

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MESANE KANSERLİ HASTALARDA SRD5A2
POLİMORFİZMİNİN DUTASTERİD YANITINA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Canet İNCİR

ORCID: 0000-0002-6298-8419

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR
EKİM 2022

TEZ KODU: 10501516

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MESANE KANSERLİ HASTALARDA SRD5A2
POLİMORFİZMİNİN DUTASTERİD YANITINA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Canet İNCİR

ORCID: 0000-0002-6298-8419

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR
EKİM 2022

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MESANE KANSERLİ HASTALARDA SRD5A2
POLİMORFİZMİNİN DUTASTERİD YANITINA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Canet İNCİR

ORCID: 0000-0002-6298-8419

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yeşim TUNÇOK

Bu araştırma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
(TÜBİTAK) tarafından 217S075 proje numarası ile desteklenmiştir

İZMİR

EKİM 2022

T.C. DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ'NE
ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırlayıp sunduğum “Mesane Kanseri Hastalarda SRD5A2 Polimorfizminin Dutasterid Yanıtına Etkisinin Değerlendirilmesi” başlıklı Tıbbi Farmakoloji Tıpta Uzmanlık tezi içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Canet İncir

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, beni cesaretlendiren, Tıbbi Farmakoloji'nin farklı alanlarında deneyim sahibi olmama ışık tutan, yaptığım işe güvenen ve her zaman arkamda olduğunu hissettiğim, ileriki dönemlerde de atacağım adımlarda örnek alacağım değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Yeşim TUNÇOK'a, tez çalışmamın hazırlanmasında büyük katkısı olan ve bilgisine her zaman danıştığım değerli hocam Prof. Dr. Mukaddes GÜMÜŞTEKİN'e ve uzmanlık eğitimim boyunca destek olup bilgilerini paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşe GELAL, Prof. Dr. Şule KALKAN, Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPIDELER, Doç. Dr. Nil HOCAOĞLU AKSAY ve Doç. Dr. Aylin ARICI' ya teşekkür ederim.

Hem akademi hem de klinik araştırmalar alanında tecrübe edinmemde büyük rolü olan, beni hep yüreklendiren, yürütücüsü olduğu projenin bir parçası olmaktan her zaman gurur duyacağım, bana ve işime yaklaşımı ile farkında olmadan projedeki her görevimi şevkle yerine getirmeme vesile olan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Adil ESEN'e özel teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasında katkıları olan Prof. Dr. Gül ERGÖR ve Prof. Dr. Ozan BOZKURT'a, birlikte çalışmış olmaktan büyük mutluluk duyduğum ve projenin hayatıma kattığı değerli arkadaşlarım Dr. M. Selçuk ÖZER ve Dr. A. Ege SARIKAYA'ya; saha koordinatörümüz Sedef ÖZDEMİR BAŞER'e; tezimin analizlerinde katkısı olan ve her zaman bilgisine danıştığım Dr. Peyda KORHAN ve Prof. Dr. S. Neşe ATABEY'e; etik kurul ile yazışmaların yoğunluğunun bana kattığı en güzel şey olan Fadime ŞAKAR'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birçok anı biriktirdiğimiz, her birini dostum olarak gördüğüm asistan arkadaşlarıma ve Anabilim Dalı sekreterimiz Hülya YAVUZER'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımda olduğu için kendimi çok şanslı hissettiğim, her zaman yanımda olduğunu bildiğim değerli eşim V. Can İNCİR'e; hayatımıza girişi için bilmeden projenin bitişini bekleyip çeyrek akademisyen olan canım kızım Ada İNCİR'e; destekleri ile daima yanımda hissettiğim aileme içten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TABLolar DİZİNİ	I
ŞEKİLLER DİZİNİ	II
SİMGELER VE KISALTMALAR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Farmakogenetik	3
2.2. Farmakovijilans ile İlişkili Temel Kavramlar	5
2.2.1. Advers Olay	5
2.2.2. Advers Reaksiyon	5
2.2.3. Beklenmeyen advers reaksiyon	6
2.2.4. Ciddi Advers Olay veya Reaksiyon	6
2.2.5. Sinyal	6
2.2.6. Advers Olaylar ve Bildirimleri	6
2.3. Dutasterid	7
2.3.1. Dutasterid'in Farmakokinetik Özellikleri	7
2.3.2. Dutasterid İle İlişkilendirilen Advers Etkiler	8
2.4. 5-alfa Redüktaz Enzimi	8
2.5. SRD5A2 Geni ve Polimorfizmleri	9
2.6. Mesane Kanseri	11
2.6.1. Epidemiyoloji	11
2.6.2. Risk Faktörleri	12
2.6.3. Tanı ve Evreleme	13
2.6.4. Tedavi	15
2.6.5. EORTC (The 2006 European Organisation for Research and Treatment of Cancer, 2006 Avrupa Kanseri Araştırmaları ve Tedavi Organizasyonu) Risk Grubu Sınıflaması	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Araştırma Tasarımı	17
3.2. Araştırma Popülasyonu	18
3.2.1. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması	18

3.3. Araştırmanın Süresi -----	19
3.4. Çalışmaya Alma Ölçütleri-----	19
3.5. Çalışmadan Dışlama Ölçütleri -----	19
3.6. Faz 2 Klinik Çalışmanın Amaç ve Hedefleri, Sonlanım Noktaları -----	20
3.7. Faz 2 Klinik Çalışmadaki Araştırma Ürünleri -----	21
3.7.1. BCG İmmünoterapisi Protokolü-----	21
3.7.2. Dutasterid Tedavisi Protokolü -----	22
3.8. Örnek Toplama Yöntemi -----	22
3.9. Veri Toplama Yöntemi -----	23
3.10. Farmakogenetik Analiz Yönerisi -----	23
3.11. Verilerin Değerlendirilmesi-----	25
3.11.1. Hasta Gönüllülerin SRD5A2 genindeki V89L (rs523349) ve A49T (rs9282858) Polimorfizmlerinin Saptanması ve Hastalık Nüks Oranları ile İlişkisinin Araştırılması	25
3.11.2. Advers Olayların Saptanması ve Dutasterid ile Nedensellik İlişkisinin Kurulması -----	26
3.12. İstatistiksel Analiz -----	27
3.13. Etik İlkeler -----	27
4. BULGULAR -----	29
4.1. Faz 2 Klinik Çalışma ile İlgili Bulgular -----	29
4.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gönüllülerin Demografik Özellikleri -----	29
4.1.2. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gönüllülerin BCG Uygulanması ve Dutasterid Kullanım Özellikleri -----	33
4.1.3. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gönüllülerin İzlem Bulguları-----	34
4.1.4. Faz 2 Çalışmanın Birincil Amacı Açısından Değerlendirme -----	37
4.1.5. Faz 2 Çalışmanın İkincil Amaçları Açısından Değerlendirme-----	39
4.1.5.1. Orta ve Yüksek Riskli Mesane Kanseri Tedaviye Eklenen Dutasteridin Progresyonu Azaltmadaki Etkililiğinin Araştırılması -----	39
4.1.5.2. Androjen Reseptörü Ekspresyonu ile BCG+Dutasterid Tedavisinin Etkililiği Arasındaki İlişkinin Saptanması -----	40
4.1.5.3. Doku/ İdrar Mikrobiyotasındaki Özelliklerin Kansere Patogenezi Üzerindeki Rolünün Araştırılması -----	40
4.1.5.4. Mesane Kanseri Tanısı Olan ve Olmayan Hastaların (Protokol değişikliğiyle gözlemsel bir çalışma kapsamında kontrol grubu eklenmiştir) Androjen Reseptörü Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması, Olası İlişkinin Saptanması -----	40
4.2. SRD5A2 Genindeki V89L ve A49T Polimorfizmlerinin Dutasteridin Etkililiği ve Güvenliliği Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi -----	41

4.2.1. Genomik DNA İzolasyonu Bulguları	41
4.2.2. V89L (rs523349) Polimorfizminin Saptanması	42
4.2.3. A49T (rs9282858) Polimorfizminin Saptanması	44
4.3. Çalışma Sırasında Gözlenen Advers Olaylar	48
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR	63
8. EKLER	67
8.1. Ek-1: Nedensellik Değerlendirme Araçları	67
8.1.1. Ek-1a: Liverpool Nedensellik Değerlendirme Aracı (Liverpool Causality Assessment Tool, LCAT)	67
8.1.2. Ek-1b: Naranjo Yöntemi	80
8.1.3. Ek-1c: Dünya Sağlık Örgütü- Uppsala İlaç İzlem Merkezi Nedensellik Değerlendirme Sistemi [World Health Organization- Uppsala Monitoring Centre (WHO-UMC) Causality Assessment System]	69
8.2. Ek-2: Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI_CTCAE) 5.0	72
8.3. Ek-3: Advers Reaksiyon Saptanan Olgularda Nedensellik Ölçeklerinin Uygulanmasına İlişkin Örnek	75
8.3.1. LCAT, WHO-UMC Nedensellik Değerlendirme Sistemi ve Naranjo Yöntemi' ne Göre "Olanaklı (Possible)" Nedensellik İlişğine Sahip Bir İdrar Yolu Enfeksiyonu Olgusu	75

