyel bir komplikasyonu kısa ve uzun dönem kardiyovasküler toksisitedir. Kardiyovasküler sistem üzerine etki eden kemoterapötiklerin en önemlileri antrasiklinler, mitoksantron, siklofosfamid, ifosfamid ve paklitaksel olmakla birlikte yeni monoklonal antikorlar (trastuzumab) ve tirozin kinaz inhibitörleri de seyrek olarak çok ciddi kardiyotoksisite gösterebilmektedir. Antrasiklin toksisitesinin akut formu EKG değişiklikleri, ritim bozuklukları ve hemen oluşan ventrikül disfonksiyonudur. Semptom ya da kalp hastalığı öyküsü olan olgularda infüzyon sırasında kardiyak monitörizasyon gereklidir. Sisplatin, bleomisin, siklofosfamid, vinka alkaloidleri, ve etoposid alan hastalar sık olmayarak miyokard iskemisi gelişir. Öncesinde kalp hastalığı ya da risk faktörleri olanlarda akut miyokard infarktüsü sıklıkla gelişir. Normal anjiyografisi olanlarda ve kardiyak risk faktörü olmayanlarda kardiyotoksisite seyrek olur. Kardiyotoksisite ile ilgili bilgilerin artması, tedavi öncesi kardiyak risklerin belirlenebilmesi ve tedavinin modifikasyonu, hastaların monitörize edilmesi ciddi akut ve kronik olayları sınırlayabilmektedir (25,26,27,28).

2.4.4. Akciğer Toksisitesi

Kemoterapi sırasında ve sonrasında gelişen akciğer toksisitesinin etyolojisi ve klinik seyri komplekstir. Kemoterapötiklerin azı hariç (bleomisin gibi) akciğer hasarının patofizyolojisinin detayları bilinmemektedir. Alveolar epitel hücreleri üzerine direkt toksik etki, inflamatuvar immün cevabın indüklenmesi ve endote hücre hasarı ya da kapiller sızıntı sendromuna neden olacak aktivasyon gibi pulmoner toksisite için farklı mekanizmalar ileri sürülmüştür. Kemoterapi ilişkili akciğer hasarı erken (2 ay içinde) yada geç başlangıçlı olarak gelişir. Kronik fibrozis sendromu akciğer hasarının son evresidir. Bleomisin alan hastaların %10 kadarında akciğer fibrozu gelişir (29).

2.4.5. Gastrointestinal Toksisite

Gastrointestinal sistemin (GİS) esas fonksiyonu sıvı ve gıdaların ağız yolu ile vücuda alımı, sindirimi ve emilimidir. Bu nedenle GİS'in fizyolojik, yapısal, biyokimyasal veya farmakolojik fonksiyonlarında meydana gelebilecek değişiklikler hastanın beslenme durumunda ciddi bozukluklara yol açabilir. Kemoterapi ilişkili diarenin oluşumunda birden çok neden söz konusudur. İntestinal mukozada oluşan akut hasar (intestinal epitelyum hücre kaybı, yüzeysel nekroz ve barsak duvarında inflamasyon) ince bağırsağın emilim ve sekresyon dengesini bozar (30). Hematoloji ve onkolojide malignitelerin tedavisinde kullanılan radyoterapi ve/veya kemoterapötiklerin neden olduğu GİS toksisiteleri bulantı, kusma, diare ve konstipasyondur.

2.4.5.1. Bulantı-Kusma

Sistemik kemoterapi alan hastaların yaklaşık % 70-80'inde bulantı ve/veya kusma gelişebilir. Bu durum hastanın beslenme, performans ve yaşam kalitesini etkileyebilir (30). Kusma merkezi beyinde dördüncü ventrikülün area postremasında kemoreseptör tetikleyici bölgesine (KTB) yakındır. GİS, vestibular apparatus veya tat duyusunda değişiklikler ve serebral kortekste yer alan afferent lifleri içeren birçok mekanizma ile sinyaller KTB'sine ulaşarak bulantı ve/veya kusma gelişimine neden olurlar. Bulantı-kusma kemoterapötik ilaçların en erken toksisite bulgusudur. Şiddet ve süresi ile ilişkili olarak dehidratasyon, elektrolit dengesizliği, halsizlik ve kilo kaybına neden olabilir. Eğer yoğun bir parenteral beslenme desteği sağlanmaz ise hastanın genel durumunda ciddi bozukluklar gelişebilir (31).

2.4.5.2. Diare

Diare ve konstipasyon kanser tedavisinin en iyi bilinen yan etkileridir. Ancak bu konuda oldukça az çalışma bulunmaktadır. Diare patogenezinde bir çok mekanizma yer alırken, konstipasyon patogenezindeki mekanizmalar diare kadar açık değildir. Kemoterapilerin neden olduğu diare mekanizmasında yalnızca epitel yüzeyindeki hasar değil, ayrıca bazı kemoterapötiklerin neden olduğu kolinerjik veya osmotik etkide buna yol açabilir (32, 33). Kemoterapi verilen hastaların yaklaşık % 20-40'ında ciddi düzeyde diare görülebilir. Gİ mikroflora ve müsinler kemoterapi ile etkilenirler ve kemoterapötiklerin neden olduğu diare gelişimi ve şiddetinde önemli faktörler olarak tanımlanırlar. Normal bağırsak fonksiyonu için doğal bir bağırsak mikroflorası gereklidir (34). Mikroflora hem aerobik hem de anaerobik bakterilerden oluşan oldukça karmaşık bir ekosistemdir. Yaş, cinsiyet, ırk, diyet içeriğine ve ayrıca Gİ kanalın bölümlerine göre değişebilir. Bilirubin, bağırsaktaki müsinler, pankreas enzimleri, yağ asitleri, safra asitleri, kolesterol ve steroid hormonlarının metabolizması ve korunması gibi önemli fonksiyonları vardır. Ayrıca, besinlerin işlenmesi, anjiyogenezis ve immun fonksiyonda da rol alırlar. İnce ve kalın bağırsakta bulunan kadeh hücreleri müsin sentez ve sekrete eden ekzokrin hücrelerdir. Mide de ise epitelyal hücreler müsin sekrete eder. Müsinler yüksek moleküler ağırlıkta glikoproteinlerdir, epitel yüzeyin korunması ve nemlenmesine ilaveten normal bağırsak florasının idamesini sağlamaktadırlar. Sitotoksik kemoterapötik ajanlar Gİ kanalda fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olurlar. Hastalık durumlarında ve/veya tedaviler nedeni ile doğal flora bozulabilir. Ayrıca beraberinde Gİ kanalın pH'sı da değişebilir. Bu değişiklikler Gİ sistemin emilim kapasitesini etkiler.

2.4.5.3. Konstipasyon

Kanser hastalarında konstipasyon gelişiminde doğrudan kanser ilişkili faktörler veya tedavi ilişkili faktörler neden olurlar (35, 36). Patogenezindeki mekanizma tam bilinmemesine rağmen, genellikle kemoterapötiklerin yan etkileri veya kanserin neden olduğu semptomları kontrol etmede kullanılan ilaçlar, antiemetikler, opioidler, antidepresanlar, alimunyum veya kalsiyum içeren antasidler gibi, konstipasyona neden olur. Malignitenin seyri veya tedavi esnasında gelişen elektrolit bozuklukları, örneğin hiperkalsemi, hiponatremi, hipokalemi ve üremi konstipasyona gelişmesine yol açabilirler (36). Tümör kitlesinin mekanik etkisi ile spinal kanala bası yapması veya Gİ kanalda obstruksiyon ile de konstipasyon gelişebilir. Bu konuda oldukça az sayıda yayın

vardır. Thalidomide, cisplatin, carboplatin, vinca alkaloidleri ve bazı hormonal tedaviler konstipasyona yol açtığı bildirilen ajanlardır (35). Bu komplikasyona hastanın yaşı, yatağı bağımlı olup-olmaması ve diyet içeriği de katkıda bulunur.

2.4.6. Karaciğer Toksisitesi

Kemoterapötik ajanlara bağlı karaciğer reaksiyonlarının çoğu idiosenkrotik ilaç duyarlılığıdır. Ayrıca karaciğerin küçük hepatik venlerinin non-trombotik obliterasyonu ile karakterize veno oklüziv hastalık (VOD) gibi doz bağımlı hepatotoksisite de oluşabilir. Antimetabolit ajanların anlamlı karaciğer toksisitesi bulunmaktadır. Yüksek doz metotreksat alan olguların tümünde transaminazlar reverzibil yükselebilir. İdame olarak kullanılan oral metotreksat karaciğer fibrozu ve siroza yol açabilir. Genetik değişkenlikler, önceden var olan karaciğer hastalığı, karaciğer metastazı, sepsis, immünsüpresyon, kan ürünlerine maruz kalma, karaciğerde metabolize olan ek toksik uygulamalar gibi değişkenler karaciğer toksisitesini etkilemektedir. Karaciğer toksisitesi hepatosellüler nekroz, kolestaz, steatoz, fibrozis, hepatit ve veno-oklüzyon şeklinde ortaya çıkabilir. En yaygın gözlenen toksisite ise genellikle reversibl ve fatal olmayan karaciğer hasarıdır. Hepatit B'li olgular kemoterapi sırasında %47 oranında reaktifte olabilmektedir. Siklofosamid'in karaciğer toksisitesi çok düşüktür. Klorambusil ile karaciğer toksisitesi oldukça çok nadirdir. Melfelan geçici transaminaz yüksekliklerine yol açabilir. Busulfan ile kolestatik hepatit çok nadir bildirilmiştir. Carmustin geçici transaminaz yüksekliklerine yol açabilir. Platinum ajanlarla geçici transaminaz yükseklikleri gözlenirken nadiren şiddetli toksisite gözlenmektedir. 6-merkaptopürin'in kolestatik karaciğer toksisitesine yol açtığı, Azotiopürin ile ise kolestazis, yüksek dozlarda karaciğer fibrozisi bildirilmiştir. Sitarabin ile hafif düzeyde karaciğer fonksiyon bozukluğu, reversibl kolestatik formada klinik tablo ortaya çıkabilmektedir. Metotreksat ile geçici reversibl transaminaz yükseklikleri olabilir. Karaciğer toksisitesi için yaş, obezite, karaciğer fonksiyonlarında azalma, diyabet ve alkol kullanımı risk faktörleri arasında yer almaktadır (37).

2.4.7. Nörotoksisite

Periferik nöropati sistemik kemoterapi alan olgularda kan beyin bariyerinin koruyucu etkisinin olmamasından ötürü sık görülür. Hem motor hem de sensoriyel lifler tutulmuş olabilir. Sensoriyel nöropati genellikle hastanın ekstremitelerinde “çorap ve eldiven” tarzı his kusuru yakınmasına neden olur. Progressiv nöropati ağrı, duyu hissinin azalması ve yanma distezisi ile

birliktedir. Vinkristinle tedavi edilen hastalarda sıklıkla “doz sınırlayıcı” sensori ve motor nöropati oluşturur (özellikle küçük sensoriyel lifler etkilenir). Fakat yaşlı olgularda, radyasyon alanlarda ve büyüme faktörü kullananlarda semptomlar şiddetlidir. Derin tendon refleksi kaybı kümülatif toksisitenin bir bulgusudur. Okülomotor, optik, fasial yada işitme sinirlerini içine alan geçici kraniyel nöropatiler gelişebilir. Çene ağrısı günlerce devam edebilir. Hastaların önemli bir kısmında kolik abdominal ağrılar veya konstipasyon gibi otonom öropati semptomları gelişir. Ayrıca postural hipotansiyon, mesane atonisi ve impotans da gelişebilir. Özellikle yaşlı ve çocuklarda olmak üzere paralitik ileus görülebilir (38).

2.4.8. Göz Toksisitesi

Kemoterapötiklere bağlı gözde oluşan yan etkiler nispeten az olmakla birlikte, kalıcı bozukluklar oluşabilmektedir. Bunlardan en sık olanı steroidlere bağlı geç başlangıçlı kataraktır. Yüksek doz sitarabin tedavinin başlamasını takip eden birkaç gün içinde konjoktivit, bulanık görme, fotofobi ve gözde ağrı oluşturur. Siklofosfamid de standart dozlarda blefarokonjoktivite ve bulanık görme bozukluğuna yol açabilir. Busulfan 1-6 mg/gün dozlarında uzun süre kullanıldığında katarakt oluşturabilir. Nitrouzörelere bağlı küçük retinal damarlarda sızıntı sonucu optik atrofi ve ilerleyici körlük gibi farklı derecelerde retinopati oluşabilir (39,40).

2.4.9. Böbrek Toksisitesi

Böbrekler bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organlardır. İlaçların metabolitleri de böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerül, tubül, damarlar semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşabilmektedir. Çeşitli potansiyel risk faktörleri arasında nefrotoksik potansiyele sahip kemoterapi ilaçları, yaşlılık, ilave ilaç kullanımı (non-steroid anti-inflamatuvar kullanımı), hipertansiyon, diyabet, kalp yetmezliği sayılmaktadır (41).

2.4.10. Vasküler Toksisite

Lenfoma ve miyeloma tedavisinde kullanılan kemoterapötikler ciddi oranda trombotik ve trombo embolik olaylarla neden olmaktadır. Siklofosfamid, doksorubisin ve etoposid kombinasyonunu takiben, sitarabin, bleomisin, vinkristin ve metotreksat trombozu indükleyebilir. Trombüs, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfomalarda %6-13, talidomit alanlarda %13-20 oranında görülür. Ayrıca kombinasyon tedavisi trombotik mikroangiopati sendromuna yol açabilir (42).

2.4.11. Gonadal Toksisite

Testis germinal epitel hücreleri yüksek mitotik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle sitotoksik kemoterapötiklere duyarlıdırlar. Hematolojik malignitelerin tedavisi sırasında gonad fonksiyonları hasta yaşı, kümülatif doz ve kullanılan her bir ajana bağlı olarak değişik şekillerde etkilenir. Kemoterapötikler gonadal hormon kaybına, germ hücrelerinde mutajenik değişikliklere ve fetus üzerine teratojen etkiye yol açabilmektedirler (43). Gonadları en çok süprese eden kemoterapötik ilaçlar alkile ediciler (mekloreteamin gibi, prokarbazin hariç) ve sisplatindir. İlaç kombinasyonları da değişken oranda gonad toksisite gösterirler. Kümülatif doz sperm üretiminin yeniden başlayıp başlamayacağı açısından çok önemlidir. Klorambusil ve siklofosfamid tek başına verildiklerinde uzamış azospermiye neden olurlar. Prokarbazin ve sisplatin yüksek dozlarda steriliteye neden olur. Karboplatin sisplatinden daha az sterilite oluşturur. Erişkinlerle kıyaslandığında prepubertal ve pubertal erkeklerde seminifer tübüller üzerine az toksisite söz konusu olup endokrin fonksiyonlar sadece minimal değişir.

2.5. Toksisite Değerlendirme Kriterleri

Kemoteropötik ilaçların kullanımı sırasında en büyük kaygı toksisiteleridir. Kullanılan ilaçların toksisite durumlarının bilinmesi ve izlenmesi gerekmektedir. Kemoterapi ilaçlarının optimal dozu tedavi edici etkiyi en fazla ortaya çıkarırken aynı zamanda majör toksisite riskini de en aza indiren doz olmalıdır. Her bir toksik etki onun sfesifikliği, ortaya çıkma zamanı, şiddeti ve geriye döndürülebilirliği ölçüsünde çeşitli kriterlere göre tanımlanmaktadır. Bazı toksisiteler yaşamı sınırlayıcı olup diğerlerinden daha fazla dikkate ihtiyaç gösterirler ki hematolojik toksisite toksik ölümlerin çoğunda önemli role sahiptir. *Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0* (CTCAE) kılavuzuna göre toksisiteler:

Derece 1: Hafif,

Derece 2: Orta

Derece 3: Şiddetli

Derece 4: Yaşamı tehdit eden, sınıflandırılıyorlar (Tablo 1).

Sonuç olarak tedavinin yan etkilerinin bilinmesi ve bildirilmesi en az tedavinin etkinliği kadar önem taşımaktadır; ancak konu üzerinde dünyada da henüz bir standart geliştirilmemiş olmakla beraber yaygın olarak kullanılan doğru raporlama ve skorelama çalışmaları ve öneriler vardır. Hasta kontrolleri sırasında aslında hastalığın takibinin yapıldığı, tedavilere bağlı yan etki

sorgulaması, yaşam kalitesi bulgularının geri planda kaldığı bilinmektedir (44). Ülkemizde de kemoterapinin erken ve geç yan etkilerin tanınmasına, skorlanmasına ve raporlanmasına gösterilecek özen ve dikkat oluşturulmalıdır. Yan etkilerle ilgili iyileştirmelerin yolunun tedavisi yapılmış tüm hastaların bir çalışma protokol hastası titizliği ile izlenmesinden geçtiği görülmektedir. Karmaşık ve zaman alıcı özellikleri nedeni ile günlük rutinde kullanımı zor yan etki değerlendirme ve kayıt formlarının sadeleştirilerek kullanımı tartışılmalıdır (45).

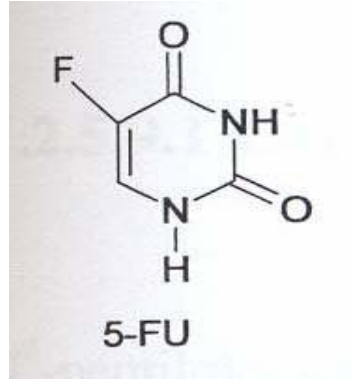
Tablo 1. Kemoterapi toksisite değerlendirme kriterleri

	0.DERECE	1. DERECE	2. DERECE	3. DERECE	4. DERECE
HEMATOLOJİK					
Hemoglobin (g/100 ml)	≥ 11.0	9.5 - 10.9	8.0 - 9.4	6.5 - 7.9	< 6.5
Lökosit1000/cmm	≥ 4.0	3.0 - 3.9	2.0 - 2.9	1.0 - 1.9	< 1.0
Granülosit1000/cmm	≥ 2.0	1.5 - 1.9	1.0 - 1.4	0.5 - 0.9	< 0.5
Trombosit1000/cmm	≥ 100	75 - 99	50 - 74	25 - 49	< 25
Kanama	Yok	Peteşi	Hafif kan kaybı	Aflıkar kan kaybı	Tehlikeli kanama
GASTROİNTESTİNAL					
Bilirubin	≤ 1.25 x N*	1.26 - 2.5 x N	2.6 - 5 x N	5.1 - 10 x N	> 10 x N
Sgot/sgpt	≤ 1.25 x n*	1.26 - 2.5 x n	2.6 - 5 x n	5.1 - 10 x n	> 10 x n
Alkalen fosfataz	≤ 1.25 x N*	1.26 - 2.5 x N	2.6 - 5 x N	5.1 - 10 x N	> 10 x N
Ağız	Yok	Yanma/eritem	Eritem, ülserler Solid gıdaları alabilir	Ülserler, sadece Ivi gıda alabilir	Ağızdan gıda alamaz
Bulantı/kusma	Yok	Geçici bulantı	Kusma	Tedavi gerektiren Kusma	Kontrol edilemeyen kusma
Dişare	Yok	Geçici < 2 gün	Tahammül edilebilir fakat > 2 gün	Tahammül edilebilir tedavi gerektirir	Hemorajik dehidratasyon
BÖBREK, MESANE					
Bun	≤ 1.25 x n	1.26 - 2.5 x n	2.6 - 5 x n	5 - 10 x n	> 10 x n
Kreatinin	≤ 1.25 x N	1.26 - 2.5 x N	2.6 - 5 x N	5 - 10 x N	> 10 x N
Proteinüri	Yok	1+, 0.3 g/100 ml	2-3+, 0.3 - 1.0 g/100 ml	4+, > 1.0 g/100 ml	Nefrotik sendrom
Hematüri	Yok	Mikroskopik	Aflıkar	Aflıkar	Obstrüktif üropati
Akciğer	Yok	Afif belirtiler	Efor dispnesi	Dinlenmede dispne	Tam yatak istirahati gerekir
Ateş - ilaç	Yok	Atefl < 38°C	Ateş 38°C - 40°C	Ateş > 40°C	Hipotansiyon ve ateş
Allerjik	Yok	Ödem	Parenteral,tedavi erektirmeyen bronkospazm	Parenteral,tedavi gerektiren bronkospazm	Anafilaksi
Deri	Yok	Eritem	Kuru deskuamasyon,esikül, kaşıntı	Yaş deskuamasyon, ülserasyon	Ksfoliatif dermatit,cerrahi girişim

2.6. 5- Fluorouracil (5-FU)

Fluoropirimidinlerden 5-Fluorouracil (5-FU), 1957 yılında, Dr.Charles Heidelberg'in sıçan hepatoma hücrelerinin, normal sıçan intestinal mukozasına göre urasili daha etkin kullandığına dair gözlemleri sonucunda sentezlenmiştir. Bu bulgu uracil metabolizmasının kanser kemoterapisi için potansiyel hedef olabileceği fikrini öne sürdü. Fluoropirimidinler, gastrointestinal maliniteler (özofageal, gastrik, pankreatik, kolorektal, anal ve hepatoselüler kanserler), meme, bas- boyun ve ovaryen karsinomalar gibi bir çok solid tümörün tedavisinde kullanılmaktadır (46). 5-FU'nun kimyasal yapısında, pirimidin halkasının C5 pozisyonundaki hidrojen atomu yerine fluorine atomu geçmiştir (şekil 3). 5-fluorouracil, suda çözülebilen, asidik, hidrofilik bir ilaçtır (47).

Beyin tümörlerinin dokular arası tedavisinde kullanılan hidrofilik ve antimetabolik bir ilaç olan 5-fluorouracil kan beyin bariyerini aşmayan etkinliği, uzun süreli kullanımlarda arttırılabilen antikanser etkinliği nedeniyle özellikle tercih edilmektedir (48).



Şekil 3: 5- FU'in kimyasal yapısı

2.6.1. 5-FU'in Etki Mekanizması

5-FU başlangıç formunda aktif değildir ve sitotoksik etkilerini gösterebilmek için hücre içi aktivasyon gerektirir. 5-FU kolaylaştırılmış (facilitated) uracil transport mekanizması ile hücre içine girerken, FUDR nucleoside transport mekanizması için bir substrattır. Bu bileşikler, sitotoksik formlarına birkaç biyokimyasal yol üzerinden anabolize olurlar (49).

Antimetabolik 5-FU, antitümör etkisini RNA sentezi ve fonksiyonunun inhibisyonu, timidilat sentaz aktivitesinin inhibisyonu ve DNA içine yerleşmek ve DNA kol kırıklarına yol açmak şeklinde gösterir (50,51). Deoksinükleotidi olan 5-floro 2 deoksiüridin monofosfata çevrilmesi gerekir. 5-dUMP deoksiüridin monofosfatla (dUMP) timidilat sentaz için yarışır (52) 5-FU'in yaklaşık %85'i karaciğerde dihidropirimidin dehidrojenaz (DPD) tarafından inaktive edilir. Düşük DPD aktivitesi gösteren hastaların 5-FU'i yeterince inaktive edemeyeceği ve 5-dUMP'ye daha fazla maruz kalarak gastrointestinal, hematopoetik ve nörolojik sistem toksisitesine yatkın hale gelecekleri gösterilmiştir (53). Antimetabolit sınıfından fluoropirimidin analogu olan 5-FU, hücreye girdikten sonra birkaç biokimyasal yolu takip ederek çeşitli sitotoksik nükleotid formlarına dönüşür. Hücre içinde timidilat sentaz inhibisyonu sonucu deoksitimidin trifosfatı azaltır, böylece DNA biosentez ve tamirini engellemiş olur. Ayrıca DNA ve RNA ile birleşerek onların fonksiyonlarını inhibe eder (54). 5-FU'nun aktif metabolitleri olan fluorodeoksiüridin monofosfat, timidilat sentaz enzimini inhibe ederken; fluorouridin trifosfat ile fluorodeoksiüridin trifosfat, RNA ve DNA ile birleşerek bunların yapılarını bozup fonksiyonlarını engellerler (55). 5-FU'nun bir diğer önemli fonksiyonu ise programlı hücre ölümünü aktive etmesidir. Tüm bunların sonucunda ise kanser hücrelerinin ölümüne ve var olan tümör kitlesinin küçülmesine veya yok olmasına neden olmaktadır (56). Oral kullanılması halinde barsak mukozasında bulunan dihidropirimidin dehidrojenaz enzimi tarafından hızlıca parçalandığı için intravenöz kullanılması gereken 5-FU'nun intravenöz uygulama sonrası yaklaşık yarı ömrü 8-14 dakikadır.

2.6.2. 5-FU'in Biyotransformasyonu

5-FU İntravenöz alınımından kısa bir süre sonra kemik iliği, gastrointestinal mukoza ve karaciğer başta olmak üzere tüm vücuta hızlıca dağılır. Öncelikle karaciğerde metabolize olur ve solunum sistemi ve böbrekler yoluyla itrah edilir.

5-FU hücrelerde iki ayrı metabolik yolla katılmaktadır.

1. Katabolik yol; ilacın %80 kadarı karaciğerde inaktive edilerek 5-fluoro-5, 6-dihydro-uracil (5-FUH2) metabolitine dönüştürülür.

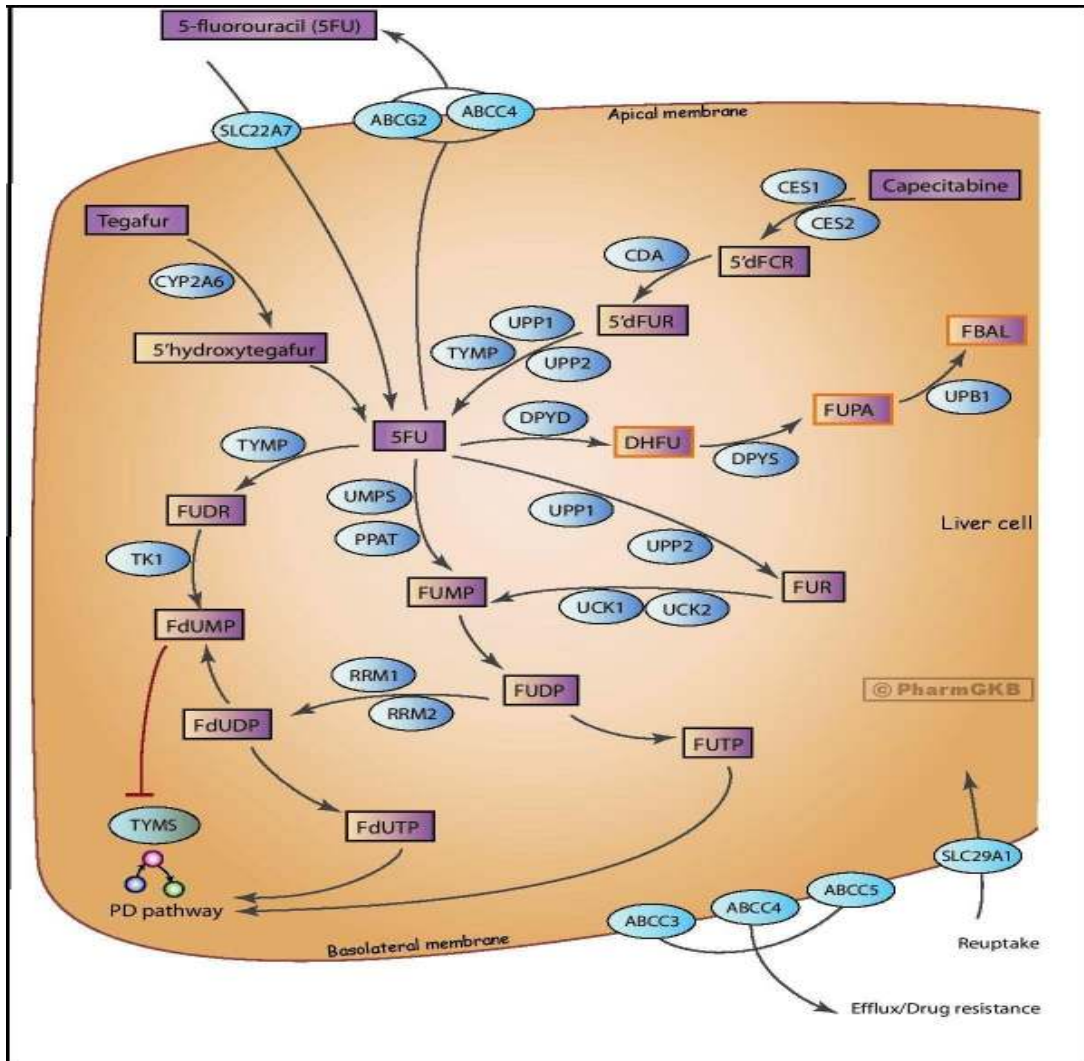
2. Anabolik yol; ilaç, 5-fluorouridine-5-monophosphate (FUMP), 5-fluorouridine (5-FUrd), 5-fluoro-2-deoxyuridine (5-FdUrd) e dönüştürülerek; 5-FU, tümör hücreleri ve diğer hücrelerde sitotoksik etki gösterir (57).

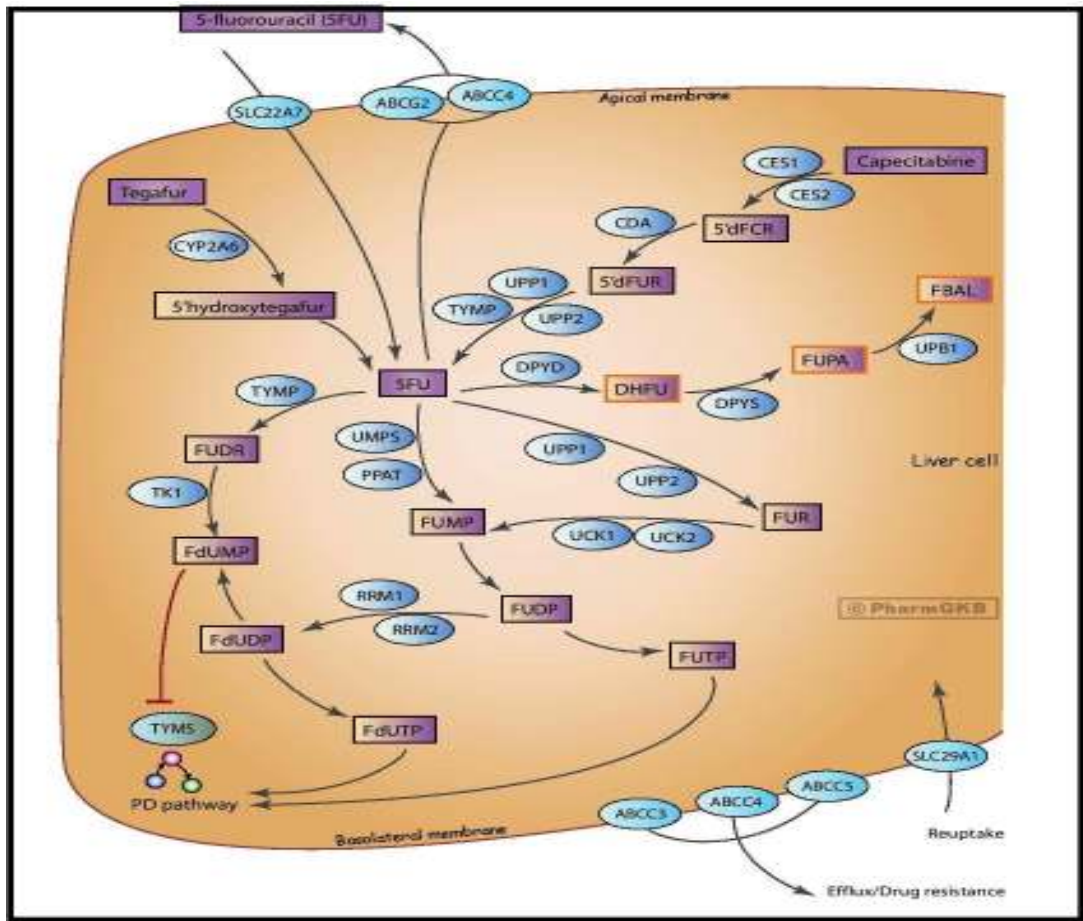
5-FU yaygın olarak kullanılan bir ajandır ve primidin metabolik yolunda metabolize olan bir primidindir. Uygulanan 5-FU nun %10'undan azı renal atılıma giderken %80'inden fazlası katabolik degradasyona uğrar. Plazma 5-FU'nun plazma yarı ömrü belirgin uygulama şekline bağlıdır, hastalar arasında ve hastaların kendinde büyük değişiklikler gösterir, ayrıca lineer olmayan (nonlinear) eliminasyon kinetiklerine sahiptir (58). Bununla birlikte 5-FU'nun plazma klirensi hızla ilerler. 5-FU katabolizmasının hız sınırlayıcı ilk basamağı DPD ile katalizlenir. DPD enzim aktivitesindeki eksiklik 5-FU'nun plazma klirensinde gecikme ile orantılıdır. 5-FU antineoplastik etkisi yoktur, yani ön ilaçtır (59).

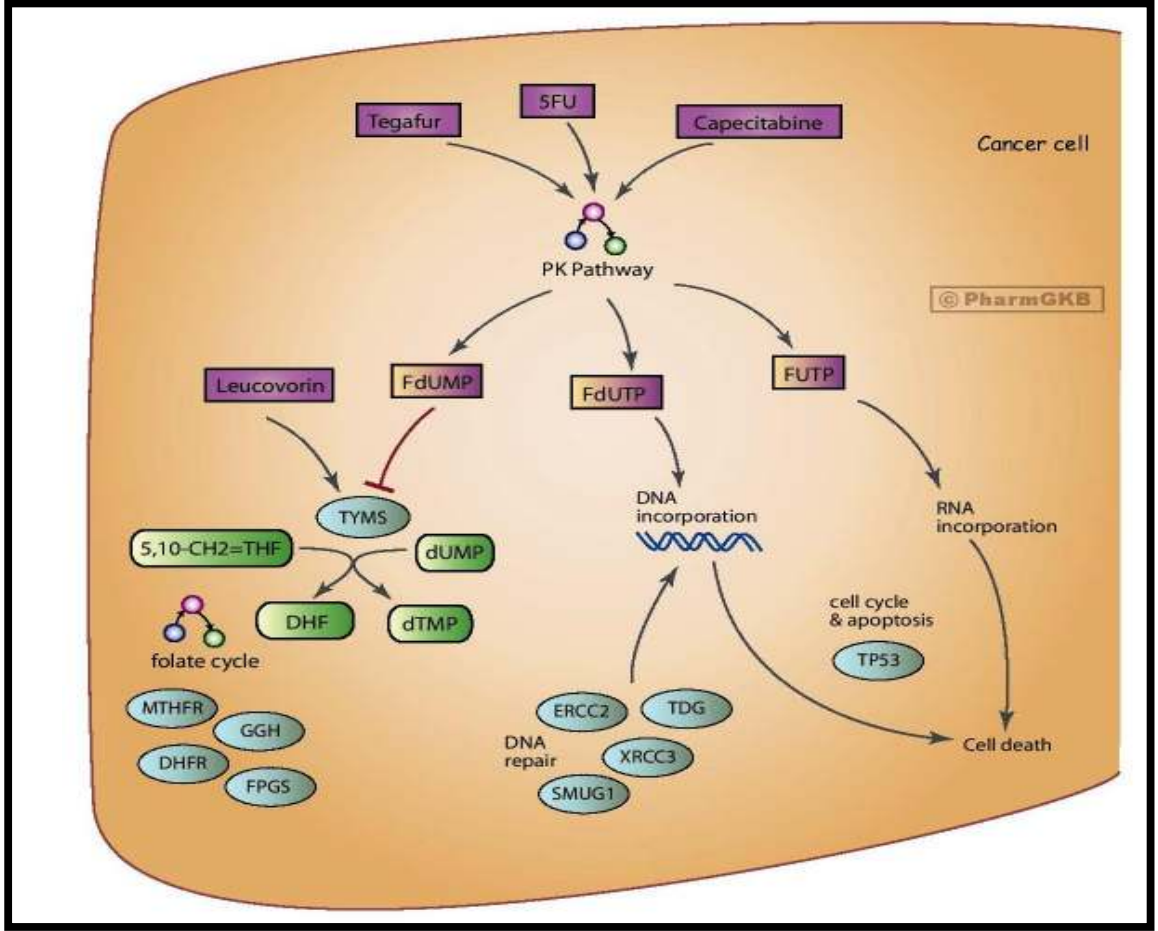
2.6.3. 5-FU'in Biyotransformasyonunda Görevli Enzimler

2.6.3.1. Folat Metabolizmasına Katılan Enzimler

Floroprimidinlerin metabolizması için önemli enzimde metiltetrahidrofolatredüktazdır. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir. 5,10-MTHFR, folat metabolizmasında merkezi bir rol oynar. Folatın birincil forma sirkülasyonunda tersinmez olarak 5-10-metilentetrahidrofolatı (MTHF), 5-MTHF'a çevirir (60). 5-MTHF de nova metiyonin sentezi için metil grup sağlar ve indirekt olarak DNA metilasyonuna katılır. DNA sentezi için deoksiüridilatın timidilata dönüşmesinde 5,10-MTHF gereklidir (61, 62). 5,10-Metilentetrahidrofolat (CH₂FH₄) timidilat sentaz azalmış folat kofaktör ve deoksiüridilik asit timidilik asit sentezi için gerekli monokarbonlu birimi getiriyor. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) CH₂FH₄ u , 5-methyltetrahydrofolata dönüştürür ve bu nedenle CH₂FH₄ kullanılabilirliğini azaltır (63). Azalmış folat kofaktörünün yüksek bir konsantrasyonu fluorourasil optimal sitotoksik aktivitesi için gerekli olduğundan (64) .kofaktör azalması durumda fluorourasil verimliliğine zararlı olacaktır (65). Buna karşılık, azalan enzim aktivitesi sergilenen varyantlarda, fluorourasil yokluğunda daha yüksek bir timidilik asit oluşumu beklenir (66).







Şekil 6: 5-FU metabolik yolağındaki TS enzimi (67)

2.6.3.4. 5-FU Kullanımında Klinikte Saptanan İlaç Toksisiteleri

Diyare, mukozit, el-ayak sendromu, nörolojik bulgular görülebilmektedir. Özellikle daha önceden KVH'ı olan hastalarda anjina ve myokardiyal iskemi bildirilmiştir (70). 5-FU, Mayo Clinic rejimi şeklinde verildiğinde (dört haftada bir beş gün) öncelikle kemik iliği supresyonu, ardından diare ve mukozite neden olurken, Roswell Park rejimi şeklinde (haftalık) verildiğinde nötropeni, devamlı infüzyon şeklinde verildiğinde ise öncelikle diare ve el-ayak sendromuna neden olmaktadır. Antiemetiklerle kolaylıkla kontrol altına alınan bulantı ve kusmalar, alopesi, tırnaklarda ve ciltte değişiklikler, somnolans, serebellar ataksi, üst motor nöron bulgularını içeren

nörolojik bulgular yine 5-FU'nun neden olduğu yan etkilerdir. Vazospazmin neden olduğu göğüs ağrısı, kardiyak enzim yüksekliği ve EKG değişikliklerini içeren myokardiyal iskemi bulguları ise görülebilecek kardiyak etkilenmeleri oluşturmaktadır (71). Burada özellikle 5-FU'nun KVS üzerinde oluşturduğu yan etkileri irdeleyerek bu yolla 5-FU'nun öncül maddesi olan kapesitabinin oluşturacağı kardiyak kötü etkilenmeleri anlamayı kolaylaştıracağını düşünmekteyiz. 5-FU'nun primer etkileri hızlı bölünen dokularda; gastrointestinal mukoza ve kemik iliğinde görülmektedir. 5-FU'ya bağlı toksisiteler, doz, şema ve uygulama yoluna bağlı olarak değişir. Gastrointestinal sistemdeki epitelyal ülserasyon, mukozit ve/veya diyare olarak kendini gösterir. 5-FU tedavisine bağlı diyare sulu ya da kanlı olabilir. Birlikte bulantı, kusma ve diyarenin bol miktarda olması sonucu dehidratasyon ve ortostati hipotansiyon oluşabilir. Bağırsak yüzeyinin bütünlüğünün bozulması sonucu enterik organizmaların kan dolaşımına geçmesi sepsis olusmasına neden olabilir. Devam eden mukozit veya diyare varlığında, hafif bile olsa, 5-FU kesilmeli, hasta tamamen iyileştiğinde de, takip eden dozlar daha düşük verilmelidir. Eğer tekrar diyare olursa, destek tedavi ve güçlü sıvı tedavisi verilmelidir. Difenoksilat ve loperamide gibi antidiyareal ajanlar, hafif ve orta şiddetli diyarenin kontrolünde etkili olabilir, ancak daha ciddi diyarelerde genelde etkisizdirler. Bu durumda, somatostatin analogu olan octreotide etkili olabilir. Bolus 5-FU tedavisinden 30 dakika önce başlayarak, buz çipleriyle oral kryoterapi uygulanması, mukozitin şiddetini azaltmaktadır. Bulantı ve kusma oluşabilir ama çoğunlukla antiemetiklerle kontrol edilebilir. Miyelosupresyon, trombositopeni daha sık olarak da granülositopeni şeklinde görülebilir. 5 günlük tedavi şeması uygulamalarında, miyelosupresyon tedavinin 2. veya 3. haftalarında görülürken, haftalık bolus 5-FU uygulamalarında ise miyelosupresyon genellikle 4. haftadan sonra görülür. 5-FU tedavisinin dermatolojik toksisiteleri olarak, alopesi, tırnak değişiklikleri ve kasıntılı eritematöz döküntüden veziküle kadar değişen formlarda olmak üzere dermatit görülmektedir. 5-FU radyasyonun kutanöz toksisitesini arttırmakta ve reaksiyonlar çoğunlukla radyasyonun ilk 7 gününde görülmektedir. Fotosensitivite reaksiyonları, 5-FU uygulanan venler üzerinde artmış pigmentasyon, genel hiperpigmentasyon ve atrofi görülebilir. El-ayak sendromu, uzun süren 5-FU infüzyonu alan hastalarda daha sık görülse de, bolus 5-FU alan hastalarda da görülebilir. Oküler toksisite, blefarit, epifora, gözyaşı kanalı stenozu ve akut ve kronik konjunktivit olarak karşımıza çıkmaktadır. Uyku hali, serebellar ataxi ve üst motor belirtileri gibi akut nörolojik semptomlar da rapor edilmiş. FUDR'nin intrahepatik

uygulanması, kolestatik sarılığa ve biliyer skleroza yol açmaktadır. Bu yan etkiler safra kesesi ve safra kanalının yüksek dozda ilaca maruz kalması sonucu oluşur. Bu komplikasyon 5-FU'nun hepatik arterial infüzyonu sırasında daha az sıklıkta görülür. İnfüzyon karışımına deksametazon eklenmesi, hepatotoksisite insidansını %30'dan % 9'a kadar düşürmektedir ve ayrıca bu kombinasyon karaciğer yetmezliği olan hastalarda klinik aktiviteyi iyileştirir. Biliyer skleroz tipik olarak tedavinin 3. siklusunda meydana gelir. Katetere bağlı komplikasyonlar arasında, kateterize damarın trombozu, kateter giriş yerinde kanama, enfeksiyon ve kateterin gastroduodenal artere kayması sonucu görülen intestinal epitelyumun nekrozu, kanama ve perforasyon sayılabilir. 5-FU kardiyak toksitesi göğüs ağrısı, kardiyak enzimlerin yükselmesi, miyokardial iskemiyle uyumlu elektrokardiografik değişiklikler görülebilir. Bazı hastalarda koroner anjiyografide hiçbir anomalinin bulunmaması, olası mekanizmanın vazospazm olabileceğini göstermektedir. Kardiyotoksite tipik olarak angina benzeri göğüs ağrısı, bazende hipotansiyon, kardiyak aritmi, ve sol ventrikül disfonksiyonu şeklinde görülebilir. Angina en sık olarak infüzyon sırasında ve bazen de 5-FU uygulamasından 3–18 saat sonrasında görülmektedir. Semptomatik olan hastalarda letalite oranı % 12 – % 29 olup ani ölüm ve kardiyojenik şok şeklindedir. Daha önceden olan iskemik kalp hastalığı veya miyokart enfarktüsü varlığı, sürekli infüzyon ve yüksek doz 5-FU uygulaması kardiyotoksik yan etkiler olarak ek risk faktörleridir (72).

2.7. İlaç Toksisitesindeki Farmakogenetik Belirteçlerin Rolü

İlaç toksisite reaksiyonları (İTR) bütün dünyada morbidite ve mortalite'nin önemli bir sebebi olmaya devam etmektedirler ve İTR' ları ile ilgili biyobelirteçler kapsamlı şekilde incelenmektedir. Kişiye uygulanan sağıaltımlarda gözlenen farklı sonuçlar, hasta ölümüne sebep olan ilaç yan etkileri ve artan sağılık harcamalarının, bireysel farklılıklarla şekillenen terapötiklere verilen yanıtlarla ilişkili olduğunu göstermektedir. İlaç toksisitesini açıklığa kavuşturan nedenler aşağıdakiler ile ilgili olabilir:

1. Tespit edilmiş toksisitelerde, ilacın yan etkisini bertaraf etmek veya en az miktara indirmenin etkisiz yolları.
2. Toksisiteleri belirlemek için kullanılan tarama programları ile uyum sağılama ve programın klinik çalışmanın veya hastane ortamının dışında yürürlüğe geçirilmesi zorluklar.

3. Tarama programının kendisinin ve erken toksisite gelişimi taraması yalancı pozitif olan kişilerde teşhis çalışmasının engelleyici ekonomik veya morbidite bağlantılı maliyeti.

Bir tarama testinin ve bağlantılı programın olmaması durumunda tespit edilmeden kalabilecek ve bazı vakalarda gerileyebilecek erken gelişen toksisitenin çok sık teşhis edilmesi. İlaç toksisiteleri ve ilaçların etkili olmaması tedavi süresinde karşılaşılan önemli sorunlardan biridir (73). İTR'ların büyük çoğunluğu için, büyük ölçüde, çok çeşitli genlerin çevresel değişimlerle birlikte yer aldığı, klinik değişkenliklerle (klinik genotip) ortaya çıkan, sıradan rahatsızlıklar diye düşünebiliriz. Farmakogenomik; bireylerin ilaca vereceği tepkiyi, genler tarafından nasıl etkilendiğini araştırır. Gelecekte, farmakogenomik, İTR'larının azalmasına yardımcı olacaktır. Hangi hastanın hangi ilaca cevap vermeye eğilimi olduğunu ve hangi hastanın İTR'ların eğilimi olduğunu öngörmeyi hedeflemesi bunun bir kanıtıdır. İTR'larına bağlantılı olarak, ilaç kinetiğinin, toksisitesinin ve hiperduyarlılığının genetik polimorfizmden etkilendiği bilinmektedir. Klinik uygulamada ve ilaç geliştirmede temel problem ilaca tepkinin kişiden kişiye değişmesidir (74). Bu değişkenlik, bireylerde ya da hasta gruplarında ilacın ters etkilerine ya da terapötik başarısızlığa yol açabilir. İlacın etkin olması ve toksisitesini tetikleyen potansiyel risk faktörleri arasında ilaç-ilaç etkileşimi, hastanın yaşı, böbrek, karaciğer fonksiyonları ya da diğer hastalıkların yanı sıra yaşam biçimi, içki, sigara tüketimi gibi değişkenlerde vardır. Bunlar doktorlar için açıkça belli olan kanıtlanabilir faktörlerdir. Bunların yanı sıra son yıllarda, genetik faktörlerin de ilaca verilecek tepkileri önemli ölçüde değiştirebileceği ve riskini artıracakları açıkça ortaya çıkmıştır (75). Birçok ilacın etkili olmasını belirleyen, çeşitli gen ürünlerinin aralarındaki karşılıklı etkileşim/oyundur. Gen ürünleri ilaç tedavisinin farmakodinamiğini ve farmakokinetiğini etkiler. İlaç hedeflerinin (alıcıların) kalıtsal farklılığı ve ilacın davranış eğilimi (örneğin; metabolize eden enzimler, taşıyıcılar) da karşılıklı oyuna dahildir (76).