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. SRD5A2 geninde aminoasit yer değiştirme (substitution) sıklıkları ve Vmax değerleri -----	10
Tablo 2. Mesane kanseri TNM patolojik evrelemesi -----	13
Tablo 3. EORTC risk grubu sınıflaması-----	15
Tablo 4. Araştırma planı -----	18
Tablo 5. BCG immünoterapisi protokolü -----	22
Tablo 6. SRD5A2 genindeki V89L ve A49T SNP'lerinin erişim numarası (SNP ID), primer Dizileri, kromozom 2 üzerindeki konumu, allel ve genotipleri -----	25
Tablo 7. Hasta gönüllülerin demografik özellikleri -----	29
Tablo 8. Hasta gönüllülerin çalışmaya alınma anında mesane kanseriyle ilgili klinik ve patolojik parametreleri -----	31
Tablo 9. Çalışma popülasyonunun dutasterid kullanım özellikleri -----	34
Tablo 10. Mesane kanserli hasta gönüllülerin 3 ayda bir yapılan izlemlerdeki durumları-----	35
Tablo 11. İzlemlerde nüks saptanan hasta gönüllülerde mesane kasına invazyon durumu -----	37
Tablo 12. Nüks saptanan ve saptanmayan hastaların demografik, klinik ve patolojik bulguları -----	38
Tablo 13. İzole edilen genomik DNA'ların konsantrasyonları ve saflık değerleri -----	41
Tablo 14. V89L polimorfizmi (rs523349) ve hasta gönüllülerin genotipleri-----	43
Tablo 15. A49T polimorfizmi (rs9282858) ve hasta gönüllülerin genotipleri -----	46
Tablo 16. TT,TC ve CC genotipleri ile nüks, patolojik tanı, tümör evresi, tümör derecesi, EORTC risk grubu, advers olay ve ciddi advers olay varlığı ilişkisi -----	47
Tablo 17. Çalışma sırasında gözlenen advers olaylar-----	49
Tablo 18. Çalışma sırasında gözlenen advers olayların Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI-CTCAE) 5.0' a göre derecelendirilmesi -----	50
Tablo 19. Seçilen olguda idrar yolu enfeksiyonu ve dutasterid kullanımı arasındaki nedensellik ilişkisinin “Naranjo Yöntemi” ne göre değerlendirilmesi -----	76
Tablo 20. Seçilen olguda idrar yolu enfeksiyonu ve dutasterid kullanımı arasındaki nedensellik ilişkisinin “WHO-UMC Nedensellik Değerlendirme Sistemi”ne göre değerlendirilmesi -----	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Farmakogenetik ve farmakogenomik arasındaki farklılıklar -----	5
Şekil 2. Faz 2 klinik çalışma ve gözlemsel çalışma tasarımı -----	17
Şekil 3. TaqMan MGB Prob Sistemi'yle seçici bağlanmanın allelik diskriminasyonu nasıl sağladığının gösterilmesi -----	25
Şekil 4. Çalışmaya dahil edilen 23 hasta gönüllünün çalışmayı tamamlama durumları-	35
Şekil 5. V89L alleli (rs523349)'nin saptanması -----	43
Şekil 6. A49T alleli (rs9282858)'nin saptanması-----	45
Şekil 7. Seçilen olguda idrar yolu enfeksiyonu ve dutasterid kullanımı arasındaki nedensellik ilişkisinin “Liverpool Nedensellik Değerlendirme Aracı”na göre değerlendirilmesi -----	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

AR: Androjen Reseptörü

AR-FL: Androjen Reseptörü Full-Length (Tam Uzunlukta)

AR-V7: Androjen Reseptörü Splice Varyant 7

AUA: American Urological Association (Amerikan Üroloji Derneği)

BCa: Bladder Cancer (Mesane Kanseri)

BCG: Bacillus Calmette-Guérin

BPH: Benign Prostat Hiperplazisi

COVID-19: Coronavirus Disease-19 (Koronavirüs hastalığı-19)

CYP: Sitokrom

EAU: European Association of Urology (Avrupa Üroloji Derneği)

EORTC: The 2006 European Organisation for Research and Treatment of Cancer (2006 Avrupa Kanseri Araştırmaları ve Tedavi Organizasyonu)

DHT: Dihidrotestosteron

DNA: Deoksiribonükleik Asit

GLOBOCAN: Global Cancer Observatory (Küresel Kanseri Gözlem)

mRNA: Messenger (Mesajcı) RNA

KİOMK: Kasa İnvaze Olmayan Mesane Kanseri

KİS: Karsinoma İn Situ

LCAT: Liverpool Causality Assessment Tool (Liverpool Nedensellik Değerlendirme Aracı)

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NCI CTCAE: National Cancer Institute- Common Terminology Criteria for Adverse Events (Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri)

NFQ: Nonfluorescent quenchers (Nonfloresan söndürücü molekül)

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SD: Standart sapma

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)

SRD5A1: Steroid 5-alfa redüktaz 1

SRD5A2: Steroid 5-alfa redüktaz 2

SRD5A3: Steroid 5-alfa redüktaz 3SRD

TUR: Trans Üretral Rezeksiyon

TİTCK: Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

TNM: Tümör, Nod, Metastaz

TÜBİTAK: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu

TÜFAM: Türkiye Farmakovijilans Merkezi

UICC: The Union of Cancer Control (Kanser Kontrol Birliği)

WHO-UMC: World Health Organization- Uppsala Monitoring Centre Dünya Sağlık Örgütü-Uppsala İlaç İzlem Merkezi

MESANE KANSERLİ HASTALARDA SRD5A2 POLİMORFİZMİNİN DUTASTERİD YANITINA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tıpta Uzmanlık Tezi

Canet İNCİR

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Etkisini testosteronu dihidrotestosterona dönüştüren 5-alfa redüktaz enziminin hem tip-1 hem tip-2 izoenzimini inhibe ederek gösteren dutasterid, oral yoldan kullanılan bir ilaçtır. 5-alfa redüktaz enzimini kodlayan *SRD5A2* geninde en sık görülen varyasyonlar olan V89L (rs523349) ve A49T (rs9282858) polimorfizmlerinin enzim aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Çalışmanın amacı, bir faz 2 klinik araştırma kapsamında dutasterid tedavisi alan mesane kanserli hasta gönüllülerin *SRD5A2* genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin, dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır.

22 hasta gönüllüden alınan kan örneklerinden DNA'lar izole edilerek polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kuruldu. TaqMan SNP Genotyping Assay sistemi kullanılarak DNA'lardaki tek nükleotid polimorfizmleri çoğaltılarak saptandı. Analizler, Applied Biosystems Instruments 7500 Fast Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems™) PCR cihazı, TaqMan Genotype Software Version 1.6.0 (Applied Biosystems™) ve Microsoft Excel programları kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma süresince saptanan advers olayların dutasterid ile nedensellik ilişkisi ve şiddeti değerlendirildi. Tüm istatistiksel analizler, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Inc., Chicago IL), sürüm 22, Windows yazılımı ile yapıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SRD5A2 genindeki V89L polimorfizmi açısından tüm hasta gönüllüler homozigot GG (%100); A49T (rs9282858) polimorfizmi açısından 22 hasta gönüllünün 11'i heterozigot TC (% 50), 9'u homozigot TT (% 40.9), 1'i homozigot CC (% 4.5) olarak saptandı. A49T polimorfizminin farklı genotipleri ile hastalık nüksü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.715$). Hiçbir hasta gönüllüde dutasterid ile nedensellik ilişkisi kurulan advers reaksiyon gelişmedi.

Çalışmamız, *SRD5A2* genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin mesane kanserli hastalardaki sıklığını ortaya koyan ve mesane kanseri nüksü ile ilişkisini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır. İlgili polimorfizmlerin dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkisinin ortaya konması için daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip ve kontrol grubunun da dahil edileceği çalışmaların planlanması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Dutasterid, polimorfizm, mesane kanseri, advers ilaç reaksiyonu

Tezin sayfa adedi: 66

Tez danışmanı: Prof. Dr. Yeşim TUNÇOK

EVALUATION OF THE IMPACT OF SRD5A2 POLYMORPHISM ON DUTASTERID RESPONSE IN PATIENTS WITH BLADDER CANCER

Canet INCIR

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE

Division of Medical Pharmacology

ABSTRACT

Dutasteride is an orally administered drug and shows its effect by inhibiting both the type-1 and type-2 isoenzymes of the 5-alpha reductase enzyme which converts testosterone to dihydrotestosterone. It is known that V89L (rs523349) and A49T (rs9282858) polymorphisms, which are the most common variations on the SRD5A2 gene encoding the 5-alpha reductase enzyme, affect the enzyme activity. The aim of the study was to investigate the impact of SRD5A2 gene polymorphisms on the efficacy and safety of dutasteride in patients with bladder cancer receiving dutasteride treatment in a phase 2 clinical trial.

DNAs were isolated from blood samples taken from 22 patients and polymerase chain reaction (PCR) was established. Using the TaqMan SNP Genotyping Assay system, single nucleotide polymorphisms on DNA were detected by amplification. Analyzes were performed using the Applied Biosystems Instruments 7500 Fast Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems™) PCR instrument, TaqMan Genotype Software Version 1.6.0 (Applied Biosystems™) and Microsoft Excel programs. Causal relation between dutasteride use and the adverse events and severity of them was evaluated. All statistical analyzes were performed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Inc., Chicago IL), version 22, Windows software, and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

All patients were homozygous GG (100%) for the V89L polymorphism in the SRD5A2 gene; In terms of A49T (rs9282858) polymorphism, 11 of 22 patients were heterozygous TC (50%), 9 homozygous TT (40.9%), and 1 homozygous CC (4.5%). There was no statistically significant difference between different genotypes of A49T polymorphism and disease recurrence ($p = 0.715$). None of these events were causally related to dutasteride use.

To best of our knowledge, this study is the first to reveal the frequency of V89L and A49T polymorphisms on the SRD5A2 gene of patients with bladder cancer and to investigate its relationship with bladder cancer recurrence. In order to investigate the impact of SRD5A2 gene polymorphisms on the efficacy and safety of dutasteride, studies with much larger sample size and the control group are needed.

Keywords: Dutasteride, polymorphism, bladder cancer, adverse drug reaction

Page number: 66

Advisor: Prof. Dr. Yesim TUNCOK

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Farmakogenetik terimi ilk kez 1950’li yıllarda kullanılmış ve bireyler arasında farklı ilaç etkilerinin görülmesinin önemli ölçüde DNA (Deoksiribo nükleik asit) varyasyonlarına bağlı olduğu fikri ortaya atılmıştır (1). Farmakogenetik, Uluslararası Uyum Konferansı (International Conference of Harmonisation, ICH) tarafından ilaca yanıtı etkileyen DNA sekanslarındaki varyasyonların incelenmesi olarak tanımlanmıştır (2). Farmakogenomik kavramı ise, hasta bireyin DNA’sındaki çoklu varyasyonların anlaşılması ve tedavi şemasına uyarlanması, kısaca, bireye özgü tedavi seçimine rehberlik edecek DNA varyasyonlarının araştırılmasını kapsar. Tedavide ilaç seçiminde farmakogenomik ve diğer genetik faktörlerden yararlanılmasının hasta bakımını iyileştirdiği düşünülmektedir (3).

Rastgele seçilen iki bireyin genomlarının yaklaşık % 0.1 oranında farklılık gösterdiği bilinmektedir. “Polimorfizm” olarak tanımlanan bu farklılık veya varyasyonlar geçirilen mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmi, tek bir nükleotidin başka bir nükleotid ile yer değiştirmesidir. Bu yer değiştirme sonucunda ortaya çıkan polimorfizm, ilacın etki ettiği reseptör veya hücre sinyal yollarında değişikliğe neden olursa, ilaca verilen klinik yanıtı belirleyici önemli bir faktör olmaktadır (4,5).