2.7.1. 5-FU ve Kapesitabin Toksisitesini Belirleyen Farmakogenetik Belirteçler

5-FU metabolizmasının birçok gen ile ilişkili olmasından dolayı karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. 5-FU sağaltımı için öngörülen temel belirteçleri dihidropirimidin dehidrogenaz (DPYD) geninden eksprese olan dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) enzimi, 5-FU toksisitesinin artmasıyla ilişkilendirilmektedir. DPYD geninde görülen bir nokta mutasyonu (GgA) sonucunda

sentezlenen hatalı bir mesajcı ribonükleik asit (mRNA), hatalı bir proteinin kodlanmasına neden olmaktadır. Mutant DPD proteinin hızlıca yıkılması sonucu oluşan düşük enzim aktivitesi, aktif 5-FU' nun zehirsizleştirilip inaktif dihidro-5-FU'a dönüşmemesine ve ölümcül hematolojik, gastrointestinal veya nörolojik toksisitelerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hastayı bu şekilde istenmeyen durumlardan korumak amacıyla Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) 5-FU içeren sağıltım planlanmasından önce DYPD farmakogenetik testinin yapılmasını önermektedir (77,78,79).

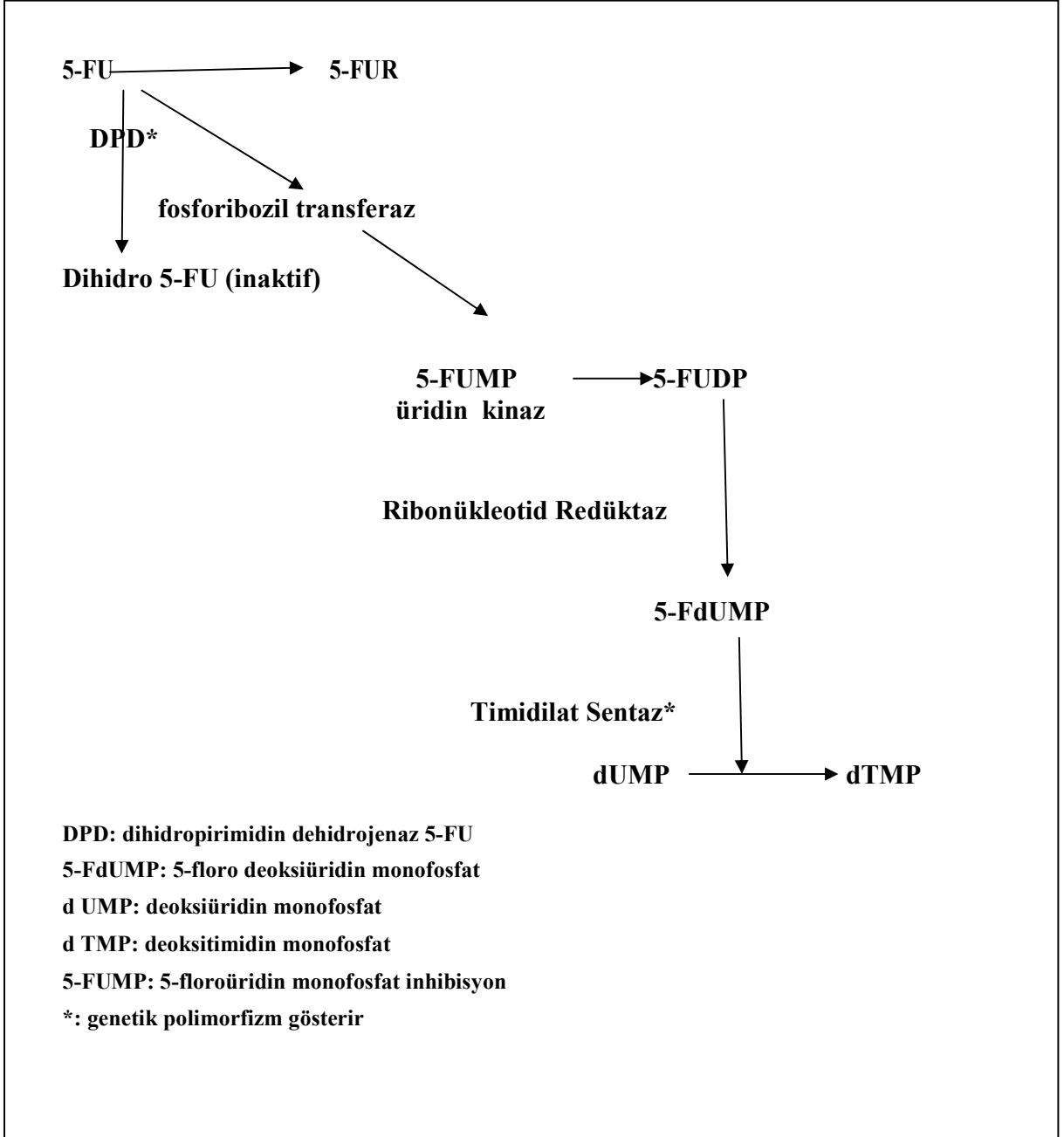
Urasil ve timin içeren kapesitabin, pirimidin katabolizmasında rol oynayan DPD eksikliği sonucunda oluşan yoğun toksisite belirtileri ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle DPD eksikliğinin tespit edilebilmesi açısından DYPD geni mutasyonlarının incelenmesi FDA tarafından önerilmektedir. Ayrıca kapesitabin metabolizması açısından önemi olan diğeri bir enzim ise sitidin deaminaz'dır (CDA). Bu enzim, kapesitabin'in 5-FU'a dönüşüm işlevinde yer almaktadır. CDA, genetik polimorfizmlerin oluşması sonucunda, yapısında değişiklikler meydana gelebilen bozuk ve aşırı aktif bir profile sahip olabilir. Aşırı aktiviteye sahip profil, artan 5-FU toksisitesi ile ilişkilendirilmektedir (80).

Pirimidin metabolizmasında yer alan timidin fosforilaz (TP) ve timidilat sentaz (TS) enzimlerinin ekspresyonları da floropirimidin tabanlı ilaçların kullanılmasında önemlidir. Timidilat sentaz, deoksiüridin monofosfatın (dUMP) metillenerek deoksitimidin monofosfata (dTMP) dönüşümünü katalizler. 5-FU metabolizmasında yer alan bu basmakta, enzimin ekspresyon düzeyleri tümörün 5-FU hassasiyeti ile ilişkilendirilmektedir (81).

Timidin fosforilaz, 5-FU metabolizmasında oluşan ilk enzimdir. Bu nedenle, enzimin ekspresyon düzeyi kanser hücrelerinin, anti-pirimidin ajanına karşı hassasiyetiyle ilişkilendirilmektedir. Nükleotid ve floropirimidin metabolizmasındaki rollerinden dolayı ekspresyon ve aktivite düzeyleri açısından TP, TS, DPD önemli biyobelirteçlerdir (Tablo 2) (82).

Tablo 2. 5-FU’ın toksisite beliteçleri ve roleri (9)

İLAÇ	BİYOBELİRTEÇ	ROLÜ	SONUÇLA İLİŞKİSİ
5-Florourasil	DPD	5-FU metabolizmasındaki hız sınırlandırıcı basamağı katalizler.	DPD enzimindeki ölümcül defekt toksisitelere sebep olabilir.
Kapesitabin (5-FU oral analogu)	TS	5-FU metabolizmasında dUMP’nin metillenerek dTMP’e dönüşümünü katalizler.	Enzimin ekspresyon düzeyleri tümörün 5-FU hassasiyeti ile ilişkilendirilmektedir
	TP	5-FU metabolizmasındaki ilk enzimdir	Enzimin ekspresyon düzeyi kanser hücrelerinin, ilaca hassasiyetiyle ilişkilendirilmektedir.
	MTHFR	Folat metabolizmasında önemli bir enzimdir	Etkinliği ve toksisite üzerine olan etkisi literatürde belirsizdir



Şekil 7: 5-FU'in metabolik yolağı

3. Gereç ve Yöntem

3.1 Araştırmanın Tipi

Bu çalışma tanımlayıcı bir araştırmadır.

3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Gündüz Tedavi Merkezinde, 2011-2013 tarihleri arasında yapıldı.

3.3 Araştırmanın Evreni , Örneklemi ve Çalışma Grupları

Çalışmaya 21-80 yaş grubunda, 5-FU içeren kemoterapi sağaltımı alan hastalar alındı. Hastalarda 5-FU'ya bağlı toksisite değerlendirmesinden sonra aydınlatılmış onamları alındı. Çalışmada rutin için alınan hemogram kanları kullanıldı. Hemogram kanları rutin hemogram testi sonuçları alındıktan sonra çalışma için kullanıldı. Çalışmada kanserli grup dahil olmak üzere olguların rutin tanı ve tedavi süreçlerine müdahalede bulunulmadı. Çalışmaya 85 kanser teşhisi konulmuş olup 5-FU sağaltımı alan ve derece 1-4 toksisite görülen hasta grubu alındı.

3.4 Çalışma Materyali

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında kanser teşhisi alan ve Dokuz Eylül Üniversitesi Gündüz Tedavi Merkezinde 5-FU içeren kemoterapi rejimi alan hastalardan toksisite değerlendirmeleri yapıldıktan sonra çalışmaya dahil edilenlerin rutin hemogram kanlarından 5ml alındı. Seçilen olguların hemogram tüpleri Temel Onkoloji Anabilim Dalında steril 1,5ml hacimli mikrosantrifüj tüplerine alındı, örnekler -80 °C buz dolabında saklandı.

3.5 Araştırmanın Değişkenleri

Klinik ve Temel Onkoloji değerlendirme kapsamına alınan veriler; olguların yaşı, cinsiyeti, evresi, histopatolojik tipi, patolojik tanı tarihi, evresi, kemoterapi rejimleri, kemoterapi başlama tarihi, tedaviye verilen yanıt, toksisite, toksisite derece, progresyon gelişip gelişmeme durumu, progresyon görülmüşse tarihi, hastanın son izlem durumu ve tarihi, ölüm var ise ölüm tarihidir ve tüm bu veriler çalışmanın bağımsız değişkenleridir. Olgu kanlarından genetik analiz ile elde edilen moleküler bilgiler: *MTHFR*, *DPYD*, *TS* genlerinin genel mutasyon durumu, *MTHFR* genine ait 677C>T polimorfizimindeki mutasyon durumu ve çeşidi, *DPYD* genine ait 2846A>T, IVS 14+1G>A,1590T>C, 85T>C polimorfizimlerindeki mutasyon durumu ve çeşidi, *TS* genine ait

1494 ins/del TTAAAG polimofizimindeki mutasyon durumu ve çeşidi. Tüm bu verilerde çalışmanın bağımlı değişkenlerini oluşturmaktadır.

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Olgu Rapor Formu

Olgu grubundan rutin kan toplama sırasında, olguların kişisel bilgileri (ad, soyad, doğum tarihi, cinsiyet, TC kimlik no, doğum yeri, son 3 yıldır ikamet ettiği yer adresi ve iletişim bilgileri) olgu rapor formları ile toplandı.

3.6.2. Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Hasta Dosyaları

Hastanın ağırlığı (kg/gr), hastanın boyu (m/cm), tanı (ICD 10 kodu), evresi, patolojik tanı tarihi, tedavi protokolü, tedavi başlangıç tarihi, tedavi bitiş tarihi gibi bilgiler hastaların Tıbbi Onkoloji Bilim Dalındaki dosyaları taranarak elde edildi. Çalışma grubundaki sağaltım alan olguların ilaç yanıt değerlendirilmesi *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* (RECIST) 'e göre yapıldı (77).

Bu yanıt değerlendirmesine göre tam yanıt, kısmi yanıt, stabil hastalık sağaltıma yanıt veren grup içinde; progresif hastalık ise sağaltıma yanıt vermeyen grup içinde kabul edildi. İlaç toksisite değerlendirmesi ise 'Common Toxicity Criteria' parametrelerine göre yapıldı.

3.6.3. Kullanılan Cihazlar, Sarf Malzemeleri

Çalışmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler

Cihaz ve Sarf Malzemeler	Marka
Mikrofüj	Hettich, Eppendorf, Thermo Electron Corporation
Kuru ısı bloğu	Eppendorf Thermomixer Compact
Soğutucular	vestel +4, vestel -20, Sanyo -80
Spektrofotometre	Beckman Coulter (Nanodrop)
Vorteks	Bioblock scientific Heidolph Top mix94323
Otomatik Pipet seti	Eppendorf,Socorex
Termal cycler	Techne-TC-3000
MassARRAY İPLEX Gold®	Sequenom, San Diego, CA, USA
MassARRAY® Analyser 4	Sequenom, San Diego, CA, USA
DNA izolasyon kiti	Invitek Spin Blood Mini kit

3.6.4. Sequenom MassARRAY İPLEX Gold® Teknolojisi ile SNP Genotipleniminin

Üstünlükleri

MassARRAY® teknolojisi (İPLEX®) tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) genotiplenmesi için son derece yüksek verime sahip bir sistemdir. Nükleik asit değişikliklerini saptamak için hedef bölgeler başlangıçta MassARRAY® TYPER 4.0 genotipleme yazılımı kullanılarak özel olarak tasarlanmış primer çiftleri ile çoğaltılır ve sonrasında modifiye edilmiş nükleotidler kullanılarak tek baz uzama reaksiyonuna tabi tutulur. Bu aşama sonrasında elde edilen ürünlerin matriks çipe aktarılması ve MassARRAY® kütle spektrometresi (Sequenom, San Diego, CA, USA) ile iyonizasyon sonrası eş zamanlı deteksiyonu gerçekleştirilir. Bu işlem Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight kütle spektrometresi (MALDI-TOF) yöntemi ile gerçekleştirilmektedir. Kısaca, lazer enerjisi matriks tarafından absorblanır, bunun sonucunda minimal hasar ve fragmentasyonla substratın kısmi buharlaşması meydana gelir. İyonize örnekler elektrostatik hızla mass-to-charge oranının saptanması için sistem içerisinde bulunan sayısallaştırıcıya aktarılır, elektriksel yükleri ile hareket eden nükleotidlerin kütlelerine göre bilgi düzenlemesi sayısallaştırıcıya gelen bilginin sanal ortamda veri şekline dönüştürülmesi aşamaları sistem içerisinde gerçekleştirilir. Bu platformun geleneksel deteksiyon sistemlerine göre bazı avantajları mevcuttur. Ürün kütlesi, yüksek analitik doğruluk (%0.1 - 0.01) ile belirlenir. İndirekt analizde kullanılan radyoaktif veya flouresan işaretleyicilere ihtiyaç duymaz. Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) sayesinde tek reaksiyonda yüksek verim kapasitesine sahiptir. Tek kuyuda maksimum 36 farklı SNP'yi kuyu başına 20 ng'dan az DNA miktarı ile çalışabilme kapasitesine sahip oluşu ve MassARRAY® TYPER 4.0 genotipleme yazılımı sayesinde hızlı analiz imkanı yüksek verim elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Nükleik asitlerin hızlı analizi için MALDI-TOF kütle spektrometrisi, farklı ağırlıklardaki DNA kütlelerinin analizine dayanarak genotipleri ayırt etmeye yarayan bir sistem olarak geliştirilmiştir. Yavaşlatılmış ekstraksiyon teknolojisi; kütle analizöründe iyonların iyonizasyon ve ekstraksiyon arasında oluşan zaman farkını tanıyarak, rezolüsyon ve hassasiyeti artırmaktadır. Bu esnada çip üzerinde var olan matriks (3-hidroksipikolinik asit) arka plan kirliliğini azaltarak kütle belirleme hassasiyetini artırır. Bu teknik oligonükleotid sekans varyasyonlarının çoklu polimorfizmlerinin tek reaksiyonda çalışılmasına olanak sağlamaktadır. Kullanmış olduğu yeni nesil teknoloji ve

sağlamış olduğu bu avantajlardan dolayı MALDI-TOF kütle spektrometresi yüksek verimli genotipleme çalışmalarında binlerce örnekte, binlerce markerın hızlı ve etkin biçimde analiz edilmesine olanak sağlayan yöntem olduğu kabul edilmektedir. SNP genotipleme çalışması esnasında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için kullanılacak periferik kandan elde edilecek DNA örneklerinin belirli yüksek kalite standartlarında olmaları gerekmektedir. İlgili genetik varyasyon bölgesini çoğaltmada genomik DNA (gDNA) kalıp olarak kullanılır. MassARRAY® sisteminde kullanılacak olan ampikon uzunlukları ortalama 70-150 baz çiftidir. Çalışma sonrasında elde edilecek veri, hiçbir analiz yapılmasına gerek duyulmadan software üzerinden rapor formatında genotipler elde edilir. Bu özellikler çalışmamızın kolaylıkla değerlendirilmesinde avantaj sağlamakla birlikte, genotiplendirme yapan diğer teknolojilere göre üstünlük sağlamaktadır.

3.7. Genetik Analiz

Seçilen antitümör ajanların metabolik süreçlerinde yer alan enzimleri kodlayan genler, polimorfizmler açısından Sequenom MassARRAY Analyzer 4 ile tarandı.

3.7.1. Çalışma Dilüsyonu

Kantitasyon sonrasında DNA'nın büyük bir kısmı 50ng/µl stok konsantrasyonunda dilüe edildi. Bu stok konsantrasyon dilüe edilerek genotipleme çalışmalarında kullanıldı. Genotipleme çalışmasında her bir reaksiyon için minimum 10-20ng DNA gereklidir.

3.7.2. Genotipleme Testi için Gereken PZR Primer ve Uzama Probu Dizaynı

3.7.2.1. SNP Veya Mutasyon Bölgesi Seçimi

İlgili genler üzerinde bulunan tanımlanmış SNP'lerin referans sekans numaraları (rs) ve özellikleri açık veri tabanlarından NCBI Entrez dbSNP BUILD 136 database (83), ENSEMBL Genome Browser (84), Wellcome Trust Sanger Institute Cosmic database (85) taranarak çalışma kapsamına alındı.

3.7.2.2. Amplifikasyon Primerleri Dizayn Edilmesi

PZR mutipleks amplifikasyon primerleri Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak dizayn edildi. Amplifikasyon primer çiftleri ortamda yer alan template dizileri ile

hibridize olarak reaksiyonu başlatmaktadır. Assay Designer yazılımına (86) adresinden de ulaşılabilir.

3.7.2.3. Uzama Problarının Dizayn Edilmesi

Tek baz uzama problemleri Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak dizayn edilmektedir. Problemler amplifikasyon aşamasında modifiye edilen PZR ürününe spesifik hibridizasyon gerçekleştirilerek ortamda var olan her bir allelin belirlenmesi için tek baz spesifik uzama gerçekleştirir. Assay Designer yazılımına (87) adresinden de ulaşılabilir.

Tablo 4. Tek assay için iPLEX Gold® ürünleri arasındaki kütle farklılıkları

Terminatör	A	C	G	T
A	0	-24	16	55.9
C	24	0	40	79.9
G	-16	40	0	39.9
T	-55.9	-79.9	-39.9	0

3.7.2.4. Multipleks iPLEX Gold reaksiyonunda dikkat edilmesi gerekenler

En iyi sonuçlar için uzama primerleri ve ürünlerinin kütlelerinin en azından 30 Dalton farklı olması gerekmektedir (aynı deneyin allelleri hariç). Tercih edilen analit kütleleri 4500-9000 Dalton arasında olmalıdır.

3.7.5. Sequenom MassARRAY® Protokolü

3.7.5.1.1. DNA'nın Genotipleme İçin Çoğaltılması

Nükleik asit değişimlerinin belirlenebilmesi ve bu amaç için MassArray® sisteminin kullanılabilmesi için önce genomik DNA'daki hedef bölge, dizayn sonucu elde edilen primer çiftleri kullanılarak multipleks PZR ile çoğaltıldı. Uygulanan çalışma koşulları aşağıdaki gibidir. Protokol: her kuyu için aynı multipleks assay, kuyularda farklı DNA PZR karışımı aşağıdaki gibi hazırlanır.

3.7.5.2. Thermocycler Pzr Reaksiyonları

94°C 2dk

94°C 30sn
56°C 30 sn 45 şiklus

72°C 1dk 72°C 1dk (4°C bekleme)

Her bir kuyuya 4µl PZR kokteyli konuldu (Tablo 4). 1 µl uygun genomik DNA (10-20 µg/ml) her ilgili kuyuya konuldu. Nazikçe karıştırıldı ve 1000rpm hızında santrifüj edildi.

Tablo 5. Sequenom PZR reaktif seti kullanılarak PZR kokteyl hazırlanması

Reaktif	5µL Reaksiyondaki Final Konstrasyonu	5µl 'deki reaktif hacmi [µl]
dH ₂ O, HPLC saflığında	N/A	2.8
10 x PCR Buffer (20mM MgCl ₂)	2mM MgCl ₂	0.5
25mM MgCl ₂	2mM	0.4
25mM dNTP Miks	500µM	0.1
0.5uM Primer Miks	0.1µM	1.0
5U/µl PCR Enzim	1 Unit	0.2
20ng/uL DNA	20ng/rxn	Çalışma tüpüne aktarılıp, suyu kurutulmuş halde olmalı
Total hacim [µL]	n/a	5.0

3.7.5.3. dNTP Nötralizasyonu (SAP Reaksiyonu)

Amplifikasyon ürünlerindeki bağlanmamış dNTPleri shrimp alkaline fosfatase (SAP) ile nötralize etmektir. SAP, serbest dNTP'den bir fosfat keserek geri dönüşümsüz olarak dNDP'ye çevirir. Bağlanmamış, serbest bulunan dNTPleri defosforile etmek için aşağıdaki basamaklar uygulandı.

3.7.5.4. SAP Reaksiyon Kokteyli aşağıdaki gibi hazırlanır

Tablo 6. SAP kokteylinin hazırlanması

Reaktif	7µL reaksiyon hacmi içindeki final hacim (PZR + SAP)	2µL of SAP kokteyl içerisindeki reaktif miktarı [µL]
Nanopure su, Otoklavlı	n/a	1.53
SAP Buffer	0.24x	0.17
SAP Enzyme(1.7U/ul)	0.5U	0.30
Total hacim [uL]	n/a	2

2µl shrimp alkaline fosfatase enzimi (SAP) her örnek kuyusuna yüklendi. Örnek plateleri nazikçe karıştırılır ve 1000 rpm hızında santrifüf edilir. 37°C 40dk, 85°C 5 dk, 4°C sonsuz inkübasyonları yapılır.