5-alfa redüktaz enziminin tip-1, tip-2 ve tip-3 olmak üzere 3 izoenzimi bulunmakta ve sırasıyla SRD5A1 (Steroid 5-alfa redüktaz tip 1), SRD5A2 (Steroid 5-alfa redüktaz tip 2) ve SRD5A3 (Steroid 5-alfa redüktaz tip 3) genleri tarafından kodlanmaktadır. 5-alfa redüktaz tip-1 ve tip-2 izoenzimleri farklı dokularda ifade edilen mikrozomal enzimlerdir. Her iki enzim de 5-alfa steroid redüksiyonunu katalize ederek testosteronu daha potent olan dihidrotestosterona dönüştürür (6,7). SRD5A2 geni 2. kromozom p23 konumunda bulunmakta, 254 amino asit, 5 ekzon ve 4 introndan oluşmaktadır. SRD5A2 geninde en sık görülen polimorfizm V89L polimorfizmidir ve 1. ekzonda yer almaktadır. Bu polimorfizmde, valin aminoasidi lösin aminoasidi ile yer değiştirerek 5-alfa redüktaz enziminin aktivitesini azaltır. SRD5A2 geninde sık görülen bir diğer polimorfizm ise alanin aminoasidinin treonin aminoasidi ile yer değiştirmesi sonucu oluşan A49T polimorfizmidir. Bu polimorfizmde ise alanin aminoasidi ile treonin aminoasidi yer değiştirerek 5-alfa redüktaz enzim aktivitesini 5 kat artırmaktadır (7,8).

Dutasterid, 2001 yılında Benign Prostat Hiperplazisi (BPH) olan hastaların tedavisinde kullanımına onay verilen ve oral yoldan kullanılan sentetik bir 4-azasteroid bileşiktir. Etkisini testosteronu dihidrotestosterona dönüştüren 5-alfa redüktaz enziminin hem tip-1 hem tip-2 izoenzimini inhibe ederek gösterir (9). Her iki izoenzimin selektif olmayan inhibisyonu sonucunda serum dihidrotestosteron düzeyinde % 90 oranında azalma gerçekleşir (10).

Mesane kanseri erkeklerde en sık görülen 4. kanser türüdür. İnvaziv olmayan (yüzeysel) tümörlerden agresif seyreden ileri evre tümörlere kadar geniş bir çeşitliliğe sahiptir. İnvaziv olmayan ancak tekrarlayan mesane tümörleri uzun süreli takip gerektirmektedir (11). Olguların yaklaşık %75'inde tümörler kasa invaze olmamıştır ve prognozu iyi seyretmektedir (12,13). Yüzeysel mesane kanserinde intravezikal Bacillus Calmette- Guérin (BCG) tedavisi hem tümör progresyonunu önlemekte hem de nüksün azaltılmasında rol oynamaktadır (14). Yüzeysel mesane kanserinde intravezikal BCG tedavisi en etkili tedavi olarak kabul edilmesine karşın hastalığın nüks ve progresyon oranı hala yüksektir. İntravezikal BCG ile tedavi edilen yüzeysel mesane kanserlerinde nüks oranı %32.6 ile %42.1 aralığında iken progresyon oranı %9.5 ile %13.4 aralığındadır (15).

Tez çalışması, 12.11.2018- 07.10.2019 tarihleri arasında yürütülen, primer ve kasa invaze olmayan orta ve yüksek riskli mesane kanseri tanılı hastalarda standart BCG immunoterapisine eklenen dutasteridin etkililiği ve güvenliliğinin araştırıldığı TÜBİTAK destekli tek kollu, tek merkezli bir Faz 2 klinik araştırma kapsamında gerçekleştirilmiştir. Dutasterid, 5-alfa redüktaz tip 2 enzimini inhibe ederek etki gösteren bir ilaçtır ve enzimi kodlayan gendeki bazı varyasyonların, dutasteridin etkililiği ve güvenliliği ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Tez çalışmasının amacı, hasta gönüllülerde 5-alfa redüktaz tip 2 enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Bu amaçla, hasta gönüllülerden alınan kan örneklerinde SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmleri analiz edilmiş, etkililik ve güvenlilik sonlanım noktalarıyla karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Farmakogenetik

Yakın geçmişte her hastaya sabit bir tedavinin verilmesi yaklaşımından uzaklaşmış ve “doğru ilaç, doğru doz, doğru zaman ve doğru uygulama yolu” yaklaşımı tercih edilmeye başlanmıştır. Bu yeni yaklaşım, hastaların genetik özelliklerinin araştırılması sonucunda elde edilen bilgiler ile cinsiyet ve yaş gibi genetik olmayan özellikler ışığında tedavi seçiminin yapılmasını sağlamaktadır (16,17).

İnsan vücudu ile ilaçlar farmakokinetik ve farmakodinamik olmak üzere iki yönlü bir etkileşime girmektedir. Farmakolojinin en eski ve kapsamlı dallarından olan “farmakokinetik” vücudun ilaca yaptığını, “farmakodinamik” ise ilacın vücuda yaptığını incelemektedir. Vücuda alınmış olan bir ilaca öncelikle vücudun bir tepki vermesi gerekmektedir. Farmakokinetik olarak adlandırılan bu tepki ilacın emilimi, dağılımı, biyotransformasyonu ya da metabolizması ve eliminasyonu gibi birçok adımdan oluşmaktadır. Farmakokinetik aktivitenin genellikle ilaç metabolizmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genler gibi özel genler tarafından kontrol edildiği bilinmektedir. Bu genlerde ortaya çıkan genetik varyasyonlar vücudun ilaca verdiği tepkide değişikliklere yol açmaktadır. İlacın vücuda verdiği tepki ise farmakodinamik olarak adlandırılmaktadır. İlacın hedefe afinitesi, hedefini modüle etme yeteneği, potensi ve hedefte değişikliğe neden olacak miktar gibi özelliklerinin de genetik kontrole sahip olduğu belirtilmektedir (18,19).

İlk kez 1950’li yıllarda ortaya çıkan “Farmakogenetik” terimi, ilaçların etkisinin bireyden bireye farklılık göstermesinde birseysel DNA farklılıklarının önemli rol oynadığı fikrini kapsamaktadır (1).

Dünya üzerinde rastgele seçilen iki bireyin DNA’sının yaklaşık olarak % 0.1 oranında farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Bu bireysel DNA farklılıklarına “polimorfizm” denilmektedir. Guanin, sitozin, timin ve adenin DNA üzerindeki dört bazı oluşturmaktadır. Adenin timin ile, guanin ise sitozin ile karşılıklı eşleşmektedir. Her 1000 baz çifti eşleşmesinde bir yanlış eşleşmeler gözlenmektedir. Tek bir

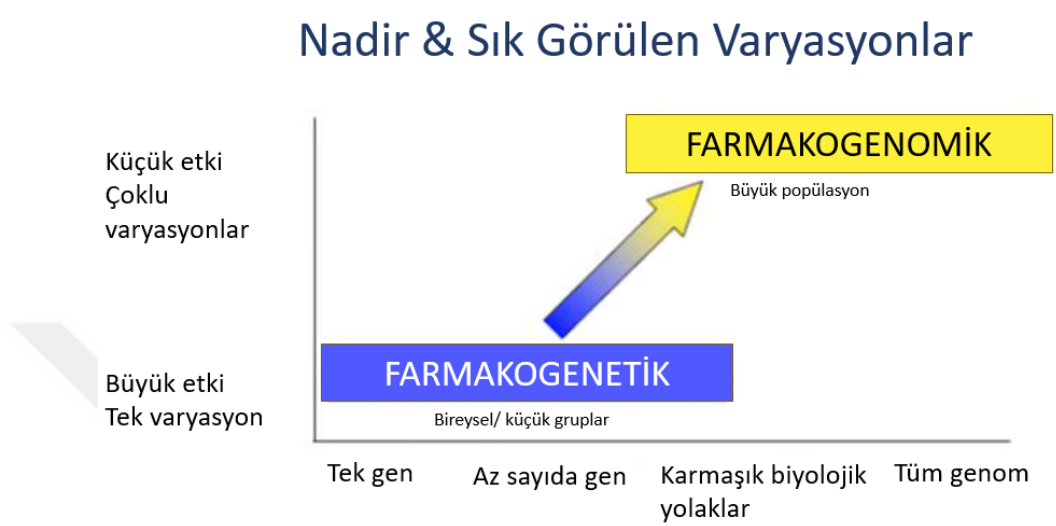
nükleotidin başka bir nükleotidle yanlış eşleşmesi popülasyonun en az % 1'inden farklılık gösteriyorsa buna tek nükleotid polimorfizmi denilmektedir. Son yıllarda gelişen teknolojinin de yardımıyla belirli hedef genlerdeki genetik polimorfizmlerle birlikte enzim, iyon kanalı ya da reseptörleri kodlayan genlerdeki sekanslar ve tek nükleotid polimorfizmleri analiz edilebilmektedir (3-5).

Enzimleri kodlayan genlerdeki herhangi bir polimorfizmin enzim etkinliğini değiştirebileceği bilinmektedir. Polimorfizmlerin zararlı bir etkisi olabileceği gibi yararlı bir etkisi olabilir veya hiçbir etkisi olmayabilir. Bazı polimorfizmlerin ise belirli kanser türlerinin riskini artırdığı gösterilmiştir (4). Belirli bir gen lokusunda hem anneden hem babadan gelen allelerin aynı olması homozigot genotip, farklı olması heterozigot genotip olarak tanımlanmaktadır (20-22). Polimorfizmler çoğunlukla tek nükleotid değişimine bağlı ortaya çıkmaktadır.

Farmakogenetik bireyin DNA'sında tek bir varyasyonu incelerken farmakogenomik, bireyin DNA'sındaki çoklu varyasyonların anlaşılmasını kapsamaktadır (Şekil 1) (3,23). Bireyin DNA'sında doğumdan itibaren bulunan herediter mutasyonlar tüm vücutta saptanabilmekte ve kalıtım yolu ile aktarılmaktadır. Farmakogenomik test ile tedavi seçiminin advers etki riski ve tedaviye yanıt alınmama riski olan ilaçları tanımlama, bazı ilaçların dozlarını öngörmeye rol oynama gibi avantajları var iken tüm veya belirli advers etkileri öngörme ya da ileride tanımlanabilecek hastalıklar gibi konularda belirleyici olmadığı vurgulanmaktadır (3).