Tablo 7. Her kuyu için aynı multiplex assay ve kuyulara farklı DNA

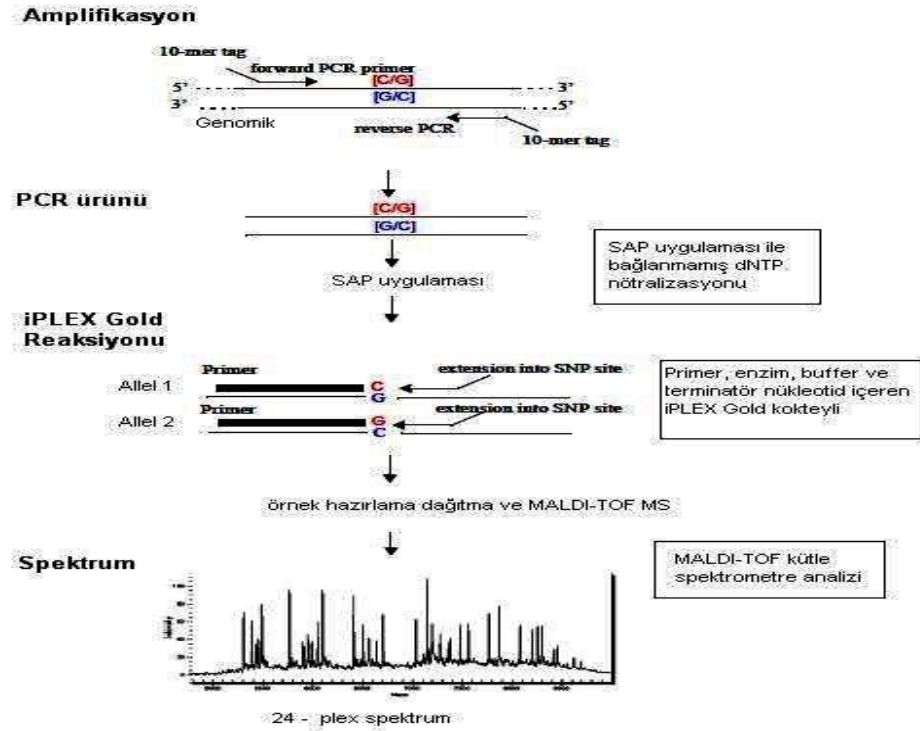
Reaktifler	9µL reaksiyon hacmindeki final konsantrasyon	2µL kokteyl içerisindeki reagent hacmi [µL]
Nanopure su	N/A	0.619
iPLEX GOLD Buffer	0.222X	0.200
iPLEX Terminasyon miksi	1X	0.200
iPLEX Extend Primer Miksi	0.84/1.04/1.57	0.940
iPLEX Enzim	1X	0.041
Hacim [µl]	n/a	2.000
SAP+PCR reaksiyonu	n/a	7.000
Total Volume [µl]	n/a	9.000

3.7.5.6. IPLEX Gold® Reaksiyonu Hazırlama (Tek baz spesifik uzama reaksiyonu)

Ürünler daha sonra İPLEX uzama reaksiyonuna tabi edildi, dizayn edilen probler hedef bölge ile hibridizasyonu ve tek kütle-modifiye nükleotid uzaması gerçekleşir. İPLEX Gold Reaksiyon Kokteyli aşağıdaki gibi hazırlanır.

3.7.5.7. İPLEX Gold Reaksiyon Kokteylinin Thermocyclerda İşlem Görmesi

94°C		30sn
94°C		5sn
52°C 5sn	5siklus	40 siklus
80°C		5sn
72°C		3dk
4 °C bekleme		



Şekil 8: Hedef bölge amplifikasyonu, SAP inkübasyonu, tek baz spesifik uzama ve spektrum görüntüsü

3.7.5.8. Resin ile temizleme

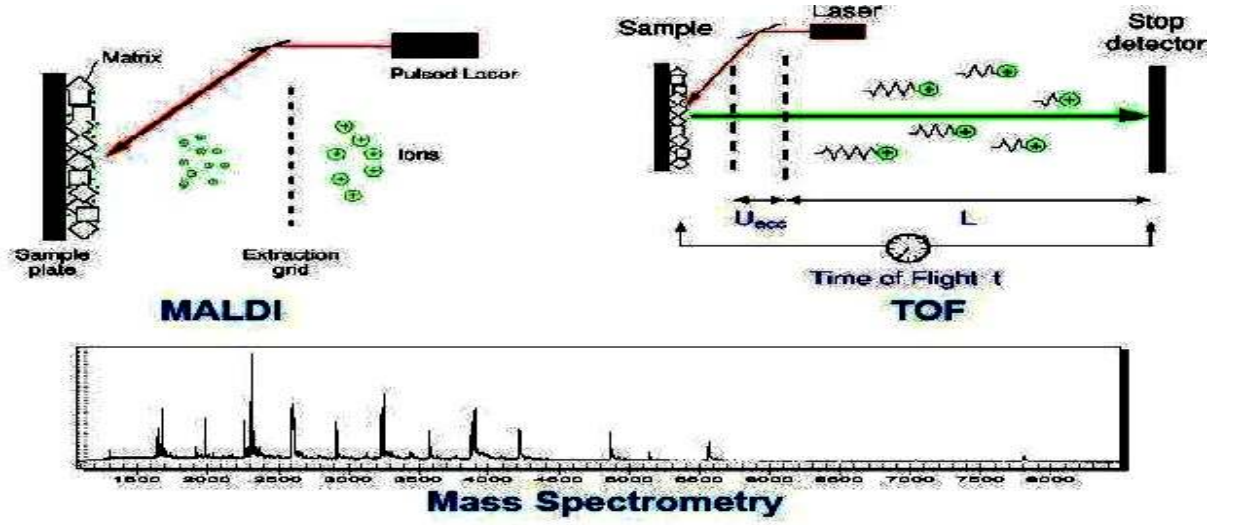
Kütle spektrometrik analiz optimizasyonu için iPLEX reaksiyon ürünleri Na^+ , K^+ ve Mg^+ gibi iyonları uzaklaştırarak arka plan kirliliğini minimuma indirmek için katyonik değişim sağlayan resin ile minimum 30dk muamele edildi. Örnekler 25ul ddH₂O ve 6mg resin kullanılarak dilüe edildi. Bu aşamanın hazırlanması için 6 mg çukur plate kullanıldı. Muamele sonrası PZR ürünleri 4000 rpm hızında santrifüj edildi ve fazla resin kuyu dibine gönderildi.

3.7.5.9. SpectroCHIP® Dağılımı

Hedef bölgenin amplifikasyonu, SAP uygulaması ile bağlanmamış serbest bulunan dNTP'leri defosforile etme, tek baz spesifik uzama reaksiyonu ve ortamdaki tuzların uzaklaştırılması için resin uygulanması aşamalarını takiben elde edilen modifiye ürünü, nano litre (nl) hacminde ortalama 15nl PZR ürünü 384-element SpectroCHIP® II üzerine dağıtmak için nanodispenser (Sequenom) kullanıldı.

3.8. MALDI-TOF MS İle Veri Analizi

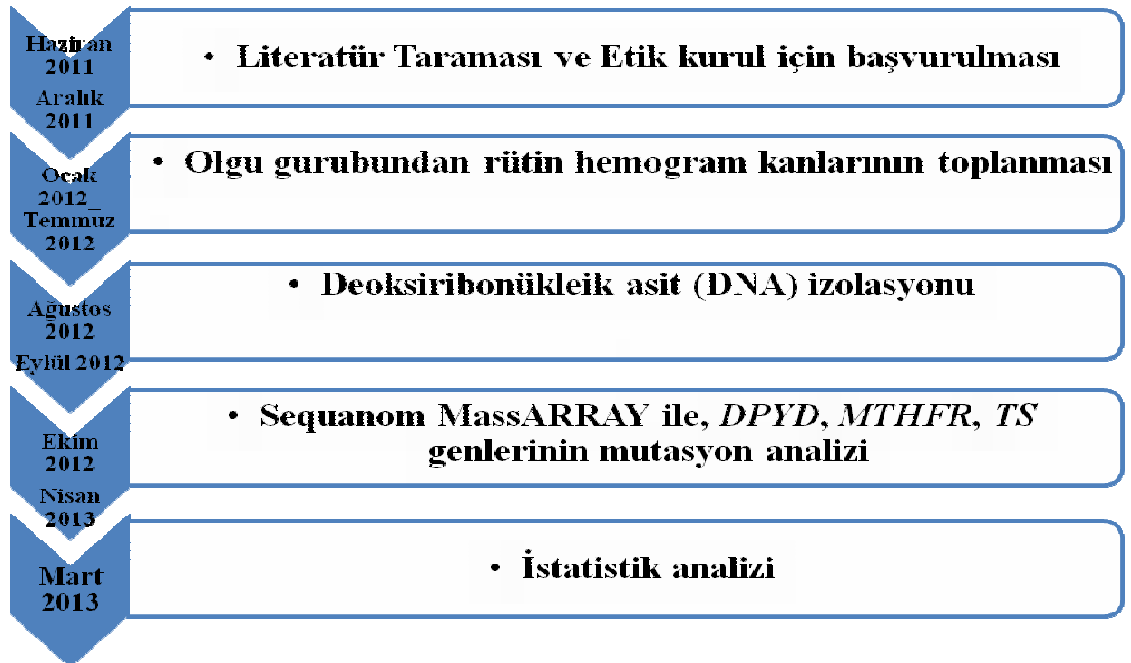
Nanodispenser ile üzerine PZR ürünü dağıtılan 384-element SpectroCHIP® II analizi için MassARRAY® Analyser 4 cihazına yüklendi. Cihaza yükleme aşamasından sonra sonuç alımı maksimum 40 dk sürmektedir. Lazer atımı sonrası elde edilen verilerin analizi, spektro görüntüsünün ve allel spesifik piklerin elde edilmesi için (iPLEX SpectroCHIP® II analizi) MassARRAY® TYPER 4.0 genotipleme yazılımı kullanılmaktadır. Deney dizayn aşamasında elde edilen dizayn bilgileri, spektra da doğru analitin beklenen pozisyonunun hesaplanması için sistem tarafından kullanıldı. Genotipleme çalışmalarında sonuç MassARRAY® TYPER 4.0 yazılımı sayesinde çalışma bitiminden hemen sonra başka bir analiz yapılmasına gerek duyulmadan, rapor formatında genotipler elde edilir.



Şekil9: MALDI-TOF reaksiyon şeması ve spektro görüntüsü

3.9. Araştırma Planı ve Takvimi

Araştırmanın hazırlık aşamasından tamamlanana kadar yapılan çalışmalar şekil 12’de ayrıntılandırılmıştır.



Şekil 10.Çalışma planı

3.10. Verilerin Değerlendirilmesi

Genetik sonuçlarını değerlendirip ve analiz etmek için MassARRAY[®] Analyser 4 kullanıldı. Örneklerin işlenmesinden sonra elde edilen genotip bilgileri ile hastaların Tıbbi Onkoloji AD'ında tedaviye yanıtları açısından tam yanıt, kısmi yanıt, stabil hastalık, progresif hastalık olarak sınıflandırılan gruplar (RECIST parametrelerine göre) arasındaki dağılımı karşılaştırıldı. İstatistiksel çözümler, Kaplan Meier yaşam analizi, Mann Whitney U testi ile yapıldı. İstatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi.

3.11. Araştırmanın Sınırlılıkları

Yalnızca Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesine gelen hastalardan örnek toplanabildi. Bütçenin az olması nedeninden Türkiye genelinden hasta örneği toplanamadı ve tek bir ilacın metabolik yolağındaki enzimlerin polimorfizmleri taranabildi.

3.12. Etik Kurul Onayı

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu 16.02.2012 tarih ve 479-GOA protokol nolu ve 2012/05-28 karar numaralı “Anti Kanser İlaçları Metabolize Eden Enzimlerin Polimorfik Özellikler”i isimli proje ile etik onayı alınmıştır (Ek 1). Bu proje Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 2013.KB.SAG.036 proje numarası ile desteklenmiştir.

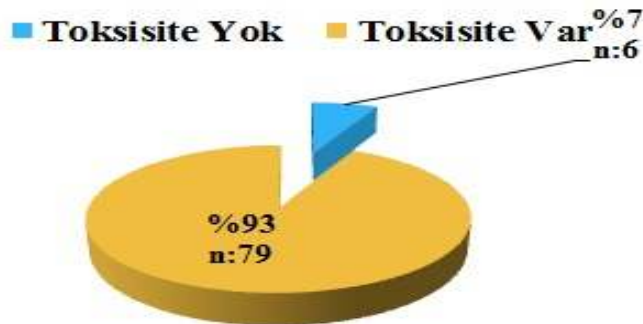
4. Bulgular

4.2. Demografik Veriler

2006-2010 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Kanser tanısı almış, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında izlenen ve Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Gündüz Tedavi Merkezinde 2011-2013 tarihleri arasında kemoterapi sağaltımı alan hastalar alındı. Çalışmaya 85 olgu alındı. Tüm olgulardan genotip analizine uygun miktar ve kalitede DNA elde edildi. Çalışma grubunun %67.1 (n: 57)'i erkek, %32.9 (n:28)'u kadındı. Olguların yaş ortalaması ($\pm$ SD), 58.88 ($\pm$ 11.30), minimum-maksimum değerleri ise 20-81'di. Boy ve kilo açısından, olguların boy ortalaması ($\pm$ SD), 168($\pm$ 9.07), minimum-maksimum değerleri 148-192'dir. Kilo ortalaması ($\pm$ SD), 46 ($\pm$ 12.72), minimum-maksimum değerleri 71.41-100'dür. Primer tümör yerleşimine göre sınıflama yapıldığında, olguların %62.4 (n: 53)'ü kolorektal, %32.9 (n: 28)'ü gastrointestinal, %4.7 (n: 4)'si de diğer bölge yerleşimliyd. Histopatolojik tipe göre, olguların %83.5 (n: 71)'i adenokarsinom ve %14 (n: 16.5)'ü diğer tiplerdendi. Kanser evresine göre olguların, %9.4 (n:8)'ü evre II, %30.6 (n:26)'sı evre III ve %60 (n:51)'i evre IV'di (Tablo8).

4.2.1. Olgu Gurubundaki Toksisite Değerlendirmesi ve Derecelendirilmesi

Olgu gurubundaki 5-FU ilacına bağlı toksisite değerlendirilmesi, Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE) kılavuzuna göre değerlendirildi. Olguların altısında (%7,06) toksisite saptanmadı. Olguların yetmişdokuzunda (%92,94) toksisite saptandı (Şekil 12).

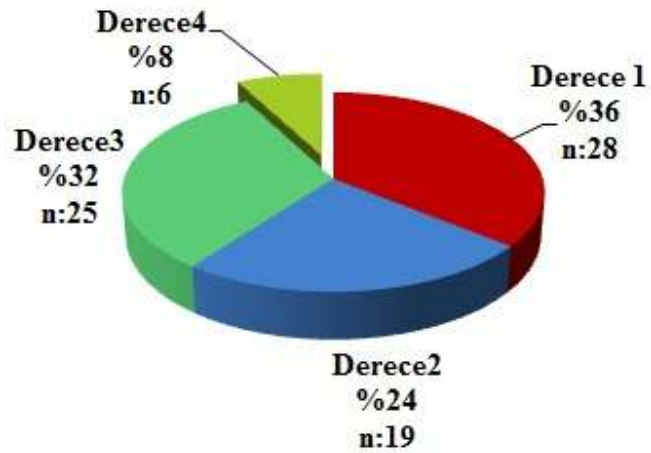


Şekil 11. Olgu gurubundaki toksisite durumu

Tablo 8. Olguların demografik bilgileri

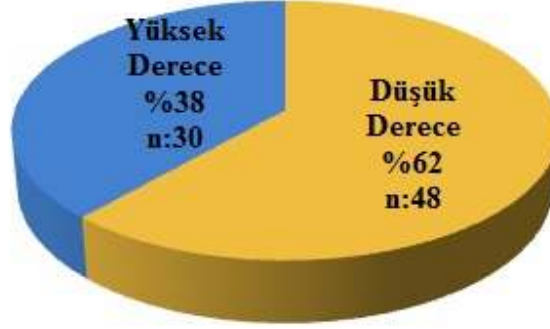
HastaSayıdı 85 (100)			n(%)
Cinsiyet n (%)	Erkek Kadın		57 (67.1) 28 (32.9)
Yaş (min-mak) Ortalama Kilo (min-mak) Ortalama Boy (min-mak) Ortalama		(20-81) 58.88 (46-100) 71.41 (148-192) 168.00	
Tümör yeri n (%)	Kolorektal Gastrointestinal Diğer		53 (62.4) 28 (32.9) 4 (4.7)
Histopatolojik Tip n (%)	Adenokarsinoma Diğer		71 (83.5) 14 (16.5)
Evre n (%)	I II III IV		0 (%0) 8 (9.4) 26 (30.6) 51 (60)

Toksisitesi olan 79 olgunun, 28'inde, derece 1 (%36.44), 20'sinde, derece 2 (%26.32), 25'inde derece 3 (%31.65) ve 6' sında, derece 4 (%7.59) toksisite saptandı (Şekil 13).



Şekil 12. Toksisite olan olgulardaki, toksisite derece dağılımı

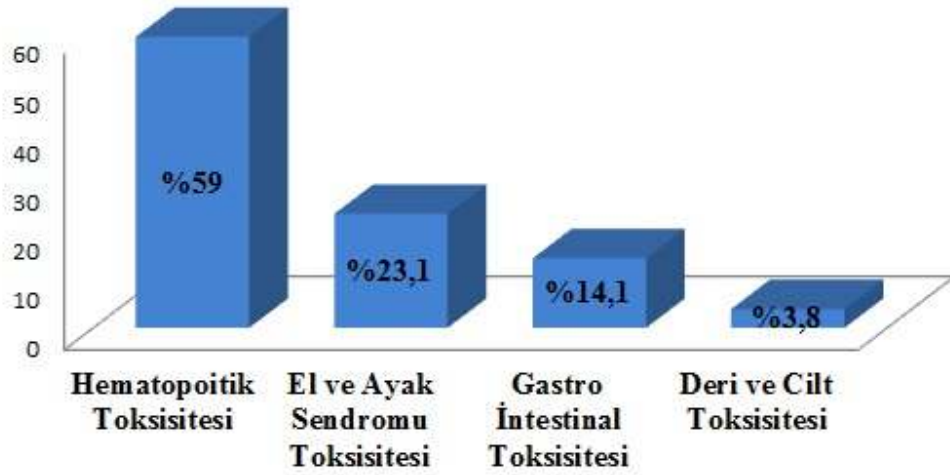
Toksisitesi saptanan 79 olgunun, 49’unda (%62.0) düşük derece toksisite (derece 1 ve derece 2), 30’unda (%38) yüksek derece toksisite (derece 3 ve derece 4) saptandı (Şekil 14).



Şekil 13. Toksisite olan olgulardaki, düşük derece, yüksek derece dağılımı

4.2.2. Olgularda Saptanan Toksisiteler

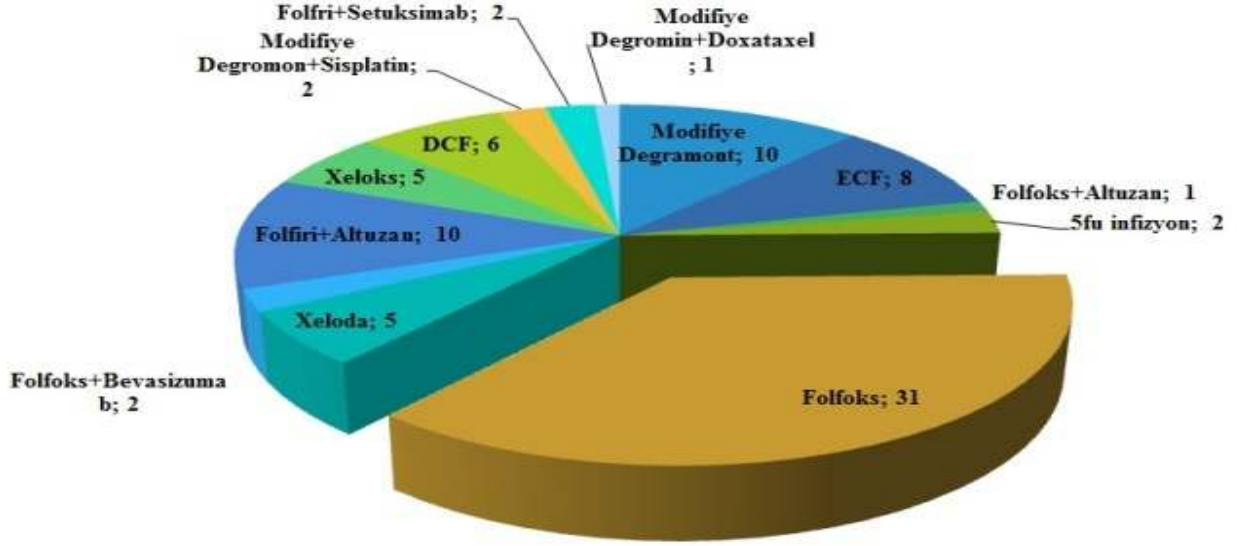
Toksisite saptanan 79 olgunun, 47’sinde (%59), hematopoeitik toksisite, 18’inde (%23.1), el ve ayak sendromu, 11’inde (%14.1) gastrointestinal toksiste ve 3’ünde (%3.8) deri toksisitesi saptandı (Şekil 15).



Şekil 14. Olgularda saptanan toksisiteler

4.2.3.Olgularda Kullanılan Kemoterapi Rejimleri

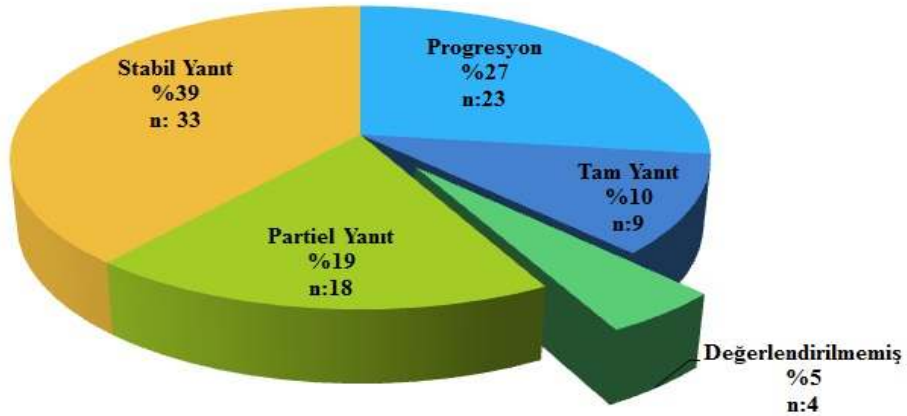
Olgu gurubunda kullanılan 5-FU rejimlerinin dağılımı aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.Olgu gurubunda kullanılan rejimler, intravenöz ve oral olarak uygulandılar (Şekil 16).



Şekil 15. Olgu gurubundaki kullanılan kemoterapi rejimlerinin dağılımı

4.2.4. Olgularda Kullanılan Kemoterapi Rejimlerinin Yanıtları

Olgu gurubunun hepsi kemoterapi sağaltımı aldı. Bu gruptaki kişilerin kemoterapi sağaltımına yanıtları sıralanacak olursa%38,82'si (n:33) stabil yanıt, %27,06'sı (n:23) progresyon, %18,82'si (n:16) parsiyel yanıt, %10,59'u (n:9) tam yanıt gözlemlendi. Olguların %4,71'inin (n:4) kemoterapi tedavisi çalışma sonlandığında hala devam etmekteydi (Şekil 17).



Şekil 16. Olgu Gurubunun kemoterapi rejimlerine verdikleri yanıtlar

4.3 Mutasyon Analizi Verileri

Seksenbeş olgu genotip analizi çalışmasına alındı. Tüm olgulardan DNA izole edildi. İzole edilen DNA'nın konsantrasyonun ortalaması ($\pm$ SD), 74.49 ng/ μ l ($\pm$ 66,47), minimum ve maksimum değerleri ise 11.30-478.10'dur. Tüm olgulardaki λ 1/ λ 2 oranının ortalaması ($\pm$ SD) 1.84 ($\pm$ 0.09), minimum ve maksimum değerleri (1.62 - 2.10'dır. Tüm olgulardaki λ 1/ λ 3 oranının ortalaması ($\pm$ SD) 1.16 ($\pm$ 0,49), minimum maksimum değerleri ise (0.13 - 2.17'dir (Tablo 9).

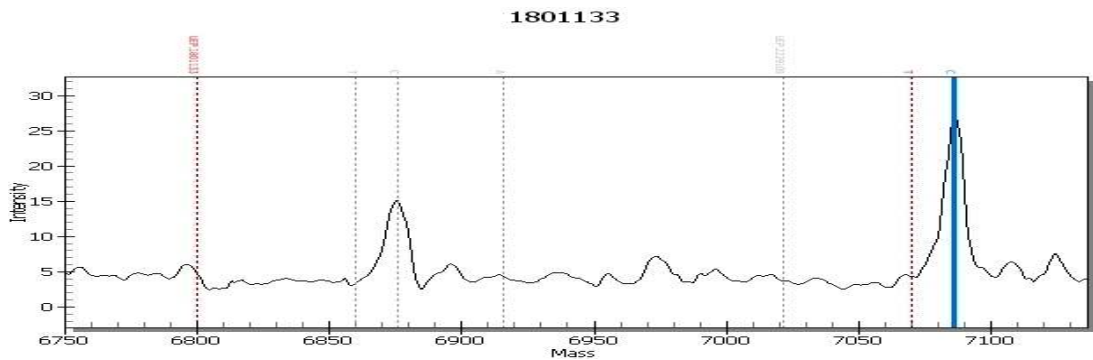
4.3.1. *MTHFR* Genine Ait C677T Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı

Seksen olgunun %47.1 (n:40)'i wild tip, %43.5 (n:37)'i heterozigot ve %9.4 (n:8)'ü homozigot mutant olarak saptandı.

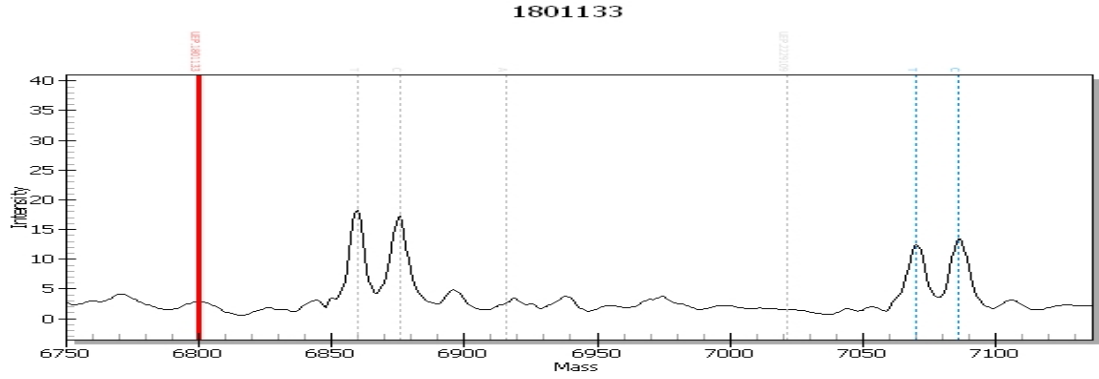
Tablo 9. MC677T genotiplerinin olgu gurubu arasındaki dağılımı

MC677T	Sayı (n)	Yüzde (%)
Wild tip (CC)	40	47.1
Heterozigot (CT)	37	43.5
Homozigot (mutant) (TT)	8	9.4
Toplam	85	100

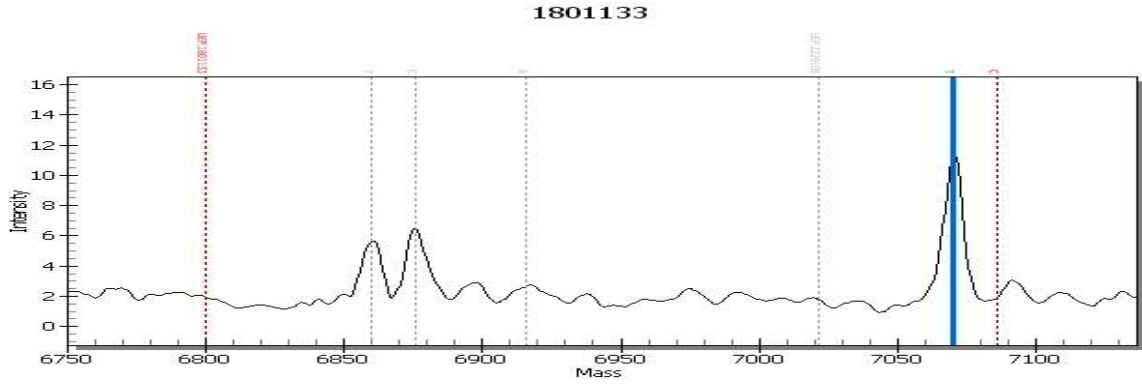
4.3.1.1 *MTHFR* Genine Ait C677T Genotiplerinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumları



Şekil 17. *MTHFR*, C677T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi (M677CC)



Şekil 18: *MTHFR*, C677T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan heterozigot genotipi (M677CT)



Şekil 19. *MTHFR*, C677T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan homozigot mutant genotipi (M677CC)

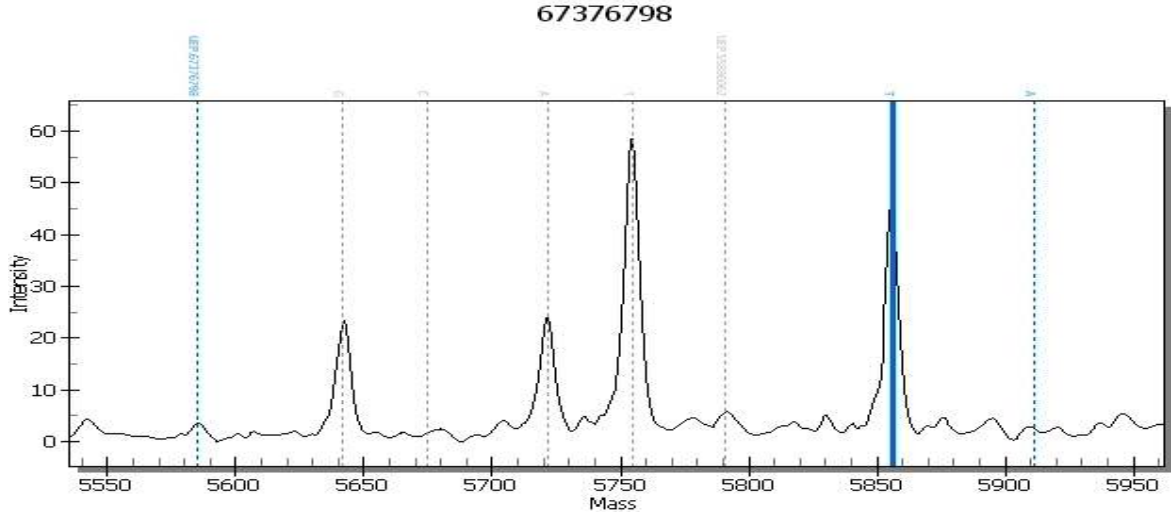
4.3.2.DPYD Genine Ait A 2846 T Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı

Olgu gurubunun hepsi bu genotip için wild tip olarak saptandı.

Tablo 10. DA2846T genotiplerinin olgu gurubundanki dağılımı

DA2846T	Sayı (n)	Yüzde(%)
Wild tip(AA)	85	100
Heterozigot (AT)	0	0
Homozigot (TT)	0	0

4.3.2.1 *DPYD* Genine Ait A2846T Genotiplerinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumu



Şekil 20. *DPYD*, A 2846 T genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi (D2846AA)

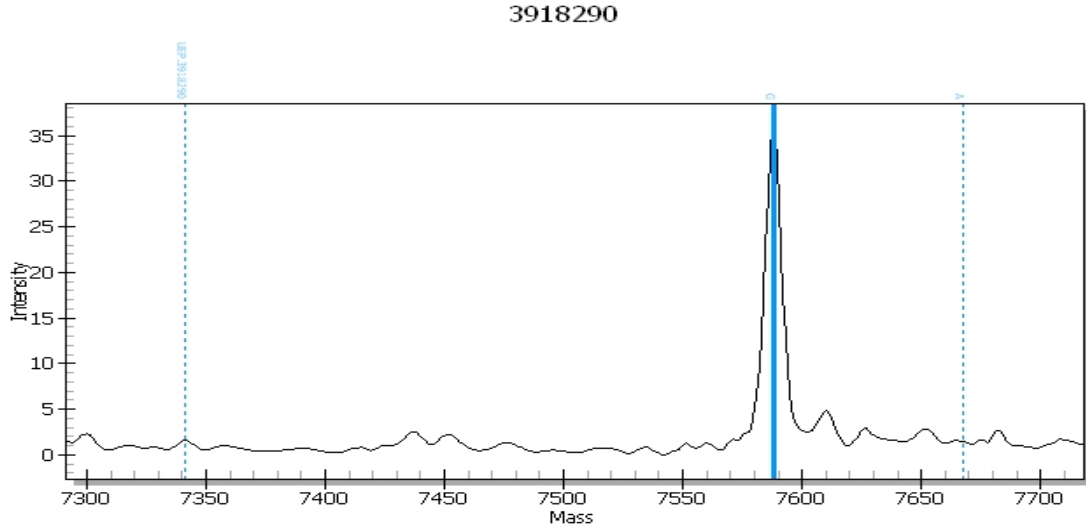
4.3.3. *DPYD* Genine Ait *DPYD**2A (IVS14+1 G→A) Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı

Olguların % 98.8 (n:84)'i wild tip, %1.2 (n:1)'i heterozigot olarak saptandı.

Tablo11. *DPYD**2A (IVS14+1 G→A) genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı

<i>DPYD</i> *2A (IVS14+1 G→A)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Wild tip	84	98,8
Heterozigot	1	1.2
Toplam	85	100

4.3.3.1. *DPYD* Genine Ait *DPYD2A (IVS14+1 G→A) Wild Tip Genotipinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumu**



Şekil 21. *DPYD**2A (IVS14+1 G→A) genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi

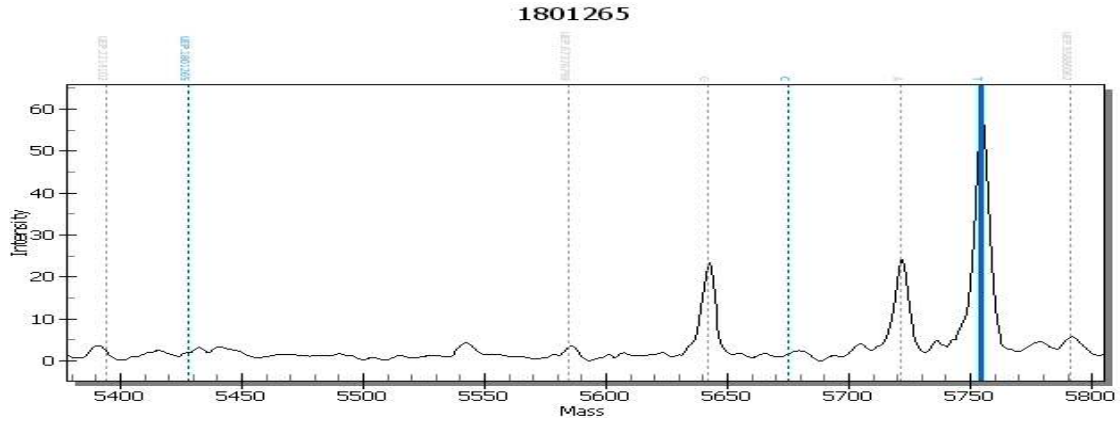
4.3.4. *DPYD* Genine Ait *DPYD9A (T85C) Genotiplerinin Olgu Grubundaki Dağılımı**

Tüm olguların %63.5 (n:54)'i wild tip, %29.4 (n:25)'ü heterozigot ve %7.1 (n:6)'i homozigot mutant olarak saptandı.

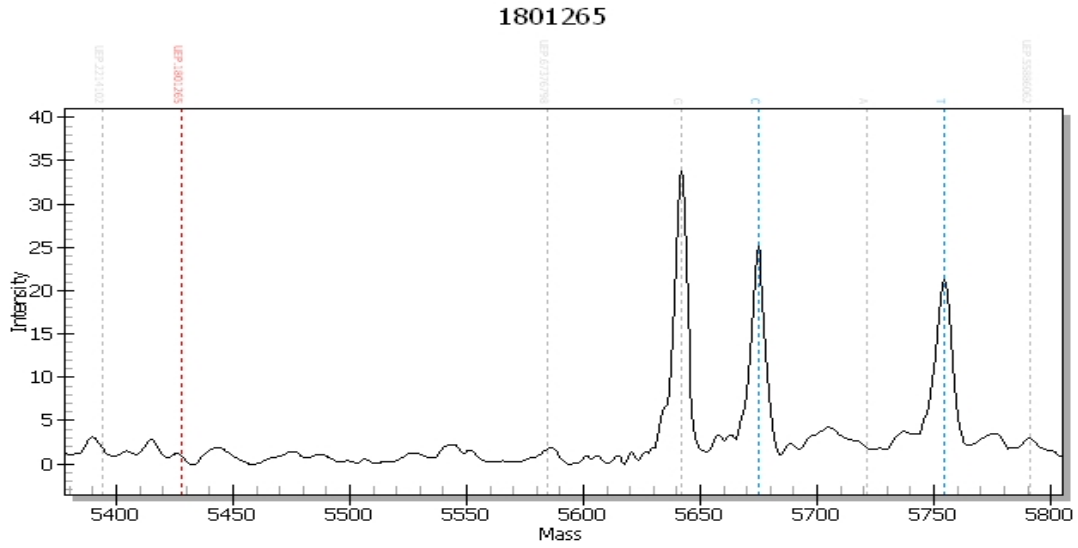
Tablo12. *DPYD**9A (T85C) genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı

<i>DPYD</i>*9A (T85C)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Wild tip (TT)	54	63.5
Heterozigot (TC)	25	29.4
Homozigot (mutant) (CC)	6	7.1
Toplam	85	100

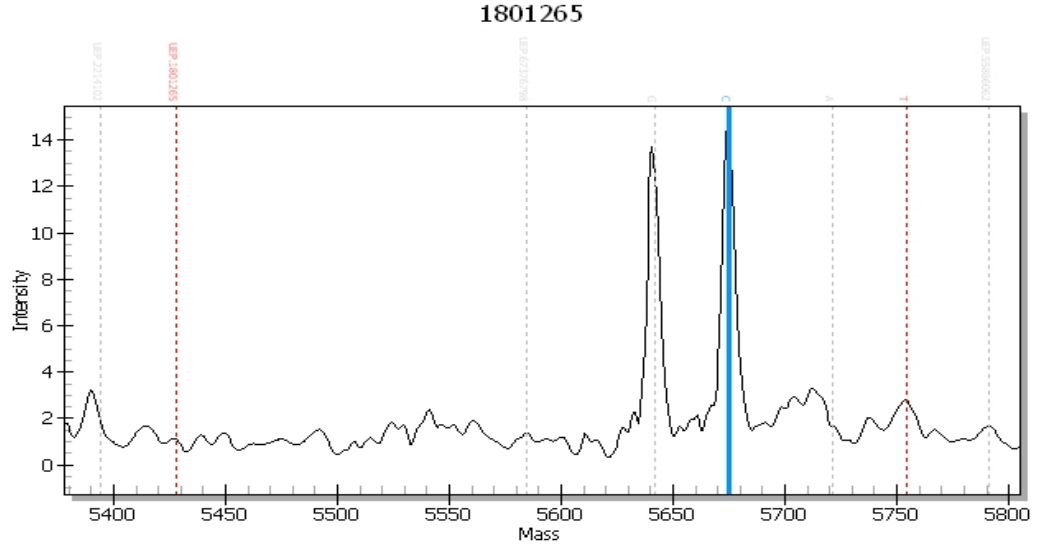
4.3.4.1. *DPYD* Genine Ait *DPYD* *9A (T85C) Genotiplerinin MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Mass Spektrumları



Şekil 22. *DPYD* *9A (T85C) genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi



Şekil 23. *DPYD* *9A (T85C) genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan heterozigot genotipi



Şekil 24. DPYD *9A (T85C) genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan homozigot(mutant) genotipi

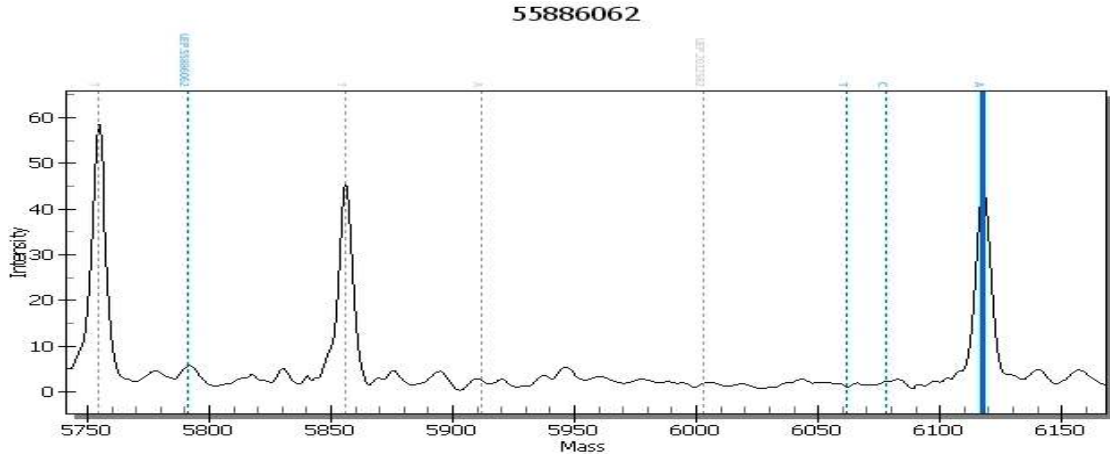
4.3.5. *DPYD* Genine Ait DPYD *7 (T 1679C) Genotiplerinin Olgu Grubu Arasındaki Dağılımı

Olgu gurubundaki tüm kişiler bu varyasyon için wild tipdiler.

Tablo13. DPYD *7 (T 1679C) genotiplerinin olgu gurubu arasındaki dağılımı

DPYD *7 (T1679C)	Sayı (n)	Yüzde(%)
Wild tip	85	100
Heterozigot	0	0
Homozigot (mutant)	0	0

4.3.5.1. *DPYD* Genine Ait *DPYD* *7 (T 1679C) genotipindeki MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Wild Tip Mass Spektrumu



Şekil 25. *DPYD* *7 (T 1679C) genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi

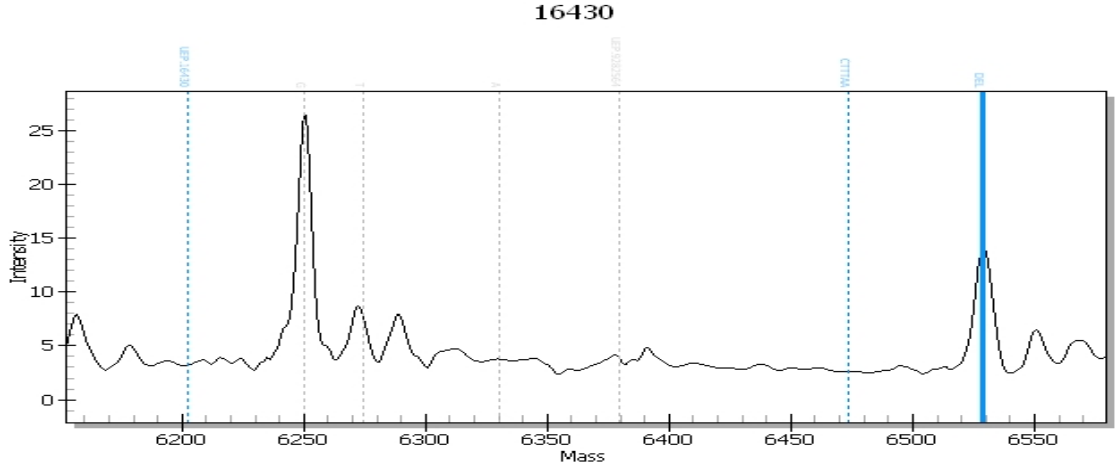
4.3.6. *TYMS* Geninin *TYMS* 1494 ins del Genotiplerinin Olgu Grubu Arasındaki Dağılımı

Olgu gurubundaki *TYMS* 1494 ins del genotipinin dağılımında olguların%36.6'sı (n:31) wild tip, %38,8'i (n:33) heterozigot ve %24,7'si (n:21), homozigot mutant olarak saptandı.

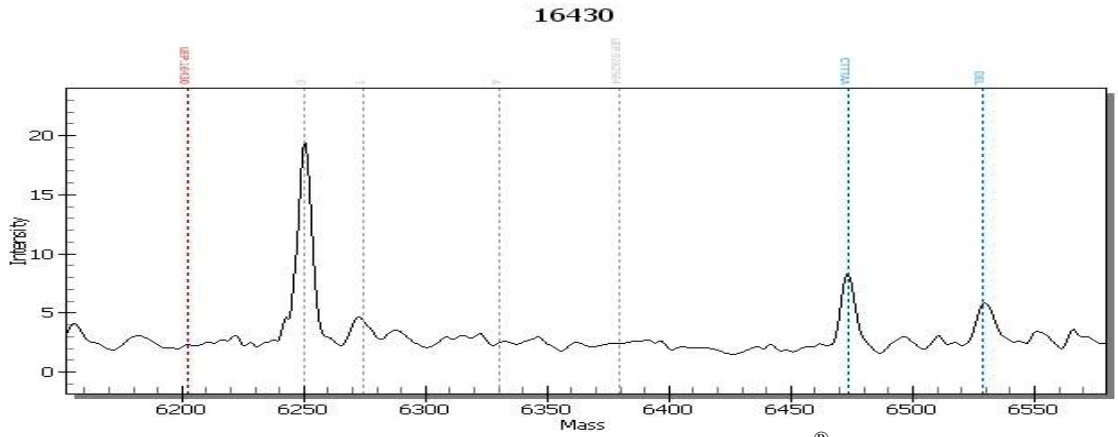
Tablo14. *TYMS* 1494 ins /del genotiplerinin olgu gurubundaki dağılımı

<i>TYMS</i> 1494 ins /del	Sayı (n)	Yüzde (%)
Wild tip (AATTTC;AATTTC)	31	36.5
Heterozigot (-;AATTTC)	33	38.8
Homozigot (-;-)	21	24.7
Total	85	100

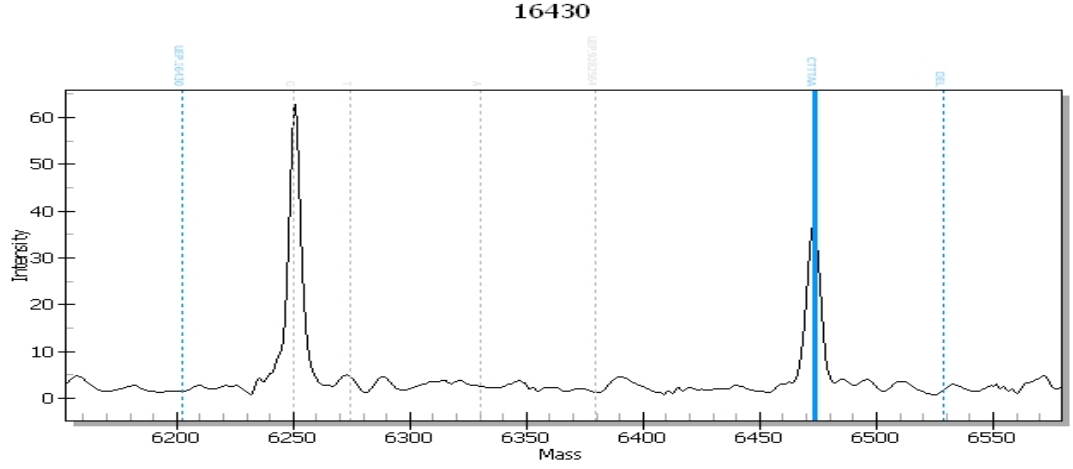
4.3.6.1. *TYMS* Genine Ait *TYMS* 1494 ins/del Genotiplerinin , MassARRAY® TYPER 4.0 ile Saptanan Wild Tip Mass Spektrumu



Şekil 26. *TYMS* 1494 ins/del genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan wild tip genotipi



Şekil 27. *TYMS* 1494 ins/del genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan heterozigot genotipi



Şekil 28. *TYMS* 1494 ins/del genotipindeki, MassARRAY® TYPER 4.0 ile saptanan homozigot mutant genotipi

4.4. Polimorfik Genlerin Toksisite İlişkisi

4.4.1. *MTHFR* 677C>T Mutasyonu ile Toksisite Varlığı Arasındaki İlişki

MTHFR 677C>T mutasyonu ile (heterozigot, homozigot mutant) toksisite varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (p: 0.009). Heterozigot ve homozigot mutant olguların tümünde (n: 45) toksisite saptandı, wild tip olan olgularda hiçbir toksisite saptanmadı (Tablo 17).