İlaç metabolizmasındaki farklılıklar konusunda günümüze kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Reseptörler, enzimler ya da iyon kanalları gibi ilacın hedef molekülündeki değişiklikler, advers ilaç etkilerinin araştırılması ve ilacın uygun olmayan hedef moleküller ile etkileşime girmesi ya da uygun olmayan bağışıklık yanıtına neden olması farmakogenetik biliminin araştırma alanlarındandır. Güncel araştırma alanlarından olan kişiselleştirilmiş tıp ve farmakogenetik birbirine yakın anlamlı terimler olsalar da kişiselleştirilmiş tıp genetik olmayan faktörleri de kapsamaktadır. Bununla birlikte, farmakogenetiğin kişiselleştirilmiş tıp alanı için önemli bir bileşen olduğu bilinmektedir. Farmakogenetik test rehberliği günümüzde psikiyatri, kardiyojoloji ve ağrı yönetimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Mevcut farmakogenetik bilgilerinin daha verimli kullanılmasına ek olarak, genomik alandaki

gelişmelerden elde edilecek veriler karmaşık hastalıklar için genetik risk faktörlerinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Saptanabilen yeni risk faktörleri, var olan ya da yeni keşfedilecek ilaç molekülleri için yeni terapötik hedefler olarak kullanılabilecektir (24).



Şekil 1. Farmakogenetik ve farmakogenomik arasındaki farklılıklar

2.2. Farmakovijilans ile İlişkili Temel Kavramlar

2.2.1. Advers Olay

Advers olay, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu’nda “Uygulanan tedavi veya araştırma ürünü ile nedensellik ilişkisi olsun veya olmasın gönüllüde ortaya çıkan istenmeyen tüm tıbbi olaylar” olarak tanımlanmaktadır. (25).

2.2.2. Advers Reaksiyon

Advers reaksiyon, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu’nda “Yeni bir tıbbi ürün veya tıbbi ürünün yeni kullanımlarına ilişkin ruhsatlandırma öncesi klinik araştırmalarda, özellikle tedavi amaçlı dozlar henüz belirlenmemiş olabileceğinden, tıbbi ürünün bu durumu da dâhil olmak üzere herhangi bir dozuyla mantıklı bir nedensel ilişkiye sahip olarak değerlendirilen bütün advers olaylar” olarak tanımlanmaktadır. Mantıklı nedensel ilişki ise aynı kılavuzdaki

tanımıyla nedensel bir ilişki öne sürmek için bir kanıt veya bir görüş olduğunu ifade etmek için kullanılmaktadır (25).

2.2.3. Beklenmeyen Advers Reaksiyon

Beklenmeyen advers reaksiyon, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu' nda "Niteliği, şiddeti veya sonucu referans güvenlilik bilgileri ile tutarlı olmayan her türlü ciddi advers reaksiyon" olarak tanımlanmaktadır (25).

2.2.4. Ciddi Advers Olay veya Reaksiyon

Ciddi advers olay veya reaksiyon, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu' nda "Ölüme, hayati tehlikeye, hastanede yatmaya veya hastanede kalma süresinin uzamasına, kalıcı veya önemli bir sakatlığa ya da maluliyete, doğumsal anomaliye veya kusura neden olan advers olay ya da reaksiyon" olarak tanımlanmaktadır (25).

2.2.5. Sinyal

Sinyal, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu İyi Farmakovijilans Uygulamaları Kılavuzu' nda "Gözlemler ve deneyler de dahil olmak üzere bir veya birden fazla kaynaktan alınan, bir müdahale ile bir veya birden fazla olay arasında olumlu ya da olumsuz olası yeni bir nedensellik ilişkisi bulunduğunu ya da bilinen bir nedensellik ilişkisinin yeni bir boyut kazandığını düşündüren ve doğrulayıcı işlem gerektiren bilgiler" olarak tanımlanmaktadır (26).

2.2.6. Advers Olaylar ve Bildirimleri

Günümüzde hastalarda ortaya çıkan tüm advers olayların sağlık sistemine mali yük oluşturduğu ve bu advers olayların büyük bir çoğunluğunun ilaç kaynaklı olduğu bilinmektedir (27). Bu nedenle advers olayların tanınması, sınıflandırılması, kayıt altına alınması ve doğru zamanda ve doğru şekilde bildirilmesi, advers olayların etkilerinin belirlenebilmesi için önem taşımaktadır (16).

2.3. Dutasterid

Dutasterid, 2001 yılında ruhsatlanan bir 5-alfa redüktaz inhibitörü ilaçtır. Oral yoldan kullanılan sentetik bir 4-azasteroid bileşigidir. 5-alfa redüktaz enziminin hem tip 1 hem de tip 2 izoenzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak testosteronun NAPDH-bağımlı redüksiyon ile dihidrotestosterona dönüşümünü inhibe ederek etki göstermektedir. Bu dönüşümün engellenmesi sonucunda serum dihidrotestosteron düzeyinde yaklaşık % 90 oranında azalma gerçekleşmektedir. Bununla birlikte bir başka 5-alfa redüktaz inhibitörü olan finasterid ile kıyaslandığında dutasteridin 5-alfa redüktaz tip 1 enzime karşı potensi 40- 60 kat, 5-alfa redüktaz tip 2 enzime karşı potensi ise 2.5 kat daha yüksektir (9,10).

2.3.1. Dutasterid'in Farmakokinetik Özellikleri

Dutasteridin oral biyoyararlanımı yaklaşık % 60 (% 40-90 aralığında) oranındadır. Oral alımı takiben hızlı absorbe edilir ve 2-3 saat içerisinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır.

Vücutta dağılım hacmi 300-500 L aralığındadır. Geniş dağılım hacmine sahip dutasterid, santral ve periferik kompartmanlara (semen dahil) dağılmaktadır. Proteinlere (albumin ve alfa-1 asit glikoprotein) % 99 oranında bağlanmaktadır.

Dutasterid, büyük oranda karaciğerde metabolize edilmektedir. Metabolizmasından sorumlu temel sitokrom enzimi sitokrom (CYP) 3A4'tür. Üç majör ve iki minör metaboliti serumda tespit edilebilmektedir. Majör metabolitlerinden olan 6-beta-hidroksidutasterid aktif bir metabolittir ve dutasteride benzer etkisi bulunmaktadır. 4-hidroksidutasterid ve 1,2-dihidroductasterid diğer majör metabolitleri arasındadır ancak aktivitelerinin çok daha düşük olduğu belirtilmektedir. Yaklaşık % 45'i (% 5'i değişmeden, % 40'ı metabolitleri olarak) feçesle, % 1' den azı ise değişmeden idrar yolu ile atılır (28,29).

Dutasteridin eliminasyonu doza bağımlıdır. Yüksek plazma konsantrasyonlarında (>1mg/ gün) lineer kinetik ana eliminasyon yolu iken düşük konsantrasyonlarda (<3 ng/ mL) hem lineer hem de nonlinear kinetik ile elimine edilmektedir. Düzenli olarak günde 0.5 mg dutasterid kullanımında lineer kinetik

baskın eliminasyon yolu olmaktadır. Toplam klirensi 0.6 L/ saat'tir. Dutasteridin yarılanma ömrü 3-5 haftadır (29,30).

2.3.2. Dutasterid ile İlişkilendirilen Advers Etkiler

Dutasterid, iyi tolere edilebilen bir ilaçtır. Dutasterid kullanımına bağlı gözlenen advers etkiler arasında en sık ejakülasyon problemleri (% 7.8), erektil disfonksiyon (% 0.3- 12) ve azalmış libido (% 4.5) gibi cinsel işlev bozuklukları vardır. Ayrıca, Faz 3 ve uzatma çalışmalarında plasebo verilen hasta grubu ile karşılaştırıldığında dutasterid verilen hasta grubunda jinekomasti görülme sıklığında artış (yıllık % 1.0- 1.9) gözlemlendiği belirtilmektedir. Gözlenen advers etkilerden erektil disfonksiyon ve jinekomastinin hasta gönüllülerin % 1'inden azında tedaviyi sonlandırmayı gerektirecek advers etki olarak değerlendirildiği raporlanmaktadır (31-33).

Dutasterid kullanımı sırasında gözlemlendiği bildirilen advers etkiler ve insidansları aşağıda özetlenmektedir:

- Kardiyovasküler etkiler: Kalp yetmezliği % 0.1- 0.6
- Endokrin/ Metabolik etkiler: Meme dokusu hastalıkları % 0.5- 1.2
- Nörolojik etkiler: Baş dönmesi % 1.1
- Üreme sistemi etkileri: Ejakülasyon problemleri % 7.8, erektil disfonksiyon % 0.3- 12, azalmış libido % 4.5, prostat kanseri % 1

Dutasterid kullanımına bağlı bildirilen ciddi advers etkiler arasında ise kutanöz hipersensitivite, hipersensitivite reaksiyonları ve anjioödem bulunmaktadır (18).

Dutasterid tedavisinin özellikle 3- 6. aylarında total serum prostat spesifik antijen (PSA) düzeyinin yaklaşık % 50 oranında azaldığı belirtilmektedir. 0.5 mg/ gün dozunda 52 haftalık dutasterid tedavisi alan hastalarda total sperm sayısı, semen volümü ve sperm motilitesinin azaldığı raporlanmaktadır (28,31,34).

2.4. 5-alfa Redüktaz Enzimi

5-alfa redüktaz (5 α -RD) enzimi dihidrotestosterona dönüştüren reaksiyonu katalize etmektedir. Tanımlanmış 3 izoenzimi (5 α -RD 1, 5 α -RD 2 ve 5 α -RD-3) bulunmaktadır. Tüm izoenzimler testosteron, progesteron, kortizol ve aldosteron gibi

steroidlerin geri dönüşümsüz redüksiyonunu katalize etmektedir. Bu reaksiyonda NADPH kofaktör olarak kullanarak karbon 4 ve karbon 5 arasındaki çift bağ geri dönüşümsüz olarak parçalanmakta ve karbon 5'e hidrid anyonu eklenmektedir. 5-alfa redüktaz izoenzimleri farklı dokularda eksprese edilir ve farklı metabolik yollarda rol almaktadır (7,8).

5 α -RD 1 enzimi 5. kromozom p15 konumunda bulunan ve beş ekzon dört introndan oluşan steroid 5-alfa redüktaz tip 1 (SRD5A1) geni tarafından kodlanmaktadır. Enzim 259 aminoasitten oluşmakta ve 29.5 kDa moleküler ağırlığa sahiptir. Doğumdan önce fetal skalp dokusunda, doğumdan sonra ise karaciğer, skalp, deri ve prostat dokusunda ifade edilmektedir (7,8,35,36).

5 α -RD 2 enzimi 2. kromozom p23 konumunda bulunan ve beş ekzon dört introndan oluşan steroid 5-alfa redüktaz tip 2 (SRD5A2) geni tarafından kodlanmaktadır. Enzim 254 aminoasitten oluşmakta ve 28.4 kDa moleküler ağırlığa sahiptir. Doğumdan önce fetal protsat dokusunda, doğumdan sonra ise prostat, seminal veziküller, epididim ve karaciğer dokusunda ifade edilmektedir (7,8,35,36).