Tablo 15. *MTHFR* 677C>T mutasyonu ile toksisite varlığı arasındaki ilişki
(Fisher kesin testi, p: 0.009)

<i>MTHFR</i> 677C>T Mutasyonu	Toksisite		Toplam
	Var	Yok	
Var	0 (%0)	45 (%100)	45 (%100)
Yok	6 (%15)	34 (%85)	40 (%100)
Toplam	6 (%7,1)	79 (%92,9)	85 (%100)

4.4.2. *MTHFR* 677C>T Mutasyonu ile El ve Ayak Sendromu Toksisitesi Arasındaki İlişki

MTHFR 677C>T mutasyonu varlığı ile el-ayak sendromu toksisitesi varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (p: 0.048).

Tablo 16. *MTHFR* 677C>T mutasyonu ile el ve ayak sendromu toksisitesi arasındaki ilişki (Fisher kesin test, p: 0.048)

El ve Ayak Sendromu	<i>MTHFR</i> 677C>T		Toplam
	Homozigot Mutant	Wild Tip	
Yok	1 (%14.3)	6 (%85.7)	7 (%100)
Var	44 (%56.4)	34(%43.6)	78 (%100)
Toplam	45 (%52.9)	40 (%47.1)	85 (%100)

4.5 Çalışma Grubumuzun Mutasyon Sonuçlarının Diğer Etnik Gruplardaki Mutasyon Sonuçları ile Karşılaştırılması

Tablo 17. *MTHFR* 677C>T mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı (88)

Popülasyon	n	Wild Tip	Heterozigot	Homozigot (mutant)	Allel (%)
Tez çalışmamız	85	40 (%47,1)	37 (43.5%)	8 (%9.4)	31.15
Türkiye	93	47 (%50.53)	39 (%41.93)	7 (%7.5)	28.46
Arap	511	327 (%72.8)	126 (%24.7)	13 (2.5%)	14.9
İngiltere	199	81 (%40.7)	94 (%47.23)	24 (%12.7)	36.3
Fransa	133	50 (%37.5)	70 (%52.63)	13 (%9.77)	36.05
Almanya	153	49 (%32.02)	40 (%26.14)	11(%7.18)	20.25
İtalya	106	26 (%24.52)	48 (%45.28)	32(%30.18)	52.82
Norveç	323	167 (%51.7)	123 (%38.08)	33 (%10.21)	29.25
Japonya	346	236 (%68.28)	98 (%28.32)	12 (%3.46)	17.62
Yemen	46	31 (%67.39)	14 (%35.89)	1 (%2.17)	20.11
Sahra dışı Afrikalılar	234	203 (%86.75)	31 (%13.24)	0 (%0)	6.62
Kongo Cumhuriyeti /Kamerun	67	60 (%8.95)	7 (%10.44)	0 (%0)	5.22

Tablo 18. DIVS14+1G>A mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı (89)

Popülasyon	n	Wild Tip	Heterozigot	Mutant Allel(%)
Tez çalışması	85	84(%98.8)	1(%1.2)	0.6
Türkiye	250	0(%0)	0(%)	0
Almanya	267	264 (%98.87)	3(%1.12)	0.56
Polonya	252	251 (%99.6)	1(%0,44)	0.22
Portekiz	73	72 (%98.63)	1(%1.37)	0.68
İskoçya	72	71 (%98.61)	1(%1.39)	0.69
Japonya	50	50 (%0)	0 (%0)	0
Tayvan	300	0 (%0)	0 (%0)	0
ABD (Beyaz ırk)	95	0(%0)	0 (%0)	0
ABD (Afrikalı Amerikalılar)	95	0 (%0)	0 (%0)	0

Tablo 19. D85T>C mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı (89)

Popülasyon	n	Wild Tip	Heterozigot	Homozigot(mutant)	Mutant Allel(%)
Tez çalışması	85	54 (%63.52)	25 (%29.41)	6 (%7.05)	0.22
Beyaz ırk	157	101(%64.33)	51 (%32.48)	5 (%3.18)	0.19

Tablo 20. D2846A>T mutasyon sıklığının etnik gruplar arasındaki dağılımı (90)

Popülasyon	n	Wild Tip	Heterozigot	Homozigot (mutant)	Mutant Allel (%)
Çalışmamız	85	85 (%100)	25 (%0)	6 (%0)	0
Beyaz Irk ⁹⁰	157	155 (%98.72)	2 (%1.27)	0 (%0)	0.006

4.6 Tüm Olguların DPYD, TYMS, MTHFR Mutasyonları ve Toksisite Durumları

Tablo 21. Homozigot (mutant) M677C>T mutasyonu olan olguların toksisite durumları

Hasta No	M677C>T	Toksisite	Derece
5-FU 13	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 18	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	4
5-FU 21	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 23	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	4
5-FU 43	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 49	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 64	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	2
5-FU 80	Homozigot(mutant)	Gastrointestinal	2

Tablo 22. Heterozigot *M677C>T* mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları

Hasta No	<i>M677C>T</i>	Toksisite	Derece
5-FU 3	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU 10	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 12	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 14	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 17	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 20	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 22	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 25	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 27	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 28	Heterozigot	Hematopoitik	4
5-FU 34	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 35	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 36	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 37	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 41	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 42	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 45	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 46	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 47	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 48	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 52	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 53	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 54	Heterozigot	El ve Ayak	3
5-FU 55	Heterozigot	El ve Ayak	2
5-FU 56	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 58	Heterozigot	El ve Ayak	2
5-FU 59	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 62	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 65	Heterozigot	El ve Ayak	2
5-FU 68	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 71	Heterozigot	El ve Ayak	2
5-FU 73	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU 76	Heterozigot	Gastrointestinal	2
5-FU 77	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU 78	Heterozigot	Gastrointestinal	2
5-FU 81	Heterozigot	Gastrointestinal	3
5-FU82	Heterozigot	Gastrointestinal	2

Tablo 23: Heterozigot DIVS14G>A/G mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları

Hasta No	IVS14G>A/G	Toksisite	Derece
5-FU 54	Heterozigot	El ve Ayak	3

Tablo 24: Homozigot D85T>C/T mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları

Hasta No	D85T>C/T	Toksisite	Derece
5-FU 7	Homozigot(mutant)	Yok	—
5-FU 21	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 57	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	1
5-FU 66	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	3
5-FU 67	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	1
5-FU 80	Homozigot(mutant)	Gastrointestinal	2

Tablo 25: Heterozigot D85T>C/T mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları

Hasta No	D85T>C/T	Toksisite	Derece
5-FU 5	Heterozigot	Yok	—
5-FU 6	Heterozigot	Yok	-
5-FU 8	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 15	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 20	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 22	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 23	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 24	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 25	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 31	Heterozigot	Hematopoitik	4
5-FU 32	Heterozigot	El ve Ayak	3
5-FU 39	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 40	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU 41	Heterozigot	Gastrointestinal	2
5-FU 42	Heterozigot	Deri	1
5-FU 43	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 51	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 52	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 53	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 65	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 69	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 73	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU75	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU79	Heterozigot	Hematopoitik	4
5-FU 84	Heterozigot	Hematopoitik	3

Tablo 26: Heterozigot TS 1494ins/del mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları

Hasta No	TS 1494ins/del	Toksisite	Derece
5-FU 1	Heterozigot	Yok	—
5-FU 2	Heterozigot	Yok	—
5-FU 3	Heterozigot	Yok	—
5-FU 6	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 9	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 10	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 16	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 17	Heterozigot	Hematopoitik	4
5-FU 18	Heterozigot	Hematopoitik	4
5-FU 19	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 20	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 21	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 33	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 34	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 35	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 36	Heterozigot	El ve Ayak	2
5-FU 37	Heterozigot	El ve Ayak	2
5-FU 38	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 39	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 40	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU 41	Heterozigot	Gastrointestinal	3
5-FU 42	Heterozigot	Deri	3
5-FU 43	Heterozigot	Yok	-
5-FU 55	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 57	Heterozigot	Hematopoitik	2
5-FU 58	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 59	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 69	Heterozigot	Hematopoitik	1
5-FU 72	Heterozigot	Hematopoitik	3
5-FU 73	Heterozigot	El ve Ayak	1
5-FU 81	Heterozigot	Gastrointestinal	1
5-FU 83	Heterozigot	Deri	1
5-FU 84	Heterozigot	Hematopoitik	1

Tablo 27: Homozigot (mutant) TS 1494ins/del mutasyonu taşıyan olguların toksisite durumları

Hasta No	TS 1494ins/del	Toksisite	Derece
5-FU 7	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 22	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 23	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 24	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 25	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 44	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 45	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 46	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	2
5-FU 47	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	1
5-FU 48	Homozigot(mutant)	El ve Ayak	2
5-FU 49	Homozigot(mutant)	Gastrointestinal	2
5-FU 50	Homozigot(mutant)	Deri	3
5-FU 51	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 52	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	4
5-FU 53	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	2
5-FU 60	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	3
5-FU 70	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	4
5-FU 71	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	1
5-FU 75	Homozigot(mutant)	Hematopoitik	2
5-FU 82	Homozigot(mutant)	Gastrointestinal	1
5-FU 85	Homozigot(mutant)	Yok	-

4.7Tüm Olguların DPYD, TYMS, MTHFR Mutasyon Durumları ve Kemoterapi Yanıtları

Tablo 28: Heterozigot M677C>T mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	M677C>T	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 3	Heterozigot	Progresyon
5-FU 10	Heterozigot	Progresyon
5-FU 12	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 14	Heterozigot	Progresyon
5-FU 17	Heterozigot	Progresyon
5-FU 20	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 22	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 25	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 27	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 28	Heterozigot	Progresyon
5-FU 34	Heterozigot	Değerlendirilmemiş
5-FU 35	Heterozigot	Stabil Yanıt

5-FU 36	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 37	Heterozigot	Değerlendirilmemiş
5-FU 41	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 42	Heterozigot	Progresyon
5-FU 45	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 46	Heterozigot	Progresyon
5-FU 47	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 48	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 52	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 53	Heterozigot	Progresyon
5-FU 54	Heterozigot	Progresyon
5-FU 55	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 56	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 58	Heterozigot	Progresyon
5-FU 59	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 62	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 65	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 68	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 71	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 73	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 76	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 77	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 78	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 81	Heterozigot	Progresyon
5-FU82	Heterozigot	Stabil Yanıt

Tablo 29: Homozigot (mutant) *M677C>T* mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	<i>M677C>T</i>	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 13	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 18	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 21	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 23	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 43	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 49	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 64	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 80	Homozigot(mutant)	Progresyon

Tablo 30: Heterozigot DIVS14G>A/G mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	DIVS14G>A/G	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 54	Heterozigot	Tam Yanıt

Tablo 31: Homozigot (mutant) D85T>C/T mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	D85T>C/T	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 7	Homozigot(mutant)	Değerlendirilmemiş
5-FU 21	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 57	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 66	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 67	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 80	Homozigot(mutant)	Progresyon

Tablo 32: Heterozigot D85T>C/T mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	D85T>C/T	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 5	Heterozigot	Progresyon
5-FU 6	Heterozigot	Progresyon
5-FU 8	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 15	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 20	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 22	Heterozigot	Progresyon
5-FU 23	Heterozigot	Progresyon
5-FU 24	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 25	Heterozigot	Progresyon
5-FU 31	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 32	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 39	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 40	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 41	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 42	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 43	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 51	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 52	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 53	Heterozigot	Progresyon
5-FU 65	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 69	Heterozigot	Progresyon
5-FU 73	Heterozigot	Progresyon
5-FU75	Heterozigot	Progresyon
5-FU79	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 84	Heterozigot	Kısmi Yanıt

Tablo 33: Homozigot(mutant) TS 1494ins/del mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	TS 1494ins/del	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 7	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 22	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 23	Homozigot(mutant)	Değerlendirilmemiş
5-FU 24	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 25	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 44	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 45	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 46	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 47	Homozigot(mutant)	Kısmi Yanıt
5-FU 48	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 49	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 50	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 51	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 52	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 53	Homozigot(mutant)	Tam Yanıt
5-FU 60	Homozigot(mutant)	Tam Yanıt
5-FU 70	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 71	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 75	Homozigot(mutant)	Progresyon
5-FU 82	Homozigot(mutant)	Stabil Yanıt
5-FU 85	Homozigot(mutant)	Değerlendirilmemiş

Tablo 34: Heterozigot TS 1494ins/del mutasyonu taşıyan olguların kemoterapi yanıtları

Hasta No	TS 1494ins/del	Kemoterapi Yanıtı
5-FU 1	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 2	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 3	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 6	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 9	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 10	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 16	Heterozigot	Progresyon
5-FU 17	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 18	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 19	Heterozigot	Progresyon

5-FU 20	Heterozigot	Progresyon
5-FU 21	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 33	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 34	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 35	Heterozigot	Değerlendirilmemiş
5-FU 36	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 37	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 38	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 39	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 40	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 41	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 42	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 43	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 55	Heterozigot	Progresyon
5-FU 57	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 58	Heterozigot	Progresyon
5-FU 59	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 69	Heterozigot	Tam Yanıt
5-FU 72	Heterozigot	Stabil Yanıt
5-FU 73	Heterozigot	Progresyon
5-FU 81	Heterozigot	Kısmi Yanıt
5-FU 83	Heterozigot	Progresyon
5-FU 84	Heterozigot	Kısmi Yanıt

Tabo 35. Tüm olguların mutasyon sonuçları

Hasta No	M677C>T	D2846A>T	DIVS14G>A/G	D85T>C/T	D1679T>G/T	TS1494ins/del
5-FU 1	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 2	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 3	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 4	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 5	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 6	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 7	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 8	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 9	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 10	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 11	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 12	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 13	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip

5-FU 14	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 15	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 16	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 17	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 18	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 19	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 20	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 21	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 22	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 23	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 24	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 25	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 26	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 27	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 28	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip

5-FU 29	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 30	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 31	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 32	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 33	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 34	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 35	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 36	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 37	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 38	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 39	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 40	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 41	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 42	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 43	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot

5-FU 44	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 45	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 46	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 47	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 48	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 49	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 50	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 51	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 52	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 53	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 54	Heterozigot	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 55	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 56	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 57	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 58	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot

5-FU 59	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 60	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 61	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 62	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 63	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 64	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 65	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip
5-FU 66	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)	Wild Tip
5-FU 67	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)	Wild Tip
5-FU 68	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 69	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Heterozigot
5-FU 70	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 71	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 72	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 73	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Heterozigot

5-FU 74	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 75	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip
5-FU 76	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 77	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 78	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip
5-FU 79	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Wild Tip
5-FU 80	Homozigot(mutant)	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)	Wild Tip
5-FU 81	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 82	Heterozigot	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)
5-FU 83	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot
5-FU 84	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Heterozigot	Heterozigot
5-FU 85	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Wild Tip	Homozigot(mutant)

5. Tartışma

Çalışmamıza 2011-2013 yılları arasında, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi gündüz tedavi merkezinde, 5-FU sağaltımı alan 85 olgu alındı. Çalışmanın amacı, kanser sağaltımı için, rutin sağaltım protokollerinde yer alan 5-FU ilacının metabolizmasını ilgilendiren enzimlere ait genlerin [Dihidropirimidin dehidrogenaz (*DPYD*), Metilentetrahidrofolat redüktaz (*MTHFR*), Timidilat sentaz (*TS*)] popülasyona özgü, polimorfizimlerini belirlemek; bu polimorfizimlerle sağaltım sonuçları ve gözlenen toksisiteleri ilişkili olarak incelemektir.

Bu 85 olgudan oluşan çalışma grubundaki olguların %67.1 (n: 57)'ü erkek, %32.9 (n:28)'ü kadındı. Çalışma grubumuzda olguların yaş ortalaması (+ SD), 58.88 (+11.30) (min-max, 20-81)'di. Boy ve kilo açısından, olguların boy ortalaması (+ SD), 168 (+9.07), (min-max 148-192)'di, kilo ortalaması (+ SD), 46 (+12.72), medyan (min-max,71.41-100)'dü.

Olguların %62.4 (n: 53)'ü kolorektal, %32.9 (n: 28)'ü gastrointestinal, %4.7 (n: 4)'si de diğer bölge yerleşimliydiler. Histopatolojik tip açısından olguların %83.5 (n: 71)'i, adenokarsinom ve %14 (n: 16.5)'de diğer tipdi. Kanser evresine göre olguların, %9.4(n:8)'ü evre II, %30.6 (n:26)'sı evre III ve %60(n:51)'se evre IV'iydi.

Olgu grubundaki 5-FU ilacına bağlı toksisite değerlendirilmesi, Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE) klavuzuna göre yapıldı. Olguların altısında (n:6, %7,06) toksisite yokken, yetmişdokuzunda (n:79, %92,94) toksisite görüldü.

Toksisitesi olan 79 olgunun, 28'inde, derece1 (%36.44), 20'inde, derece 2 (%26.32), 25'inde derece 3 (%31.65) ve 6'ında, derece 4 (%7.59) toksisite saptandı. Toksisitesi saptanan 79 olgunun, 49'unda (%62.0) düşük derece toksisite, 30'unda (%38) yüksek derece toksisite saptandı.

Toksisite saptanan 79 olgunun, 47'sinde, hematopoeitik toksisite (%59), 18'inde, el ve ayak sendromu (%23.1), 11'inde, gastrointestinal toksiste (%14.1) ve 3'ünde ise, deri toksisitesi (%3.8) saptandı. Bir olguda 5-FU'in nadir toksisitelerinden olan, okular toksisite saptandı. Toksisitesi saptanan 79 olgunun, 49'u (%62.0) düşük derece (1-2), 30'u (%38) ise, yüksek dereceliydi (3-4).

Olgu gurubundaki *MTHFR*, *DPYD*, *TS* genlerinin genel mutasyon durumuna bakdığımız zaman; 79 olgu mutant ve 6 olgu wild tip'di.

Kamiya.H ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarına göre folat türevleri, DNA'nın normal sentezi ve metilasyonunda görevli, önemli yapıtaşlarıdır. Bu nedenlerden dolayı, folat eksikliği karsinogenez ile ilişkilendirilebilir. Alkol kullanan kişilerde, *MTHFR* C677T mutasyonunun kanser oluşumunda rol oynadığı bildirilmiştir. Akciğer kanserli hastalarla yapılan çalışmalarda, 677 T alelinin, bir tumor supresör geni olan p16'nın ekspresyonunun artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (91). Chen J ve arkadaşlarının çalışmalarında 677 TT genotipli erkeklerde kolon kanseri riskinin yarı yarıya azaldığı tespit etmişler (92). Pereira P ve arkadaşlarının karsinogenezde *MTHFR*'nin rolünü açıklamaya yönelik yaptıkları bir çalışmada, kolorektal kanserli hastaların büyük bir bölümünde mutant T alelinin kaybolduğunu açıklamışlardır (93).

Skibola CF ve arkadaşları 677 T alelinin akciğer kanseri ve lösemi ile ilişkili olduğunu bildirmişler (94) Ayrıca Song C ve arkadaşları mutant T alelinin artmış endometriyal kanser riskiyle ilişkili olduğu saptamışlar (95).

Toffoli G ve ark. Kuzey İtalya'da azalan proksimal kolorektal kanser riskinde *MTHFR* 677 TT genotipinin rolü olduğunu bildirmişlerdir (96).

Izmirli M 2006-2011 tarihleri arasında pubmed yayınlarda yaptığı meta analizine göre *MTHFR* 677 TT polimorfizimi bir çok kanserde (meme, gastrointestinal, baş boyun, akciğer lösemi, lenfoma orogenital kanserlerde) görülmektedir (97). Bu yayınlarda görüldüğü gibi *MTHFR* ilaç metabolizmasında rol almasının yanında aynı zamanda toksik maddelerin metabolizmasında da rol oynamaktadır ve enzimin metabolizma hızındaki değişimler kişilerin karsinogenezinde de bireysel farklılığı açıklamaktadır. Ancak çalışmamızda primer kanser yeri ile *MTHFR* 677C>T genotipindeki mutasyon arasında herhangi bir anlamlı ilişki bulunamadı.

MTHFR 677C>T mutasyonu ile literatur ile uyumlu olarak olguların cinsiyeti, BMI ve yaşı arasında herhangi bir anlamlı ilişki bulunamadı.

MTHFR 677C>T mutasyonu ile (heterozigot,homozigot mutant) olgularda herhangi bir toksisitenin varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (P= 0.009).

heterozigot ve homozigot mutant olan 45 olgunun hepsinde toksisite görülürken, wild tip olanlarda hiç bir toksisite saptanmadı.

F Thomas ve arkadaşlarıda benzer şekilde, *MTHFR* 677C>T mutasyonu ile, 5-FU ilişkili GİST toksisiteleri arasında anlamlı bir ilişki bildirmişler (98).

MTHFR 677C>T mutasyonu olan olgularda el ve ayak sendromu istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazla gözlemlendi (p:0.048). Ancak toksisite derecesi ile bir ilişki saptanmadı. Buna karşın F Thomas ve arkadaşlarının çalışmasında GİST toksisitelerinin toksisite dereceleri ile, *MTHFR* 677C>T mutasyonunu arasında anlamlı bir ilişkisi olduğunu saptamışlar. Bununla birlikte gerek FDA klavuzunda gerekse Lurje G ve arkadaşları, Marcuello E ve arkadaşları, Ruzzo A ve arkadaşları, Suh KW ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda 5-FU sağaltımı için *MTHFR* farmakogenomik belirteç olarak önerilmemiştir (99,100,101,102).

MTHFR 677 C>T mutasyon, 222 pozisyonundaki alanini, valine çevirir (Ala222Val), *MTHFR* enziminin aktivitesi azalır. *MTHFR* enziminin aktivitesinin azalması, hücrelerin içinde folat metabolitlerinin konsantrasyonunun ve TS enziminin aktivitesinin artmasına sebep olur (103).