Yakın zamanda keşfedilen bir izoenzim olan 5 α -RD 3 enzimi ise 2. kromozom q12 konumunda bulunan steroid 5-alfa redüktaz tip 3 (SRD5A3) geni tarafından kodlanmaktadır. Enzim 318 aminoasitten oluşmaktadır (7,8,35,36).

2.5. SRD5A2 Geni ve Polimorfizmleri

5-alfa redüktaz tip 2 enzimini kodlayan *SRD5A2* genindeki varyasyonların enzimin aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Makridakis ve arkadaşları *SRD5A2* geninde V89L, A49T, A51T, C5R, F194L, F234L, P30L, P48R, R227Q ve T187M varyasyonlarını tanımlamıştır. Tanımlanan varyasyonların büyük çoğunluğunun 5-alfa redüktaz enzim aktivitesini (V_{max}) azalttığı belirtilmektedir. Tanımlanan varyasyonlar arasında en sık gözlenenlerin V89L (rs523349) ve A49T (rs9282858) polimorfizmleri olduğu (sıklıkları sırasıyla % 32.5, % 2), V89L ve A49T polimorfizmi dışındaki varyasyonların sıklığının % 2'den az olduğu belirtilmektedir (Tablo 1, 37).

Tablo 1. SRD5A2 geninde aminoasit yer değiştirme (substitution) sıklıkları ve Vmax değerleri

Yer değiştirme	Sıklık (Allel/ kromozom; %)	V max (Normal aralık 1.7-2.2, ortalama 1.9)
C5R	5/428 (1.2)	1.8
P30L	1/428 (0.2)	0.5
P48R	2/428 (0.5)	1.2
A49T	26/1308 (2.0)	9.9
A51T	1/428 (0.2)	1.1
V89L	93/286 (32.5)	1.1
T187M	3/1086 (0.3)	0.8
F194L	1/960 (0.1)	2.2
R227Q	5/1086 (0.5)	0.006
F234L	3/1104 (0.3)	1.4

SRD5A2 genindeki V89L (rs523349) ve A49T (rs9282858) polimorfizmlerinin, dutasteridin etkililiği ve güvenliliği ile ilişkili olduğu raporlanmaktadır (38,39). Polimorfizmlerin enzim aktivitesinde değişikliğe neden olarak dihidrotestosteron düzeylerini etkileyebileceği, dolaylı olarak da prostat kanseri riskinin öngörülmesinde rol alabileceği vurgulanmaktadır (40).

SRD5A2 genindeki A49T (rs9282858) polimorfizminin 5-alfa redüktaz tip II enzim aktivitesini yaklaşık 5 kat artırdığı, V89L (rs523349) polimorfizminin enzim aktivitesini % 40 oranında azalttığı, her iki polimorfizme sahip olanlarda ise enzim aktivitesinin yaklaşık 1.5 kat arttığı saptanmıştır (30,31).

A49T polimorfizmine sahip bireylerde, 5-alfa redüktaz enzim aktivitesininin 5 kat artması nedeniyle, dihidrotestosteron (DHT) üretiminin artması ve androjen reseptörünün (AR) uyarılması beklenmektedir. Bu polimorfizme sahip hastalarda olası bir androjen yolağıyla ilişkili kanserlerin progresyonu ve nüks oranında artış olması öngörülmektedir (41).

V89L polimorfizmine sahip bireylerde 5-alfa redüktaz enzim aktivitesininin % 40 oranında azalması nedeniyle, bu polimorfizmin saptandığı hastalarda DHT üretiminin azalması ve AR aracılı sinyal yolağının aktivasyonunun yavaşlaması beklenmektedir. Bu polimorfizme sahip hastalarda olası bir androjen yolağıyla ilişkili kanserlerin progresyon ve nüks oranının daha düşük olması öngörülmektedir (41).

2.6. Mesane Kanseri

2.6.1. Epidemiyoloji

2020 GLOBOCAN verilerine göre mesane kanseri dünya genelinde en sık görülen 10 kanser türü ve prostat kanserinden sonra en sık görülen ikinci ürogenital kanser türüdür. Yıllık yaklaşık 573,000 olgu mesane kanseri tanısı almaktadır. Dünya genelindeki insidans hızı erkeklerde 100,000’de 9.5, kadınlarda 2.4’tür. Yılda yaklaşık 213,000 kişinin ölümüne neden olan mesane kanserinin dünya genelinde mortalite hızı 100,000’de 1.9’dur.

Türkiye verileri incelendiğinde mesane kanseri, her iki cinsiyette de en sık görülen yedinci, erkeklerde en sık görülen dördüncü kanser türüdür. Ülkemizde her iki cinsiyette yılda yaklaşık 12,000 olguya mesane kanseri tanısı konulmaktadır. Bu olguların yaklaşık 10,000’ini erkekler oluşturmaktadır. Yaşa göre standardize edilmiş veriler dikkate alındığında da ülkemizde her iki cinsiyet için mesane kanserinin insidans hızı 100, 000’de 11.9, erkeklerde 100,000’de 22.9, kadınlarda ise 100,000’de 3.1 olarak hesaplanmıştır. Yine ülkemizin verilerine göre her iki cinsiyetten yılda

yaklaşık 3,700 olgu mesane kanseri nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Yaşa göre standardize edilmiş veriler dikkate alındığında ise mesane kanserinin mortalite hızı her iki cinsiyet için 100,000'de 3.3 iken erkeklerde mortalite hızı 100,000'de 6.8, kadınlarda 100,000'de 0.87 olarak hesaplanmıştır (42-44).

Mesane kanseri insidans hızları dünya genelinde bölgesel farklılıklar göstermektedir. Güney Avrupa, Batı Avrupa ve Kuzey Amerika dünya genelinde mesane kanseri insidans hızı her iki cinsiyet için en yüksek olan bölgelerdir. Erkeklerde en yüksek insidans hızı 100,000'de 26.6 ile Yunanistan'da gözlenirken kadınlarda en yüksek insidans hızı 100,000'de 3.3 ile Macaristan'da gözlenmektedir. Mesane kanseri insidansının bölgesel yayılımları incelendiğinde, mesane kanseri insidansının bölgelerdeki sigara kullanımı, Schistosoma haematobium enfeksiyonu, aromatik aminlere mesleki maruziyet, içme sularının arsenik ile kontaminasyonu gibi risk faktörlerinin prevalansını yansıttığı görülmektedir. Bu bölgelerde yaşayan popülasyonlarda bahsedilen risk faktörlerinin, mesane kanseri görülmesinin ana sebeplerinden olabileceği düşünülmektedir (42).

2.6.2. Risk Faktörleri

Sigara kullanımı mesane kanserinin bilinen en önemli risk faktörüdür. Olguların yaklaşık % 50'sini sigara içen hastalar oluşturmaktadır. Sigara kullanımının süresi ve miktarı mesane kanseri riski ile doğru orantılı iken pasif sigara içicilerinde de mesane kanseri riskinin arttığı raporlanmaktadır. Aromatik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve klorin hidrokarbonlara mesleki maruziyet mesane kanserinin en sık ikinci risk faktörüdür ve olguların yaklaşık % 10'unu oluşturmaktadır (44). Düşük hidrasyon, işlenmiş et ve hayvansal protein tüketimi, turpgiller, vitamin A, folat ve D vitamini tüketiminin az olması gibi beslenme özelliklerinin mesane kanseri riskini artırdığı raporlanmıştır (13). Ayrıca, erkek cinsiyet, beyaz ırk, arsenik içeren su tüketimi, ailede mesane kanseri öyküsü, şiztozoma enfeksiyonu ve siklofosamid, pioglitazone gibi ilaçların kullanımı mesane kanseri riskini artıran diğer risk faktörleridir (13,45).

2.6.3. Tanı ve Evreleme

Mesane kanserinde en sık gözlenen bulgu ağrısız hematüridir. Şüpheli bir mesane kanseri olgusunda ilk yaklaşım böbrek fonksiyonlarının araştırılması, üst üriner sistemin tercihen bilgisayarlı tomografi ile görüntülenmesi ve sistoskopiden oluşmaktadır (45).

Mesane kanserleri patolojik olarak ürotelyal ve non-ürotelyal mesane kanserleri olarak ikiye ayrılmakta, % 90'ını ürotelyal kanserler oluşturmaktadır. Non-ürotelyal mesane kanserleri ise büyük bölümü skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom olmak üzere küçük hücreli karsinom ve miks histoloji tümörleri olarak sınıflandırılmaktadır (46).

Mesane kanseri TNM evrelemesi UICC (The Union of Cancer Control, Kanser Kontrol Birliği) tarafından oluşturulmuş ve 2017 yılında güncellenmiştir (Tablo 2). Mesane kanserlerinin yaklaşık % 70-80'ini kasa invaze olmayan mesane kanserleri (KİOMK) oluşturmaktadır. Kasa invaze olmayan mesane kanserlerinin ise yaklaşık %60-70'i evre Ta, yaklaşık %20-30'u evre T1, yaklaşık %10'u ise karsinoma in situ olarak sınıflandırılmaktadır (44,45). KİOMK tanısı sistokopi sırasında alınan biyopsi veya transüretral rezeksiyon (TUR) ile alınan dokunun histopatolojik incelemesi ile konmaktadır.

Tablo 2. Mesane kanseri TNM patolojik evrelemesi

T- Primer Tümör	
Tx	Primer tümör değerlendirilememektedir
T0	Primer tümöre kanıt bulunmamaktadır
Ta	İnvaziv olmayan papiller karsinom
Tis	Karsinoma in situ
T1	Subepitelyal bağ dokuya invaze olan tümör

T2	Kasa invaze olan tümör
T2a	Süperfisyal kasa invaze olan tümör (iç yarısı)
T2b	Derin kasa invaze olan tümör (dış yarısı)
T3	Perivezikal dokuya invaze olan tümör
T3a	Mikroskopik
T3b	Makroskopik
T4	Prostatik stroma, seminal vezikül, uterus, vajina, pelvik duvar veya abdominal duvar invazyonu
T4a	Prostatik stroma, seminal vezikül, uterus veya vajina invazyonu
T4b	Pelvik duvar veya abdominal duvar invazyonu
N- Bölgesel Lenf Düğümleri	
NX	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilememektedir
N0	Bölgesel lenf düğümü metastazı yoktur
N1	Gerçek pelvis içi (hipogastrik, obturator, eksternal iliak veya presakral) bir lenf düğümü varlığı
N2	Gerçek pelvis içi birden fazla lenf düğümü varlığı
N3	Ortak iliak lenf düğümlerinde metastaz varlığı
M- Uzak Metastaz	
M0	Uzak metastaz bulunmamaktadır
M1a	Bölgesel olmayan lenf düğümü metastazı varlığı

M1b	Diğer uzak metastaz varlığı
-----	-----------------------------

2.6.4. Tedavi

Orta ve yüksek riskli KİOMK tanısı alan hastalarda, TUR sonrası intravezikal BCG (Bacillus Calmette-Guérin) immünoterapisi yapılması önerilmektedir (4). KİOMK güncel tedavi kılavuzunda, 6 kür indüksiyon BCG immünoterapisini takiben hastanın klinik ve patolojik özelliklerine göre 1-3 yıl süre ile 3'er kürlük BCG immünoterapisi idame tedavisi uygulanması önerilmektedir. Bununla birlikte, TUR sonrası BCG immünoterapisini takiben KİOMK nüks oranı % 32.6-42.1, progresyon oranı ise % 9.5-13.4'ü bulabilmektedir (15,45).

2.6.5. EORTC (The 2006 European Organisation for Research and Treatment of Cancer, 2006 Avrupa Kanser Araştırmaları ve Tedavi Organizasyonu) Risk Grubu Sınıflaması

Hastalığın nüks ve progresyonununa neden olabilecek kısa ve uzun vadeli riskleri öngörmek amacıyla düzenlenmiş bir skorlama sistemidir. Bu skorlama sistemi kullanılarak hastaların birinci ve beşinci yıl nüks ve progresyon olasılıkları hesaplanmaktadır (45).

EORTC risk grubu sınıflaması düşük, orta ve yüksek riskli tümörler olarak 3 gruptan oluşmaktadır (Tablo 3) (47).

Tablo 3. EORTC risk grubu sınıflaması

Düşük Riskli Tümörler	Primer, Tek, Ta, G1(düşük dereceli), karsinoma in situ yok
Orta Riskli Tümörler	Düşük ve yüksek riskli tümör kategorisinde tanımlanmayan tüm tümörler

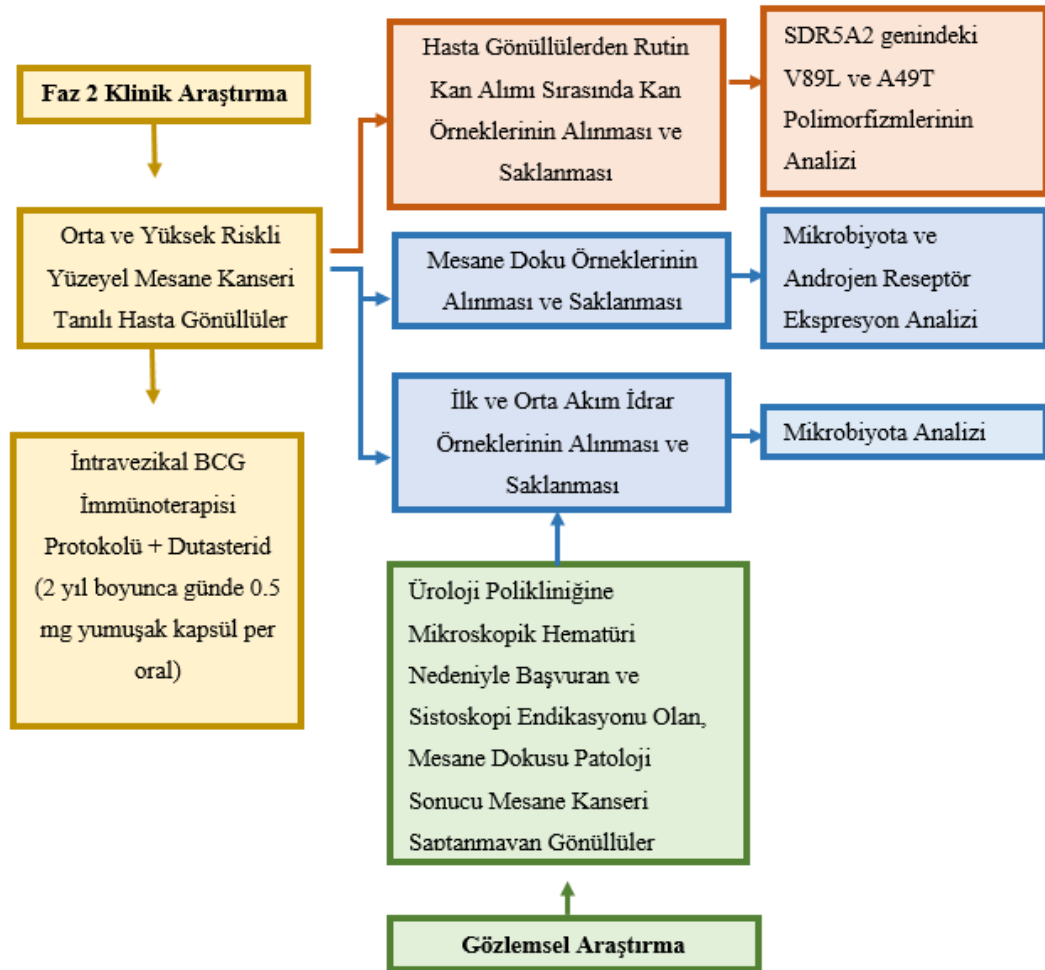
Yüksek Riskli Tümörler	Aşağıdakilerden herhangi birinin varlığı: • T1 tümör • G3 (yüksek dereceli) tümör • Karsinoma in situ • Multiple, tekrarlayan ve 3 cm'den büyük Ta G1 G2 tümör
------------------------	---



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Tasarımı

Bu çalışma, primer ve kasa invaze olmayan orta ve yüksek riskli mesane kanseri tanımlı hastalarda standart BCG immunoterapisine eklenen dutasteridin etkililiği ve güvenliliğinin araştırıldığı, tek kollu, tek merkezli bir Faz 2 klinik araştırma projesinin bir iş paketi kapsamında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2, Tablo 1). Çalışma, testosteronu dihidrotestosterona çeviren 5-alfa redüktaz enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin, 5-alfa redüktaz inhibitörü bir ilaç olan dutasteridin hasta gönüllülerde mesane kanserinin nüksü ve progresyonunu önlemedeki etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkilerinin araştırıldığı kesitsel, gözlemsel bir araştırmadır.



Şekil 2. Faz 2 klinik çalışma ve gözlemsel çalışma tasarımı

Tablo 4. Araştırma planı

Kasım 2018- Ocak 2019	Tez önerisinin hazırlanması
	Tez önerisinin sunumu
Mart 2019-Mayıs 2020	Etik kurul onayı
	Proje önerisinin hazırlanması
Mart 2019- Haziran 2020	Örnek toplama süreci
	Malzeme ve hizmet alımı
Haziran 2020- Ekim 2021	SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin analizi
	Çalışmanın tamamlanması
Ekim 2021-Ağustos 2022	İstatistiksel analizler
	Tez yazım aşaması

3.2. Araştırma Popülasyonu

Primer ve kasa invaze olmayan orta veya yüksek riskli mesane tümörlü hasta gönüllüler araştırmanın hedef popülasyonunu oluşturmaktadır.

3.2.1. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması

Örneklem büyüklüğü, ana proje olan Faz 2 klinik araştırma ile aynıdır. Mesane tümörlü hastaların retrospektif olarak incelendiği bir çalışmanın verilerine göre, yalnızca BCG immünoterapisi alan hastalarda nüks oranının %30.1, dutasteridin de dahil olduğu androjen süpresyon tedavisi verilen hastalarda nüks oranının %12.5

olduğu saptanmıştır. Dutasterid verilmeyen, yalnızca BCG immunoterapisi alan hastalarda nüks oranının % 50, dutasterid verilenlerde % 25 olduğu varsayıldığında, % 80 güç (Beta=0.20) ve Alfa=0.05 ile Faz 2 çalışmaya 23 hasta alınması gerektiği hesaplandı (48).

3.3. Araştırmanın Süresi

Çalışmadaki hasta gönüllüler, etkililik ve güvenlik değerlendirme ölçütleri yönünden 2 yıl boyunca izlendi. Klinik araştırma protokolüne uygun olarak, çalışmaya hasta gönüllü alınma 12.11.2018’de başladı, son hasta gönüllü 07.10.2019 tarihinde dahil edildi.

Farmakogenetik analiz için bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayan hasta gönüllülerden kan örneklerinin toplanmasına, Ağustos 2019’da başladı ve Aralık 2019’da tamamlandı. Analizler, gerekli laboratuvar malzemelerin temininin tamamlanmasının ardından Haziran 2020’de gerçekleştirildi.

3.4. Çalışmaya Alma Ölçütleri

1. Primer ve kasa invaze olmayan orta ve yüksek riskli mesane tümörü tanısı almış olma, (T1 olarak sınıflandırılmış, yüksek riskli, tekrarlayan Ta, eşlik eden KİS (karsinoma in situ) olması (3 cm’den büyük ve çoğul),
2. 18 yaşından büyük erkek cinsiyetten olma,
3. Alt üriner sistem semptomları varlığı ve prostat volümü >30 g olması,
4. Çalışmaya uyum gösterebilecek durumda olma,
5. ECOG performans skoru iki ve altında olması,
6. Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamış olma,
7. Genetik analiz için kan örneği alınmış olma.

3.5. Çalışmadan Dışlama Ölçütleri

1. Araştırma ürünleri olan BCG veya dutasteridin kontrendike olduğu durumlara veya bu ilaçlara aşırı duyarlılığa sahip olma,
2. Daha önceden BCG kullanmış olma,

3. Üst üriner sistemde mevcut ya da geçmiş değişici hücreli karsinomanın olması,
4. Mesanede daha önce kasa invaze olmuş değişici hücreli karsinomasının olması,
5. İntravezikal tedaviyi engelleyen mesane disfonksiyonu oluşturan ağır idrar kaçırma, mesane aşırı aktivitesi veya mesane spastisitesi gibi durumların varlığı,
6. Bir yıldan az yaşam beklentisi olma,
7. Doğumsal veya edinilmiş eş zamanlı bir hastalık, bağışıklığı baskılayıcı tedavi ya da kanser tedavisi nedeniyle bağışıklığın yetersizliği,
8. Pelvise uygulanmış radyoterapi,
9. Çalışmaya alınmadan önceki beş yıl içinde başka bir malignite öyküsü (derinin melanomatöz olmayan karsinoması),
10. Çalışma protokolüne uyma yeteneğini sınırlayabilecek ciddi tıbbi durum ya da psikiyatrik hastalığı olma.

3.6. Faz 2 Klinik Çalışmanın Amaç ve Hedefleri, Sonlanım Noktaları

Çalışmanın birincil amacı;

Orta ve yüksek riskli yüzeyel mesane kanserinde standart tedavi olarak uygulanan Bacillus Calmette Guerin (BCG) immünoterapisine eklenen, androjen baskılayıcı bir ilaç olan, 5-alfa redüktaz inhibitörü dutasteridin nüksü önlemedeki etkililiğinin araştırılmasıdır.