MTHFR C677T, *MTHFR* A1298C polimorfizmleri enzim aktivitesinde azalmaya yol açar bu nedenle 5-FU metabolizma hızı azalarak etkin ilaç formu kan dolaşımında artar buna bağlı olarak bu polimorfizmlerin olduğu hastalarda 5-FU kemosenesitivitesinin artmasına bağlı tümör yanıtlarının arttığı ancak sağaltım sonucu toksisitelerinde de bir artış olduğu gözlenmiştir. Klinik öneri için henüz çalışmalar sürmektedir daha büyük çalışma gruplarında toksisite değerlendiren araştırmaların yapılması önerilmektedir (104).

Bizim çalışma grubumuzdaki *MTHFR* 677 C>T mutasyon oranı; % 47,1 (n:40) wild tip, % 43,5 (n:37) heterozigot, % 9,4 (n:8) homozigot mutanttı.

Boduroglu K ve arkadaşlarının nöral tüp defekti olan olgularda ve Türkiye popülasyonunda yaptığı bir çalışmada (n:93) *MTHFR* 677 C>T mutasyon dağılımı; % 50.53 (n:47) wild tip, % 41.93 (n:39) heterozigot, % 7.5 (n:7) homozigot mutant olarak bildirmiştir (105).

R. Bu ve arkadaşlarının Arap popülasyonunda yaptığı bir çalışmada (n:511) MTHFR 677C>T mutasyon dağılımı % 72.8 (n:327) wild tip, % 24.7 (n:126) heterozigot, % 2.5 (n:13) homozigot mutant olarak saptanmıştır (106).

Brulhart MC ve arkadaşlarının, İngilterede yaptığı bir çalışmada (n:199) MTHFR 677C>T mutasyon dağılımı % 40.7 (n:81) wild tip, % 47.23 (n:94) heterozigot, % 12.7 (n:24) homozigot mutant olarak saptanmıştır (107).

Momet E ve arkadaşlarının, Fransız popülasyonunda yaptığı bir çalışmada (n:133) MTHFR 677C>T mutasyon dağılımı % 37.5 (n:50) wild tip, % 52.63 (n:70) heterozigot, % 9.77 (n:13) homozigot mutant olarak saptanmıştır. Aynı popülasyonda Koch MC ve arkadaşlarının çalışmasında (n:153) mutasyon dağılımı % 32.02 (n:49) wild tip, % 26.14 (n:40) heterozigot, % 7.18 (n:11) homozigot mutant olarak bildirilmiştir (108,109).

Popülasyon çalışmalarında MTHFR 677C>T homozigot mutasyonlarının %2.5-12.7 oranında saptandığı görülmektedir. Bizim çalışmamızdaki MTHFR 677C>T mutasyonları daha çok Avrupa toplumlarındaki mutasyon dağılımları ile benzerlik göstermektedir.

Çalışma gurubumuzda TS 1494 ins/del mutasyon oranı; % 36,5 (n:31) wild tip, % 38,4 (n:33) heterozigot, % 24,7 (n:21) homozigot mutant olarak saptanmıştır. Schwab ve arkadaşlarının beyaz ırkta yaptıkları çalışmada homozigot mutant oranını çalışmamıza benzer şekilde % 29,5 olarak bildirmişlerdir (110).

TS 1494 ins/del için Ensemble' da bildirilen homozigot varyasyon oranları Afrikalılarda %59,52, Avrupa toplumunun %37, Japonların %64, Kızılderelilerde %31,37 olarak bildirilmiştir (84). Çalışma sonuçlarımız Avrupa ve Kızıldereli toplumlarına benzerlik göstermektedir. Türk toplumunda daha önce bir çalışma bildirilmemiştir.

Literaturde TS geninin non Hodgkin lenfoma (NHL) gibi çeşitli malignitelere yakınlıkla ilişkili olduğu bildirilmektedir (111).

Nicolt ve arkadaşları Fransız toplumunda yaptıkları bir araştırmada TS1494ins/del polimorfiziminin follikuler lenfoma ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (112).

Lightfoot ve arkadaşlarının İngiliz toplumunda, Skibola ve arkadaşlarının ABD’de (beyaz ırk) yaptıkları araştırmalarda TS1494ins/del polimorfiziminin NHL ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (113,114).

Skibola ve arkadaşları başka bir araştırmada TS polimorfizimlerinin, kolorektal adenoma riski ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (115).

Buna karşın çalışmamızda primer kanser yeri ile TS1494ins/del mutasyon arasında herhangi bir anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Çalışmamızda TS1494ins/del mutasyonu ile literatur ile uyumlu olarak olguların cinsiyeti, BMI ve yaşı arasında herhangi bir anlamlı ilişki bulunamadı.

Floroprimidin bazlı tedaviler ile TS geni polimorfizimlerini ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır. Klinik olarak anlamlı bulunan polimorfizimler ; TSER 28bp VNTR ve TS 1494del polimorfizimleridir (116,117).

Genin 3'-untranslated bölgesinde (3'-UTR) 6 bp insersiyon/ delesyon ile karakterize olan bu polimorfizim (TS 1494 ins/del) TS geninin mRNA satabilitesini değiştirir ve ekspresyonunu azaltır. Bu fonksiyon kaybı nedeni ile 5-FU dolaşımında birikir. Bunun klinik sonucu olarak 5-FU sağaltımına yanıt artar ancak beraberinde artmış bir toksisite riski gözlenir (118).

Çalışmamızda 5-FU tedavi yanıtı ile TS1494ins/del mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (mutasyonu olanlarda yanıt oranı % 11.11 olarak bulunmuştur). Çalışma grubumuzun (n:85) ve izlem süremizin (2 yıl) artması ile bu sonuçların değişmesi beklenir.

Çalışma grubumuzda TS1494ins/del mutasyonu ile tüm toksisiteler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ancak TS1494ins/del mutasyonu olan olgularda hematopoitik toksisiteler daha fazla gözlenmiştir (p:0.051). İstatistiksel olarak anlamlılığın bulunamaması örneklem grubunun küçüklüğü ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanında toksisite derecesi ile de anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Literatürde TS1494ins/del mutasyonu saptanan olgularda 5-FU ilişkili toksisitelerin daha fazla olduğu bildirilmiştir ancak toksisite çeşiti ile ilişki bulunamamıştır (119).

5-FU sağaltımına bağlı toksisiteler ile ailesel DPYD eksikliğini ilişkilidiren yayınlar bulunmaktadır (120).

şiddetli 5-FU toksisitesi ile ilişkili yaklaşık 17 DPYD mutasyonu bildirilmiştir. Bu ilişkinin sapdandığı mutasyonları: D2846A>T, DIVS14G>A/G, D85T>C/T, D1679T>G/T olarak görülmektedir (110). alışmamızda DIVS14G>A/G allelik ferakansı %0.6 olarak saptanmıştır. Japonya, Almanya, Amerika, Portekiz popülasyonlarında yapılan çalışmalarda benzer şekilde bu allelin frekansı düşük olarak bildirilmiştir (121).

DPYD 85T>C mutasyon oranı çalışmamızda; % 47,1 (n:40) wild tip, % 43,5 (n:37) heterozigot, % 9,4 (n:8) homozigot mutant olarak saptanmıştır. Beyaz ırkta bu mutasyon oranı % 64,33 (n:101) wild tip, % 32,48 (n:51) heterozigot, %3,18 (n:5) homozigot mutant olarak bildirilmiştir (122).

DPYD 2846A>T mutasyonu çalışmamızda hiç saptanmamıştır, literatürde bu allelin frekansı çalışmamıza benzer şekilde beyaz ırkta % 0.006 olarak bildirilmiştir.

D1679T>G/T mutasyonu çalışmamızda hiç saptanmamıştır, Amstutz U ve arkadaşlarının 111 olgu grubunda yaptıkları bir çalışmada bu allelin ferekansını 0.0025 olarak bildirilmiştir.

Daisuke T ve arkadaşları Japon toplumunda , *DYPD* T85C polimorfiziminin özofagus, gastrik, kolon, meme , akciğer, lenfoma malignansileri ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (123).

Ancak  alışmamızda primer kanser yeri ile *DPYD* genotipleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Etienne ve arkadaşlarının 135 kanser hastasında yaptıkları çalışmada *DPYD* aktivitesinin erkelerde daha yüksek olduğunu saptamışlardır. (124).

Ancak Lu ve arkadaşlarının çalışmasında (n:124) ise bir ilişki bildirilmemiştir (125).

Çoğu çalışmada sağlıklı bireyler ile kanser hastaların arasında cinsiyet, yaş ile bağlantılı *DPYD* aktivitesi saptanmamıştır (126,127).

Çalışmamızda *DPYD* aktivitesini değiştiren mutasyonlar ile, olguların cinsiyeti, BMI ve yaşı arasında herhangi bir anamlı ilişki saptanmamıştır.

IVIS14+1 G>A en yaygın DPYD polimorfizimidir ve 5-FU sağaltımına bağlı derece 3-4 toksisiteler ile ilşkilendirilmiştir (128).

IVIS14+1 G>A polimorfizmi için homozigot mutant olan hastalarda DPYD enziminin aktivitesinin durur. Bu hastalar 5-FU toksisitesi için yüksek riskli olarak tanımlanmıştır. Heterozigot olan olgularda DPYD enziminin aktivitesinde azalma ve miyelosüpresyon riski bildirilmiştir. DPYD IVIS14+1 G>A homozigot mutant hastalarda farklı ilaç kullanımı önerilir. Çalışma gurubumuzda 1 olguda DPYD IVIS14+1 G>A mutasyonu heterozigot olarak saptanmıştır. Bu olguda 5-FU kemoterapisi sırasında derece 3-4 el ve ayak sendromu ve şiddetli trombositopeni toksisiteleri gözlenmiştir (129,130).

DPYD 85T>C mutasyonu 29'uncu pozisyonadaki sisteini arginine değiştirir ve DPYD enziminin aktivitesini azaltır. Bu mutasyonunun varlığı, hastalarda 5-FU sağaltımına yanıtı artırırken aynı zamanda toksisite riskini de artırmaktadır.

Çalışma gurubumuzda *DPYD* 85T>C homozigot mutasyonu % 9,4 olarak görülmüştür. Mutant olgulardan bir tanesinde nadir gözlenen oküler toksisite saptanmıştır.

DPYD 2846A>T ve D1679T>G/T mutasyonları olan hastalarda DPYD enziminin aktivitesi azalır ve 5-FU sağaltımına yanıtı artırırken aynı zamanda toksisite riskini de artırmaktadır. Çalışma gurubumuzda bu mutasyon saptanmamıştır.

5-FU metabolizmasını ilgilendiren her üç enzim asındanda normal metabolizor olarak belirlenen 6 olgumuzun, 5 tanesinde toksisite saptanmıştır bu olguların tedavi rejimleri incelendiğinde 5-FU yanında oksalaplatin kemoterapisinde aldıkları görülmüştür.

6.Sonuç ve Öneriler

5-FU kanser sağaltımında yaygın olarak kullanılan bir kemoterapotiktir. 5-FU'in metabolizmasında yer alan DPYD, MTHFR,TS enzimleri polimorfik yapıdadır. Popülasyonlarda DPYD (%0 - %3.8) MTHFR (%0 - %30.18) TS (%31.37 - %59.52) oranlarında ve popülasyonlara göre farklılık gösteren oranlarda polimorfizim göstermektedir. Bu polimorfizimlerin tedavi yanıtları ve toksisite riskleri bildirilmiştir. Çalışma gurubumuzda MTHFR677C>T olanlarda toksisite daha fazla görülmüştür. TS1494ins/del olanlarda hematolojik toksisiteler daha fazla saptanmıştır. MTHFR677C>T mutasyonu olanlarda el ayak sendromu daha fazla görülmüştür.

Kişiselleştirilmiş tıpta, kişiye özgü tanımlamaları (ilaç metabolizma enzimleri ya da biyobelirteç polimorfizimleri) yapabilmek için gerekli olan genetik testler USFDA, ASCO ve Ulusal Kapsamlı Kanseri Ağı (National Comprehensive Cancer Network - NCCN) tarafından onaylanmaktadır. Amerika ve Avrupa ile birlikte ve Türkiye'de de kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımı içerisinde hastaya birtakım ilaçların uygulanması için hastalık tanısına ve ilaca özgü farmakogenetik testlerin yapılması önerilmektedir.

Farmakogenetik çalışmaların hızla artması sonucu kişiselleştirilmiş tıpta tanımlayıcı olabilecek yeni moleküllerin ortaya çıkması daha etkili ve yeni sağaltım seçeneklerine zemin hazırlamaktadır. Bu da ilaç keşfinde biyobelirteçlerle birleşimin önemini vurgulamaktadır

Farmakogenetik testler ve kişiselleştirilmiş tıp hastaların yarar görebileceği ve en az yan etki ile sağaltımlarını tamamlamaları yönünde çalışmaktadır. Çünkü farmakogenetik testlerle hastanın yarar göreceği sağaltım çeşidi belirlenirken gereksiz yan etkilerden ve toksisiteden hasta uzak tutulmaktadır. Bu yol, hem sağaltımın etkinliğini arttırmakta hem de sağlık masrafları için harcanan bütçenin azalmasına sebep olmaktadır.

5-FU sentetik pirimidin antimetabolitidir ve bir çok solid tümörün tedavisinde kullanılan önemli bir ajandır. Metabolizmasının birçok gen ile ilişkili olmasından dolayı karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. 5-FU sağaltımı yanıtlarının öngörülmesi için dihidropirimidin dehidrogenaz (DPYD) ve timidilat sentetaz (TYMS) genlerine yönelik mutasyonlar analiz edilmektedir. TYMS genindeki mutasyonların, TYMS enzim ekspresyonunu değiştirerek 5-FU

hassasiyeti ve toksisitesi oluřturduđu bilinmektedir. DPYD'deki mutasyonların enzimin hızlıca yıkılmasını sađlamaları sonucu oluřan dűřűk enzim aktivitesi, aktif 5-FU' nun zehirsizleřtirilip inaktif dihidro-5-FU'a dűnűřememesine neden olmaktadır. Sonuű olarak ۆlűmcűl toksisiteler ortaya űıkabilmektedir. Amerikan Gıda ve İlaű Dairesi (US FDA) 5-FU iűeren sađaltım planlanmasından ۆnce, hastayı toksisite iliřkili istenmeyen durumlardan korumak amacıyla DPYD ve TYMS genlerindeki mutasyonların tanımlanmasını ۆnermektedir.

űalıřmamız bu enzimler yanında MTHFR677C>T mutasyonunun da toksisitelerin ۆngőrűlmesinde ۆnemli bir rol oynadıđını gűstermiřtir.

Bu űalıřma, 5-FU metabolizmasını ilgilendiren her űű enzim genetik polimorfizimini Tűrkiye toplumunda tanımlayan ilk űalıřmadır. Bu aűıdan baskın ve nadir olan genetik polimorfizimlerinin tanımlanması ve ulusal sađaltım protokollerine, bu genetik bilginin kullanımı yűnűnde bir katkı sađlayacaktır.

Bu űalıřma sonuűları :

Hasta iűin bireysel tedavi yűnetimini, gűvenilir ilaű dozu aralıđını, akut ve kronik etkileri daha az ancak daha etkin bir sađaltımı, kiřeye ۆzgű doz ve protokol belirlenmesini sađlayacak;

Onkolog iűin hastalıđın etkin yűnetimini, daha az yan etkiyi, kemoterapi rejimi ve doz seűiminde kanıta dayalı kararı;

Toplumda, farmakovijilans konusunda farkındalığı, toksisite ve ilaű uygulamalarında ulusal standartların tanımlanması ve geliştirmesini;

Ulusal sađlık politikaları iűin, maliyet etkinliđi, ilaű uygulamalarında standardizasyon, toplumda dominant genotipin belirlenmesi nedeni ile ilaű ve test satın alma proseslerinde etkin planlama; konusunda bilgi akıřı sađlıyacaktır.

7.Kaynaklar

1. Phillips K, Veenstra D, Oren E, Lee J et al. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions, JAMA, 2001; 286: 2270-79.
2. Jordan K, Sippel C, Schmoll HJ. Guidelines for antiemetic treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting: past, present, and future recommendations, Oncologist. 2007 ;12(9):1143-50
3. www.cancer.gov. Erişim tarihi 05.03.2013
4. Rozman KK, Klaassen CD. Absorption, distribution, and excretion of toxicants, Casarett and Doull's Toxicology, 2001;105:23-29.
5. Vuppalanchi R. Metabolism of drugs and xenobiotics, Practical Hepatic Pathology, 2011; 11:45-52.
6. Sturgill MG, Lambert GH. Xenobiotic induced hepatotoxicity, mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function, Clin Chem, 1997; 43 (2): 1512-26.
7. Kaminsky LS, Zhang QY. The small intestine as a xenobiotic-metabolizing organ, Drug Metab Dispos, 2003; 31 (12): 1520-25
8. Ingelman M, Rodriguez S C. Pharmacogenetics of drug-metabolizing enzymes: implications for a safer and more effective drug therapy, Phil. Trans. R. Soc. B, 2005; 360: 1563–70.
9. Baskın Y, alıbaşı G. Kanser hastalarında farmakogenetik uygulamaları ve farmakoeкономи, Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (3): 152-64.
10. Guéguen Y, Mouzat K, Ferrari L et al. Cytochromes P450: xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance, Ann Biol. Clin, 2006; 64(6): 535-48.
11. Wilson ID, Nicholson JK. Topics in Xenobiochemistry, Xenobiotica, 2003; 33 (9): 887-01.
12. Fuhr U, Jetter A, Kirchheiner J. Appropriate phenotyping procedures for drug metabolizing enzymes and transporters in humans and their simultaneous use in the cocktail approach, Clin Pharmacol Ther, 2007;81:270–83.
13. Guengerich FP. Cytochromes P450, drugs, and diseases, Mol Interv, 2003; 3:194-201.
14. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). Version 4.03 Published: June 2010. U.S. Department of Health and Human Services, National Cancer Institute.

15. Alexandrescu DT,Wiernik PH,Dutcher JP. Chemotherapy toxicities and Complications, Clinical Hematology, 2006; 90: 1144-54.
16. Kurkjian DC ve Ozer H. Management of advers effects of treatment. 8th edition Philadelphia. Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA, 2008; 2617-38.
17. Basch E, Artz D, Dulko D, Scher K et al . Patient online self-reporting of toxicity symptoms during chemotherapy, Clin Oncol, 2005; 23:3552-61.
18. Scharf O, Colevas AD. Adverse event reporting in publications compared with sponsor databas for cancer clinical trials, Clin Oncol, 2006; 24: 3933-38.
19. Payne AS, James WD, Weiss RB. Dermatologic toxicity of chemotherapeutic agents,Semin Oncol, 2006; 33: 86-97.
20. Hackbarth M, Haas N, Fotopoulou C, Lichtenegger et al. Chemotherapy-induced dermatological toxicity: frequencies and impact on quality of life in women's cancers. Results of a prospective study, Support Care Cancer, 2007;32: 520-27.
21. Doru T. Chemotherapy toxicities and complications.Clinical Hematology, 2006;56: 1144-54.
22. Bagnes C, Panchuk PN , RecondoG. Antineoplastic chemotherapy induced QTc prolongation. Curr Drug Saf, 2010;5(1): 93-96
23. Edwards R, Aronson JK. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management, Lancet 2000; 356: 1255–59
24. Hande KR. Principles and pharmacology of chemotherapy, Clinical Hematology, 2009; 73: 1694-20.
25. Curigliano G, Mayer EL, Winer EP. Cardiac toxicity from systemic cancer Therapy: A comprehensive review, Prog Cardiovasc Dis, 2010; 53:94-04.
26. Yahalom J, Portlock CS. Cardiac Toxicity, Cancer J, 2008; 63: 2678- 88.
27. Dogan K ,Tarik Salman , Ilkay Tugba Unek , Ilhan Oztot et al. Clinical and electrocardiography changesin patients treated with capecitabine, Chemotherapy, 2011;57:381–87.
28. Kaner RJ , Stover DE. Pulmonary toxicity, Cancer J, 2008; 63: 2668-77.
29. Floyd J, Mirza I, Sachs B, Perry MC. Hepatotoxicity of chemotherapy, Semin Oncol, 2006; 33:50-67.

30. Paul D, King C, Michael C. Hepatotoxicity of Chemotherapy, *The Oncologist* 2001; 6:162-176.
31. Schwartzberg LS. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: clinician and patient perspectives. *J Support Oncol*, 2007;5:5-12.
32. Rubenstein EB, Slusher BS, Rojas C, Navari RM, New Approaches to Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting: From Neuropharmacology to Clinical Investigations. *Cancer J*. 2006; 12: 341-347.
33. Solomon R, Cherny NI. Constipation and diarrhea in patients with cancer, *Cancer J*, 2006; 12: 355-364.
34. Stringer AM, Gibson RJ, Bowen JM, Logan RM et al. Chemotherapy-induced mucositis: the role of gastrointestinal microflora and mucins in the luminal environment. *J Support Oncol*, 2007;5:259-267.
35. Gibson RJ, Kefe DMK. Cancer chemotherapy-induced diarrhoea and constipation: mechanisms of damage and prevention strategies, *Support Care Cancer*, 2006; 14: 890-900.
36. Tsuji Y, Sagawa T, Takayanagi N, Hirayama Y et al, 2003;61(6):966-72.
37. McWhirter D, Kitteringham N, Jones RP, Malik H et al. Chemotherapy induced hepatotoxicity in metastatic colorectal cancer: A review of mechanisms and outcomes, *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013; 17: 1140-5
38. Hildebrand J. Neurological complications of cancer chemotherapy, *Curr Opin Oncol*, 2006;18:321-324.
39. Rudkin K, Muecke S. Adjuvant 5-fluorouracil in the treatment of localised ocular surface squamous neoplasia, *Br J Ophthalmol* ,2011;95:947-950
40. Manzano ME, Marcondes F, Eduardo B. Mauricio R, Bruno A et al. Retinal and Ocular Toxicity in Ocular Application of Drugs and Chemicals – Part II: Retinal Toxicity of Current and New Drugs, *Ophthalmic Res* 2010;44:205–224
41. De Jonge MJA, Verweij J. Renal toxicities of chemotherapy, *Semin Oncol*, 2006; 33: 68-73.
42. López-Miranda V, Herradón E, González C, Martín MI. Vascular toxicity of chemotherapeutic agents, *Curr Vasc Pharmacol*. 2010;8(5):692-700.
43. Lodish MB. Clinical review: kinase inhibitors: adverse effects related to the endocrine system, 2013;98(4):1333-42

44. Sassi G, Striano B, Merio UA. A reporting system for the assessment of chemotherapy toxicity, *J Oncol Pharm Pract* ,2005;11 (2): 63-67.
45. Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE) Publish Date: August 9, 2006.
46. Watters JW, McLeod HL. Cancer pharmacogeomics: current and future applications, *Biochimica Biophysica Acta*, 2003;1603:99-111.
47. Babu VR, Sairam M, Hosamani KM, Aminabhavi TM. Development of 5-fluorouracil loaded poly(acrylamide-co-methylmethacrylate) novel core-shell microspheres: in vitro release studies. *Int. J. Pharm*,2006;325(1-2):55-62.
48. Menei P, Venier MC, Gamelin E, Saint André JP et al, Local and sustained delivery of 5-fluorouracil from biodegradable microspheres for the radiosensitization of glioblastoma: a pilot study, *Cance*. 1999; 86(2): 325-30.
49. Longley D, Harkin P, Johnston P. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies, *Nat Rev Cancer*, 2003;3:330
50. Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, Mooren D et al. Fluorinated pyrimidines. a new class of tumor inhibitory compounds, *nature*, 1957; 179:663-666.
51. GREM JL. Chabner BA Longo DL. *Cancer Chemotherapy and Biotherapy 5-Fluoropyrimidines*. Philadelphia, Lippincott-Raven ,1996, 149-211.
52. Gardiner SJ, Begg EJ, Robinson BA. The effect of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency on outcomes with fluorouracil, *Adverse Drug React Toxicol Rev*, 2002; 21(12): 1-16.
53. Ezzeldin H, Diasio R. Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency, a pharmacogenetic syndrome associated with potentially life-threatening toxicity following 5-fluorouracil administration, *Clin Colorectal Cancer*, 2004; 4(3):181-189.
54. Saif MW, Chu E, DeVita, *Antimetabolites: Cancer; Principles & Practice of Oncology*. 8th Ed. Philadelphia, Hellman, And Rosenberg's, 2008; 427-437.
55. Matou R, Sousa FG, Escarquitte AE et al. 5-Fluorouracil And its active metabolite fdump cause DNA damage in human SW620 colon adenocarcinoma cell line, *J Appl Toxicol*, 2008;29:112-118

56. Mountzios G, Soultati A, Pectasides D, Dimopoulos MA et al. Novel approaches for concurrent irradiation in locally advanced cervical cancer: platinum combinations, non-platinum-containing regimens, and molecular targeted agents, *Obstet Gynecol Int*, 2013;536-545
57. Casale F, Canaparo R, Serpe L, Muntoni E. et al. Plasma concentrations of 5-fluorouracil and its metabolites in colon cancer patients, *Pharmacol Res*, 2004;50(20):173-179.
58. GREM JL ,Longo DL, Chabner BA, 5-Fluoropyrimidines, *Cancer Chemotherapy and Biotherapy* , Lippincott-Raven ,1996,149-211.
59. ONAT H, SAİP P. Onkolojide İlaç Etkileşimleri.1.Baskı. İstanbul, Es Basım Hizmetleri, 2004,41-48.
60. Eicholzer M, Luthy Z, Moser V et al. Folate and the risk of colorectal, breast and cervix cancer: the epidemiological evidence, *Swiss Med Wkly* 2001;131: 539-549.
61. Sharp L, Little J. Polymorphism in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia, *Am J Epidemiol* ,2004;159: 423- 443.
62. Kamen B. Folate and antifolate pharmacology. *Semin Oncol* 1997;24:S18-30–9.
63. Bogolub C. Elevated homocysteine? Consider testing for folate metabolism gene variants, *Minn Med*,2012;95(12):39-42.
64. Danenberg PV, Danenberg KD. Effect of 5,10-methylenetetrahydrofolate on the dissociation of 5-fluoro-2-deoxyuridylate from thymidylate synthetase: evidence for an ordered mechanism, *Biochemistry*, 1978;17:4018–4024
65. Rozen R. Molecular genetics of methylenetetrahydrofolate reductase deficiency, *J Inherit Metab Dis* 1996;19:589–94.
66. Krajcinovic M, Lemieux BE, Chiasson S, Primeau M et al. Role of polymorphisms in MTHFR and MTHFD1 genes in the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia, *Pharmacogenomics J*, 2004;4:66–72.
67. <http://www.pharmgkb.org> .erişim tarihi,28.05.2013.
68. Salonga D, Danenberg KD, Johnson M et al. Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase, *Clin Cancer Res*, 2000;6:1322–1327.