Çalışmanın ikincil amaçları;

- Orta ve yüksek riskli mesane kanserinde tedaviye eklenen dutasteridin progresyonu azaltmadaki etkililiğinin araştırılması,
- Androjen reseptörü ekspresyonu ile BCG ve dutasterid tedavisinin etkililiği arasındaki ilişkinin saptanması,
- Doku/ idrar mikrobiyotasındaki özelliklerin mesane kanseri patogenezindeki rolünün araştırılması,

- Mesane kanseri tanısı olan ve olmayan hastaların (protokol değişikliğiyle gözlemsel bir çalışma kapsamında kontrol grubu eklenmiştir) androjen reseptörü ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması, olası ilişkinin saptanması,

- 5-alfa redüktaz enzimini kodlayan SRD5A2 geninde V89L ve A49T varyasyonlarının dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkisinin saptanması (tez çalışmasının amacı).

Birincil etkililik hedefi:

İki yıl boyunca mesane tümöründe sistoskopik patolojik incelemede nüksün saptanmaması.

İkincil etkililik hedefi:

Mesane kasına invazyon oranında azalma.

Birincil sonlanım noktası:

Mesane tümöründe, 3 ayda bir yapılan sistoskopi sonucunda, nüks görülmesi.

Güvenlilik hedefi:

Tedavi edilen hasta gönüllülerde advers olay gelişmemesi.

Güvenlilik sonlanım noktası:

Tedavi edilen hasta gönüllülerde advers olay gelişmesi.

3.7. Faz 2 Klinik Çalışmadaki Araştırma Ürünleri

Çalışmamızda, standart tedavi olarak intravezikal BCG immünoterapisi alan hasta gönüllülerde BCG'ye ek olarak dutasterid araştırma ürünü kullanıldı.

3.7.1. BCG İmmünoterapisi Protokolü

Hasta gönüllülere EAU (European Association of Urology, Avrupa Üroloji Derneği) ve AUA (American Urology Association, Amerikan Üroloji Derneği)

kılavuzlarına uygun olarak standart intravezikal BCG immünoterapisi uygulandı (Tablo 5).

Tablo 5. BCG immünoterapisi protokolü

	0. Ay	3. Ay	6. Ay	12. Ay	18. Ay	24.ay
İntravezikal BCG	6 hafta süre ile, haftada bir	3 hafta süre ile, haftada bir	3 hafta süre ile, haftada bir	3 hafta süre ile, haftada bir	3 hafta süre ile, haftada bir	3 hafta süre ile, haftada bir

Hasta gönüllülere 0. ayda haftada bir uygulanmak üzere 6 hafta süre ile toplam 6 doz, 3., 6., 12., 18. ve 24. aylarda haftada bir uygulanmak üzere 3 hafta süre ile toplam 3'er doz BCG immünoterapisi uygulandı.

3.7.2. Dutasterid Tedavisi Protokolü

Hasta gönüllülere, ilk vizite geldiklerinde dutasterid 0.5 mg yumuşak kapsülü günde bir kez ağız yoluyla kullanmaları gerektiği, olası advers etkileri, advers etki oluşması halinde sorumlu araştırmacı ya da yardımcı araştırmacılara nasıl ulaşabilecekleri hakkında detaylı bilgi verildi.

Hasta gönüllülere her vizitte bir sonraki vizite kadar kullanmaları gereken sayıda dutasterid yumuşak kapsül teslim edildi. Her vizitte hasta gönüllülerin dutasterid kullanımı sorgulandı. Kullanım sırasında verilen blister ya da kutuların kaybı ya da kullanamayacak hale gelmesi durumunda sorumlu araştırmacı ya da yardımcı araştırmacıya bilgi verilmesi gerektiği anlatıldı. Eksik ilacı olan hasta gönüllülere eksik miktar kadar ilaç temin edildi.

3.8. Örnek Toplama Yöntemi

Hasta gönüllüler bilgilendirildikten ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunu imzaladıktan sonra, rutin kan örneği alımı sırasında, farmakogenetik analiz için hasta

gönüllülerden ek olarak bir adet mor kapaklı (EDTA'lı) tübe 9 mL kan örneği alındı. Alınan kan örneklerine kodlar verilerek anonimleştirildi ve -20°C'de analiz edilmek üzere saklandı (n=22). Bir hasta gönüllü BCG kaynaklı advers etki (BCG intoleransı) nedeniyle erken dönemde çalışma dışı kaldığı için örnek alınamadı.

3.9. Veri Toplama Yöntemi

Her bir hasta gönüllünün basılı dosya ve elektronik kayıtları incelendi. Veriler, Faz 2 klinik çalışmanın Olgu Rapor Formu (ORF) ve hasta dosyasına kaydedildi. Advers olayların görülmesi durumunda Advers Olay Formu ve Ciddi Advers Olay Formu dolduruldu ve hasta dosyasına eklendi. Tez çalışması, Faz 2 çalışmanın bir iş paketi olarak yapılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan veriler, Faz 2 klinik çalışmanın ORF ve hasta dosyası kayıtlarından alınmıştır:

- Demografik özellikler (cinsiyet, yaş, vücut kütle indeksi)
- Sigara kullanımı
- Malignite tanısı (Tümör evresi, tümör derecesi, tümör boyutu, tümör sayısı, risk grubu)
- Komorbiditeler
- ECOG performans skoru
- Sistoskopi tarihi
- Patolojik değerlendirme
- Advers olay ve etkiler

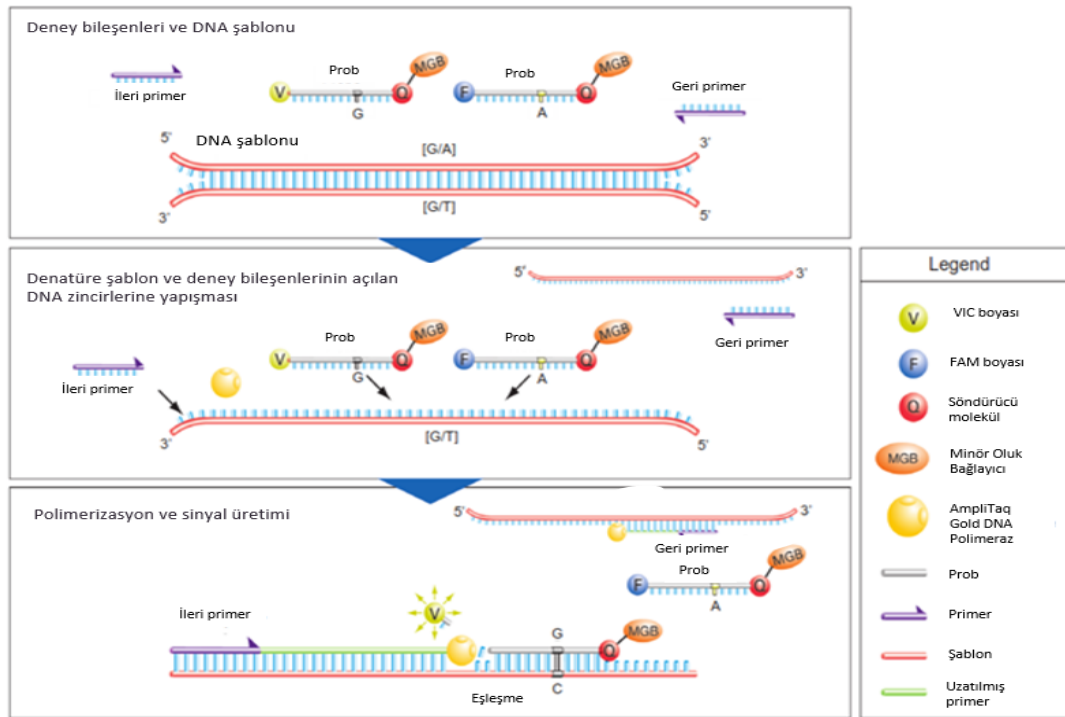
3.10. Farmakogenetik Analiz Yöntemi

DNA İzolasyonu ve Ölçümleri

Çalışmaya dahil edilen 22 hasta gönüllüden tam kan örnekleri alındı. Her hasta gönüllünün kan örneğine ayrı kod verilerek anonimleştirildi ve örnekler Ependorf tüplere aktararak analiz edilmek üzere ayrıldı. Kan örneklerinden, DNeasy Blood and Tissue Kit (Quagen 69504) ile protokole uygun olarak DNA izole edildi. DNA ölçümü ve kalitesi, Thermo-nanodrop cihazı ile belirlendi.

Genotipleme Analizi

TaqMan SNP Genotyping Assay sistemi kullanılarak TaqMan 5'-nükleaz kimyasına dayanan deney düzeneğinde pürifiye DNA'lardaki SNP'ler çoğaltılarak saptandı. Bu assay ile dizi-spesifik ileri (forward) ve geri (revers) primerler ile polimorfik bölge özgül olarak çoğaltılmaktadır. İki adet TaqMan Minor Groove Binder (MGB; Minör oluk bağlayıcı) ve Nonfluorescent quenchers (NFQ; nonfloresan söndürücü molekül) bağlı prob bulunan sistemde VIC (2'kloro-7'fenil-1,4-dikloro-6-karboksi-floresan) etiketli prob ile spesifik olarak Allel 1 (V98L polimorfizmi için C alleli, A49T polimorfizmi için T alleli) dizisi, ve FAM (Floresan amidit) etiketli prob ile spesifik olarak Allel 2 (V89L polimorfizmi için G alleli, A49T polimorfizmi için C alleli) tespit edilmektedir (Şekil 3).



Şekil 3. TaqMan MGB Prob Sistemi'yle seçici bağlanmanın allelik diskriminasyonu nasıl sağladığının gösterilmesi,
(https://assets.thermofisher.com/TFSAssets/LSG/manuals/cms_040597.pdf)

Hasta gönüllülerin kan örneklerinden elde edilen 10ng/μL DNA örneği ile PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) reaksiyonu kuruldu. Reaksiyonda; TaqMan SNP Genotyping Assay ID C_2362601_10 (rs523349; V89L) (Applied Biosystems™),

TaqMan SNP Genotyping Assay ID C_275322281_20 (rs9282858; A49T) (Applied Biosystems™), TaqPath ProAmp Master Mix (Applied Biosystems™) ve ultra saf DNase/RNase içermeyen su kullanıldı.

Analizler, Applied Biosystems Instruments 7500 Fast Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems™) PCR cihazı, TaqMan Genotyper Software Version 1.6.0 (Applied Biosystems™), ve Microsoft Excel programları kullanılarak gerçekleştirildi. SRD5A2 genindeki rs523349 (V89L) ve rs9282858 (A49T) polimorfizmlerin dizi içeriği, kromozom 2 üzerindeki konumu, allel ve genotip bilgileri Tablo 6 'da verilmiştir.