69. Soong R, Shah N, Salto TM, Tai BC et al. Prognostic significance of thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidine phosphorylase protein expression in colorectal cancer patients treated with or without 5-fluorouracil-based chemotherapy, *Annals of Oncology*, 2008; 19:915-919.
70. Michael P, Nancy FM, Michael CP. *Chemotherapeutic Agents*,: The Chemotherapy Source Book. Fourth Edition. Philadelphia, 2008; 575-633.
71. Saif MW, Chu E. Antimetabolites. DeVita, Hellman, And Rosenberg's: *Cancer; Principles & Practice of Oncology*. 8th Ed. Vol: One, Philadelphia; 2008; 427-437.
72. Kemeny N, Fata F. Hepatic-arterial chemotherapy, *Lancet Oncol*, 2001; 2:418.
73. Kaner RJ and Stover DE. Pulmonary Toxicity. In: DeVita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds). *Cancer*, 8th edition, Philadelphia Chapter 63, 2008; 2668-77.
74. MAYER RJ. Oral versus intravenous fluoropyrimidines for advanced colorectal cancer: by either route, it's all the same, *J Clin Oncol*, 2001; 19:4093-96.
75. Schmitz G, Aslanidis C, Lackner KJ. Pharmacogenomics: implications for laboratory medicine, *Clinica Chimica Acta*, 2001; 308:43-53.
76. Gardiner SJ, Begg EJ, Robinson BA. The effect of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency on outcomes with fluorouracil, *Adverse Drug React Toxicol Rev*, 2002; 21(1-2): 1-16.
77. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1), *European Journal of Cancer*, 2009; 45: 228-247.
78. Ezzeldin H, Diasio R. Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency, a Pharmacogenetic Syndrome Associated with Potentially Life- Threatening Toxicity Following 5-Fluorouracil Administration, *Clin Colorectal Cancer*, 2004; 4(3):181-189.
79. <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>, erişim tarihi: 23.03.2013.
80. Mercier C, Dupuis C, Blesius A, Fanciullino R et al. Early severe toxicities after capecitabine intake: possible implication of a cytidine deaminase extensive metabolizer profile, *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009; 63: 1177-1180.
81. Efferth T, Volm M. Pharmacogenetics for individualized cancer chemotherapy, *Pharmacol & Ther*, 2005; 107: 155-176.

82. Soong R, Shah N, Salto TM, Tai BC et al. Prognostic significance of thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidine phosphorylase protein expression in colorectal cancer patients treated with or without 5-fluorouracil-based chemotherapy, *Ann Oncol*, 2008; 19: 915–919.
83. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Erişim tarihi 02.03.2013.
84. <http://www.ensembl.org/index.html>. Erişim tarihi 02.03.2013.
85. <http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic/> Erişim tarihi 12.01.2013
86. <http://www.roche-applied-science.com>. Erişim tarihi 12.01.2013.
87. <https://www.mysequenom.com/Home>. Erişim tarihi 22.12.2012.
88. Bu R, Gutie'rrez MI, Rasheed M, Belgaumi A, Bhatia K. Variable drug metabolism genes in Arab Population, *The Pharmacogenomics Journal*, 2004; 4:260–266.
89. Sulzyc BV, Bińczak KA, Pioch W, Kadny J et al. 5-Fluorouracil toxicity-attributable IVS14 + 1G > A mutation of the dihydropyrimidine dehydrogenase gene in Polish colorectal cancer patients, *Pharmacol. Rep.*, 2008; 60: 238-242.
90. Katharina Seck, Silvia Riemer, Ronald Kates et al. Analysis of the DPYD Gene Implicated in 5-Fluorouracil Catabolism in a Cohort of Caucasian Individuals, *Clin Cancer Res* 2005;11:5886-5892
91. Kamiya H, Kawakami K, Miyanaga T, Omura K et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism is associated with expression of p16 in human lung cancer, *Oncol Rep*, 1998;5(4):911-914.
92. Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, Rimm EB et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer, *Cancer Res*, 1996;56:4862-4864.
93. Pereira P, Stanton V, Jothy S, Tomlinson IP et al. Loss of heterozygosity of methylenetetrahydrofolate reductase in colon carcinomas, *Oncol Rep.* 1999;6(3):597-599.
94. Skibola CF, Smith MT, Kane E, Roman E, Rollinson S, Cartwright RA, Morgan G. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults, *Proc Natl Acad.* 1999;96(22):12810-12815.
95. Song C, Xing D, Tan W, Wel Q et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a chinese population, *Cancer Research*, 2001; 61: 3272-3275.

96. Toffoli G, Gafa R, Russo A, Lanza G et al. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C T polymorphism and risk of proximal colon cancer in north Italy, *Clin Cancer Res* 2003;9(2):743-748.
97. Izmirli M. A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk, *Mol Biol Rep*, 2013; 40:625–637.
98. Thomas F, Motsinger RA, Hoskins JM, Dvorak A et al. Methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms and toxicity to 5-FU-based chemoradiation in rectal cancer, *British Journal of Cancer*, 2011;105:1654 -1662.
99. Lurje G, Zhang W, Yang D et al. Thymidylate synthase haplotype is associated with tumor recurrence in stage II and stage III colon cancer, *Pharmacogenet Genomics*, 2008;18:161–168.
100. Marcuello E, Altes A, Menoyo A, Rio ED et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms: genomic predictors of clinical response to fluoropyrimidinebased chemotherapy?, *Cancer Chemother Pharmacol* ,2006;57:835-540.
101. Ruzzo A, Graziano F, Loupakis F et al. Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFOX-4 chemotherapy, *J Clin Oncol* ,2007;25:1247–1254.
102. Suh KW, Kim JH, Kim DY, Kim YB et al. Which gene is a dominant predictor of response during FOLFOX chemotherapy for the treatment of metastatic colorectal cancer, the MTHFR or XRCC1 gene? , *Ann Surg Oncol* ,2006;13:1379-1385.
103. Grimaldi MC, Milano G, Maindrault GF, Chibaudel B. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms and FOLFOX response in colorectal cancer patients, *Br J Clin Pharmacol*. 2010;69(1):58-66.
104. Elena DM, Giuseppe T. C677T and A1298C MTHFR polymorphisms, a challenge for antifolate and fluoropyrimidine-based therapy personalization, *European journal of cancer*, 2009; 45 :1333 -1351.
105. Boduroglu K, Alikasifoglu M, Anar B et al. 677->CT mutation on the methylenetetrahydrofolate reductase gene is not a risk factor for neural tube defects in Turkey, *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1998;78:235.
106. Bu R, Gutierrez MI, Rasheed M, Belgaumi A, Bhatia K. Variable drug metabolism genes in Arab Population, *The Pharmacogenomics Journal*, 2004; 4:260–266.

107. Brulhart MC, Dussoix P, Ruiz J et al. The (Ala-Val) mutation of methylenetetrahydrofolate reductase as a genetic risk factor for vascular disease in non-insulin-dependent diabetic patients, *Am J Hum Genet*, 1997;60:228-229.
108. Momet E, Muller F, Lenvoise-Furet A et al. Screening of the C677T mutation on the methylenetetrahydrofolate reductase gene in French patients with neural tube defects. *Hum Genet* 1997;100:512-514.
109. Koch MC, Stegmann K, Ziegler A et al. Evaluation of the MTHFR C677T allele and the MTHFR gene locus in a German spina bifida population, *Eur J Pediatr*, 1998; 157:487-492.
110. Schwab M et al. Role of genetic and nongenetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. *J Clin Oncol*, 2008;26(13):2131–2138.
111. Zhou YJ , Rong S , HaiLang Y , ZengY et al. Association between polymorphic sites in thymidylate synthase gene and risk of non-Hodgkin lymphoma, a systematic review and pooled analysis, *Leukemia & Lymphoma*, 2012; 53(10): 1953–1960.
112. Niclot S, Pruvot Q, Besson C et al. Implication of the folate-methionine metabolism pathways in susceptibility to follicular lymphomas, *Blood*, 2006;108:278– 285.
113. Lightfoot TJ, Skibola CF, Willett EV et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma associated with polymorphisms in folate-metabolizing genes, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2999 – 3003.
114. Skibola CF, Forrest MS, Coppede F et al. Polymorphisms and haplotypes in folate-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin lymphoma, *Blood* 2004;104:2155- 2162.
115. Skibola CF, Smith MT, Hubbard A, Shane B et al. Polymorphism in the thymidylate synthase and serine hydroxymethyltransferase genes and risk of adult acute lymphocytic leukemia. *Blood*, 2002;99:3786-3791.
116. GUSELLA M, FRIGO AC, BOLZONELLA C, MARINELLI R et al. Predictors of survival and toxicity in patients on adjuvant therapy with 5-fluorouracil for colorectal cancer, *Br J Cancer* 2009; 100: 1549-1557.
117. Yawata A, Kim SR, Miyajima A, Kubo T et al. Polymorphic tandem repeat sequences of the thymidylate synthase gene correlates with cellular-based sensitivity to fluoropyrimidine antitumor agents, *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005; 56: 465-472.

118. Mandola Mv, Stoecklacher J, Zhang W, Groshen S et al. Polymorphism In The Thymidylate Synthase Gene causes Message Instability And Is Associated With decreased Intratumoral Ts Mrna Levels, *Pharmacogenetics* 2004; 14: 319-327.
119. Lecomte T et al. Thymidylate synthase gene polymorphism Predicts toxicity in colorectal cancer patients receiving 5-fluorouracil-based chemotherapy, *clin cancer Res* 2004;10:5880–5888.
120. Zhag H et al. DPYD*5 gene mutation contributes to the reduced DPYD enzyme activity and chemotherapeutic toxicity of 5-FU, *Med Oncol*, 2007;24:251–258.
121. Sulzyc BV, Bińczak KA, Pioch W, Kadny J et al. 5-Fluorouracil toxicity-attributable IVS14 + 1G > A mutation of the dihydropyrimidine dehydrogenase gene in Polish colorectal cancer patients, *Pharmacol Rep*, 2008; 60: 238-242.
122. Katharina S, Silvia R, Ronald K et al. Analysis of the DPYD gene implicated in 5-fluorouracil catabolism in a cohort of caucasian individuals, *Clin Cancer Res* 2005;11:5886-5892.
123. Tanaka D, Hishida A, Matsuo K et al. Polymorphism of dihydropyrimidine dehydrogenase (dpyd) cys29arg and risk of six malignancies in Japanese, *Nagoya J*, 2005; 67: 117 -124.
124. Etienne MC, Lagrange JL, Dassonville O et al. Population study of dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*, 1994; 12: 2248–2253.
125. Lu ZH, Zhang R, Diasio RB, Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver :population characteristics, newly identified deficiency patients and clinical implication in 5-fluorouracil chemotherapy, *Cancer Research*, 1993;53: 5433–5438.
126. Milano G, Etienne MC, Cassuto VE et al. Influence of sex and age on fluorouracil clearance, *Clinical Oncology* 1992;10:1171–1175.
127. Fleming RA, Milano GA, Gaspard MH et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in cancer patients, *European Journal of Cancer*, 1993;29A:, 740–744.
128. OGURA K. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity and its genetic aberrations. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2006; 33: 1041-1048.
129. SAIF MW, Ezzeldin H, Vance K, Sellers S et al. DPYD*2A mutation: the most common mutation associated with DPD deficiency, *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007; 60: 503-507.

130. Schwab M et al. Role of genetic and nongenetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. *J Clin Oncol*, 2008;26(13):2131–2138.

8.Ekler

8.1 Etik Kurul Raporu

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2012/05-28	Tarih: 16.02.2012				
Doç.Dr.Yasemin BASKIN'ın sorumlusu Arsalan AMİRFALLAH'ın yürütücüsü olduğu "Anti Kanser İlaçları Metabolize Eden Enzimlerin Polimorfik Özellikleri" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.						
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Banu ONVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Besti ÜSTÜN (Başkan Yardımcısı)	Ph.D.Yüksek Hemşire	DEU Hemşirelik Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Osman AÇIKGÖZ	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Mehtap MALKOÇ	Ph.D.Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Zuhal BAHAR	Ph.D. Yüksek Hemşire, Halk Sağlığında doktora	DEU Hemşirelik Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Adnan MENDERES	Plastik Cerrahi	DEU Tıp Fakültesi Plastik Cerrahi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Hüseyin BASKIN	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Servet AKAR	İç Hastalıkları (Romatoloji)	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Mukaddes GÜNELİ	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÖTÜK	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.İşıl TEKMEK	Histoloji ve Embriyoloji	DEU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Meltem Kutlu GÜRSEL	Hukuk	D.E.Ü Hukuk Fakültesi İdare Hukuku Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
İhsan ÇELİKDİR	Sağlık mensubu olmayan üye	75. Yıl Özel İlköğretim Okulu Müdür Yrd.	Erkek	E ☐	H ☒	

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

8.2 Özgeçmiş

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Arsalan AMİRFALLAH

Doğum Tarihi: 17.01.1981

T.C. KİMLİK NO: 99925272364

E-POSTA: arsalan.amirfallah@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Birinci	Sağlık Bilimleri Enstitüsü,	Azad Üniversitesi.	2008
Y.Lisans	Veterinerlik Fakültesi	Urumiye Ünitesi	
İkinci	Sağlık Bilimleri Enstitüsü,	Dokuz Eylül Üniversitesi	Sürmekte dir
Y. Lisans	Temel Onkoloji ABD		

STAJ VE İŞ DENEYİMİ

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Stajyer	Urumiye İranmehr pet kılınığı iç hastalıkları bölümü	2006
İş deneyimi	Urumiye İranmehr Pet Kiliniği İç Hastalıkları Bölümü	01.10.2006_01.09.2010

Stajyer	Dokuz Eylül Üniversitesi Moleküler Onkoloji Laboratuvarı	2010
Stajyer	Urumiye Azerbaycan Hastanesi Tibbi Laboratuvarının Patoloji Bölümünde (İmmünohistokimya ve patoloji boyamaları)	2011

PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER

- 1.“Türkiye Popülasyonunda Meme Kanseri Riski Yaratan Genotiplerin Sıklık (Prevalans) ve Etkinliğinin (Penetrance) Saptanması ve Riskli Grubun Popülasyona Özgü Öngörüselle ve Bireysel İzlemine Sağlayacak Bir Prototip Kit Geliştirilmesi”
- 2.Türkiye Popülasyonunda Çocukluk Çağı Solid Tümörlerinin Sağaltımında Kullanılan İlaçları Metabolize Edene Enzim Polimorfizmleri ve Hastalığın Etkin Yönteminde Yardımcı Ulusal Protokollerin geliştirilmesi.
3. Akciğer Kanseri Olgularında EGFR Mutasyonlarının Tespiti ve Kemoterapiyle İlişkisi.
4. Kolorektal Kanselerde *BRAF* Mutasyonlarının Dağılımı.

ULUSLAR ARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA(PROCEEDINGS) BASILAN BİLDİRİLER

1. EACR –Anticancer Agents Reserach Congress,13-16 October 2011(Bildiri)
From Genotype to Tumour Behavior: Colon Malignant Neoplasm

Gökçe Uyanık, Tuğçe Uyanık, Gizem Çalıbaşı, Arsalan Amirfallah, Nurçin Kayacık, Ayşe Özcan Keskin, Yasemin Baskın(poster bildirir)

2. EACR –Anticancer Agents Reserach Congress,13-16 October 2011(poster Bildiri)

KRAS Mutation Status is Associated With Anti- EGFR Therapy Resistance in Metastatic Colorectal Cancer

Tuğçe Uyanık, Gökçe Uyanık, Arsalan Amirfallah, Gizem Çalıbaşı, Ayşe Özcan Keskin , Nurçin Kayacık, Yasemin Baskın

3. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi III.Bilim Şenliği(Onkolojide Güncel Yaklaşımlar Kongresi)(Poster Bildiri)

Bireyselleştirilmiş Tıpta Kolorektal Kanseri Hastalardaki Sağaltımın Planlanmasında KRAS Mutasyonun Yeri

Sinan ÇİÇEK, Kübra BAĞCI, Merve DOĞAN, Arsalan Amirfallah, Gizem ÇALIBAŞI, Ayla Açıkgöz, Zekiye Altun, Safiye Aktaş, Hülya Ellidokuz, Yasemin BASKIN

4. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi III.Bilim Şenliği(Onkolojide Güncel Yaklaşımlar Kongresi)(Bildiri)

KANSER FARKINDALIĞINI ARTTIRMAYA YÖNELİK YAPILAN ÇALIŞMALARIN ÖNEMİ

Zeynep Nisa KARACA, Ali ÖKSEL, Görkem ATASOY, Atabek ASLAN, Arsalan AMİRFALLAH, Gizem ÇALIBAŞI,Ayla AÇIKGÖZ,Zekiye ALTUN.Safiye AKTAŞ, Hülya ELLİDOKUZ, Yasemin BASKIN

5. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi III.Bilim Şenliği (Onkolojide Güncel

Yaklaşımlar Kongresi) (Bildiri) KOLOREKTAL KANSERLERDEKİ KRAS MUTASYONLARININ SAĞALTIMA ETKİSİ

Merve DOĞAN, Sinan ÇİÇEK, Kübra BAĞCI, Arsalan Amirfallah, Gizem ÇALIBAŞI, Ayla Açıkgöz, Zekiye Altun, Safiye Aktaş, Hülya Ellidokuz, Yasemin BASKIN

6. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi III.Bilim Şenliği(Onkolojide Güncel

Yaklaşımlar Kongresi) (Bildiri) Kolorektal Karsinomlu Hastada KRAS Mutasyon Analizleri ile Bireyselleştirilmiş Sağaltım Kararı

Kübra BAĞCI, Merve DOĞAN, Sinan ÇİÇEK, Arsalan Amirfallah, Gizem ÇALIBAŞI, Ayla AÇIKGÖZ, Zekiye ALTUN, Safiye AKTAŞ, Hülya ELLİDOKUZ, Yasemin BASKIN

7. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi III.Bilim Şenliği(Onkolojide Güncel

Yaklaşımlar Kongresi)(Bildiri) TÜRKİYE'DE KANSER VE ÇEVRE İLİŞKİSİ

Salum Uledi SALUM, Arsalan AMİRFALLAH, Gizem ÇALIBAŞI, Ayla AÇIKGÖZ, Safiye AKTAŞ, Hülya ELLİDOKUZ, Yasemin BASKIN

8.V. Özel Çalışma Modülü (ÖÇM) Sempozyumu, DEU Tıp Fakültesi, İzmir 23.09.2011.

KOLOREKTAL KANSERLERDEKİ KRAS MUTASYONLARININ SAĞALTIMA ETKİSİ

Merve DOĞAN, Sinan ÇİÇEK, Kübra BAĞCI, Arsalan Amirfallah, Gizem ÇALIBAŞI, Ayla Açıkgöz, Zekiye Altun, Safiye Aktaş, Hülya Ellidokuz, Yasemin BASKIN

9. Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Prevantif Onkoloji Anabilim Dalı tarafından düzenlenen BİRİNCİ BASAMAK HEKİMLERİNE YÖNELİK KANSER HASTALIKLARI KURSU,17_18 Mart 2011

10. ORGANIZATION FOR phd EDUCATION IN BIOMEDICINE AND HEALTH SCIENCES,in recognition of contribution to the 6th Opheus Conference 27_30 April 2011 İzmir,Turkey

11. Akciğer kanserinde tartışmalı konular sempozyumu, 23/12/2011 - 24/12/2011

İZMİR (MERKEZ)

KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTILAR ve KURSLAR

- 1.Ulusal Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp kongresi,Akım Sitometri Kursu 10Şubat 2011
İzmir Sheraton Çeşme Hotel
- 2.Dokuz Eylül Üniversitesi HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU tarafından
düzenlenen 80 saatlik Deney Hayvanı Kullanımı sertifika kurs programına katılım
- 3.Dokuz Eylül Üniversitesi ARGE tarafından düzenlenenPROTEOMİK :Temel bilgiler ve
uygulama örnekleri konulu seminere katılımcı olarak.
- 4.Dokuz Eylül Üniversitesi SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ tarafından31 Mayıs_03 Haziran
2011 de düzenlenen KANSER BİYOLOJİSİNDE GÜNCEL KONULAR teorik kursuna
katılımcı olarak.

UYGULADIĞI YÖNTEMLER

1. Genel Patoloji Teknikleri
2. Hücre Kültürü Teknikleri: Hücre hattı, kök hücre, Xcelligence sitotoksik deneyler
3. Moleküler Teknikler: DNA-RNA izolasyon teknikleri, PCR, RT-PCR
4. Laboratuar Güvenliği ve Laboratuar Kalite Kontrolü ile ilgili Çalışmalar
5. İmmünohistokimya Teknikleri