Tablo 6. SRD5A2 genindeki V89L ve A49T SNP'lerinin erişim numarası (SNP ID), primer dizileri, kromozom 2 üzerindeki konumu, allel ve genotipleri (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, <https://opensnp.org/snps/>)

SNP ID	Dizi içeriği	Pozisyon	Allel	Genotipler
rs523349 (V89L)	AAACGCTACCTGTGG AAGTAATGTA[C/G]G CAGAAGAGGCCAG AAGTACCGTC	31580636	G>C	GG/TT/GC
rs9282858 (A49T)	TCCTGCAGGAA CCAGGCGGCGCGGG[T/C]TGGCAGGCGGG TAGCCGCCGGCTTC	31580756	C>T	CC/TT/TC

3.11. Verilerin Değerlendirilmesi

3.11.1. Hasta Gönüllülerin SRD5A2 Genindeki V89L (rs523349) ve A49T (rs9282858) Polimorfizmlerinin Saptanması ve Hastalık Nüks Oranları ile İlişkisinin Araştırılması

SRD5A2 genindeki V89L (rs523349) ve A49T (rs9282858) polimorfizmleri, tek başına veya birlikte bulunması açısından değerlendirildi. Homozigot/heterozigot allel sıklıkları belirlendi. Hasta gönüllüler çalışmaya dahil edildikten sonra 24 ay boyunca nüks açısından takip edildi. Nüks saptanan hasta gönüllü, nüks saptandığı tarih itibarıyla çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmanın tamamlanmasının ardından hasta gönüllülerin nüks oranları belirlenerek, nüks ile SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırıldı. İlgili polimorfizmlerin nüks ile korelasyonları incelendi.

3.11.2. Advers Olayların Saptanması ve Dutasterid ile Nedensellik İlişkisinin Kurulması

Advers olayların takibi, hasta gönüllüler çalışmayı tamamlayıncaya kadar yapıldı. Saptanan advers olaylar ORF'ye kaydedildi. Gelişen advers olaylar, ayrıca çalışma için tasarlanmış olan “Advers Olay Formu”na kaydedildi ve hasta dosyasına eklendi. Gelişme raporlarında TÜBİTAK’a rapor dönemi içerisinde gelişen advers olaylar bildirildi. Ayrıca Etik Kurul ve TİTCK’ya yapılan yıllık bildirimlerde sunulan bildirim formunda, bildirim döneminde gelişen advers olayların tümüne yer verildi.

Tüm ciddi advers olaylara ait “Ciddi Advers Olay Formu” doldurularak etik kurul ve TİTCK’ya bildirimleri zamanında (en geç 8 gün içerisinde) yapıldı. Gelişme raporlarında TÜBİTAK’a rapor dönemi içerisinde gelişen ciddi advers olaylar bildirildi. Ayrıca Etik Kurul ve TİTCK’ya yapılan yıllık bildirimlerde sunulan bildirim formunda bildirim döneminde gelişen ciddi advers olayların özet tabloları eklendi.

Advers olayların araştırma ürünleri ile nedensellik ilişkisi, Liverpool Nedensellik Değerlendirme Aracı (LCAT), Naranjo Yöntemi ve Dünya Sağlık Örgütü-Uppsala İlaç İzlem Merkezi (WHO-UMC) Nedensellik Değerlendirme Sistemi (sırasıyla Ek-1a, Ek-1b, Ek-1c) kullanılarak değerlendirildi.

Bildirilen advers olayların şiddeti, Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI-CTCAE) 5.0' a göre (Ek-2) derecelendirildi.

Bu değerlendirmeler, bir Tıbbi Farmakoloji uzmanı hekim ve bir Tıbbi Farmakoloji asistanı hekim ve bir Üroloji uzmanı hekim tarafından yapıldı.

3.12. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Inc., Chicago IL), sürüm 22, Windows yazılımı ile yapıldı. Kategorik veriler sayı ve yüzde ile belirtilirken, sürekli değişkenler median ve minimum-maksimum olarak belirtildi. Hastalar nüks olan ve olmayanlar olarak iki gruba ayrıldı. Gruplar, genel demografik veriler ve tümör özellikleri açısından karşılaştırıldı.

5-alfa redüktaz tip II enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki V89L ve A49T varyasyonları taşıyan (tek başına veya birlikte) ve taşımayan hastaların nüks durumları ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı.

SRD5A2 genindeki A49T polimorfizmi özelinde genotipler kategorileştirilerek hastalık nüksü, patolojik tanı, tümör evresi, tümör derecesi, EORTC risk skoru, advers olay görölme durumu, ciddi advers olay görölme durumu arasındaki ilişki ki kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. Ek olarak A49T polimorfizmi açısından farklı genotiplere sahip bireylerin yaş ortalamaları bağımsız örneklem T testi kullanılarak karşılaştırıldı.

3.13. Etik İlkeler

TÜBİTAK 1003 217S075 proje numaralı Faz 2 klinik araştırma için, Dokuz Eylül Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay (381-SBKAEEK 2017/09-03) ve Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK)'dan izin (93189304-514.02.01-E.110805, 17-AKD-71) alındı. Faz 2 klinik araştırmaya sonrada eklenen ve mevcut çalışmayı da kapsayan ek iş paketleri için, Dokuz Eylül Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay (381-SBKAEEK 2019/06-28) ve Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK)'dan izin (66175679-514.02.01-E.126262, 17-AKD-71) alındı.

Tüm hasta verilerine gerekli onay ve izinler alındıktan sonra erişildi. Tüm örnekler, Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunu imzalayan hasta gönüllülerden toplandı. Hastalara ait kimlik bilgileri, olgu rapor formuna ve veri tabanına

kaydedilirken her bir hasta için bir çalışma numarası belirlendi ve kayıtlar anonimleştirildi.



4. BULGULAR

4.1. Faz 2 Klinik Çalışma ile İlgili Bulgular

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Üroloji Anabilim Dalında yürütüldü. DEÜTF Üroloji Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran 48 hasta çalışmaya dahil etme ölçütleri yönünden değerlendirilerek taramaya alındı. Çalışmaya alma ölçütlerini karşılayan 23 hasta gönüllü, Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu imzaladıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

Hasta gönüllü alımına 12.11.2018 tarihinde başlandı. Son hasta gönüllü 07.10.2019 tarihinde çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın yürütülmesi sırasında araştırma ürünleri olan BCG ve dutasteride bağlı advers olayların görülmesi durumunda Advers Olay Formu ve Ciddi Advers Olay Formu dolduruldu. Advers olaylar ve ciddi advers olaylar TÜBİTAK'a rapor dönemlerinde, Etik Kurul ve TİTCK'ya yıllık bildirimlerde listelenerek sunuldu. Ciddi advers olaylar Etik Kurul ve TİTCK'ya verilen yasal süreç içinde (en fazla 8 gün) bildirildi.

4.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gönüllülerin Demografik Özellikleri

Çalışmaya alınan 23 erkek hasta gönüllünün yaş ortalaması 64.6 ± 11.81 (min-maks, 32-80) idi. On dört hasta gönüllünün (% 60.9) en az bir komorbiditesi vardı. Beş hasta gönüllüde (%21.7) ise en az iki komorbidite bir aradaydı. En sık gözlenen komorbidite hipertansiyondu (Tablo 7).

Tablo 7. Hasta gönüllülerin demografik özellikleri

Çalışma Popülasyonu	
Yaş (yıl), ortalama $\pm$ SD (min-maks)	64.6 ± 11.81 (32-80)
Komorbidite, n (%)	
Var	14 (% 60.9)
Yok	9 (% 39.1)

Patolojik tanı, n (%)		
	Papiller ürotelyal karsinom	16 (% 69.6)
	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	6 (% 26.1)
	Solid İnvaziv Ürotelyal karsinom	1 (% 4.3)
Tümör Evresi, n (%)		
	pTa	15 (% 65.2)
	pT1	8 (% 34.8)
Tümör Derecesi, n (%)		
	Düşük dereceli	13 (% 56.5)
	Yüksek dereceli	10 (% 43.5)
EORTC Risk Grubu, n (%)		
	Orta riskli	13 (% 56.5)
	Yüksek riskli	10 (% 43.5)
n: Sayı		
min.: minimum, maks.: maksimum		

Mesane kanserli hasta gönüllülerin 16'sı (% 69.6) papiller ürotelyal karsinom, 6'sı (% 26.1) invaziv papiller ürotelyal karsinom, 1'i (% 4.3) solid invaziv ürotelyal karsinom tanısı almıştı. İki hasta gönüllüde ek olarak karsinoma in situ saptandı. Hasta gönüllülerin 15'inin (% 65.2) tümör evresi pTa, 8'inin (% 34.8) tümör evresi pT1 idi. Hasta gönüllülerin 13'ünün (% 56.5) tümörü düşük dereceli iken, 10'unun (% 43.5) tümörü yüksek dereceli idi. Hasta gönüllülerin 13'ünün (% 56.5) tümörü EORTC Risk Değerlendirmesi'ne göre orta riskli iken 10'unun (% 43.5) tümörü yüksek riskli idi (Tablo 8).

Tablo 8. Hasta gönüllerin çalışmaya alınma anında mesane kanseriyle ilgili klinik ve patolojik parametreleri

Hasta No	Tanı	Tümör Evresi	Tümör Derecesi	Tümör Boyutu (cm)	Tümör Sayısı	Risk Grubu
1	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	pT1	Yüksek dereceli	10	5	Yüksek
2	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	4	1	Orta
3	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	4.5	2	Orta
4	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	pT1	Yüksek dereceli	4	3	Yüksek
5	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	pT1*	Yüksek dereceli	10	4	Yüksek
6	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	pT1	Yüksek dereceli	5	2	Yüksek
7	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	3	2	Orta
8	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	2	2	Orta
9	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	4	4	Orta

10	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	7	4	Orta
11	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	3.5	1	Orta
12	Papiller ürotelyal karsinom	pTais**	Yüksek dereceli	4	1	Yüksek
13	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	1.5	2	Orta
14	Papiller ürotelyal karsinom	pT1	Yüksek dereceli	7	5	Yüksek
15	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	1.5	2	Orta
16	Solid invaziv ürotelyal karsinom	pT1	Yüksek dereceli	5	3	Yüksek
17	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	4	1	Orta
18	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	1.5	3	Orta
19	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	2	4	Orta
20	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Yüksek dereceli	2.5	2	Yüksek

21	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	pT1	Yüksek dereceli	5	1	Yüksek
22	İnvaziv papiller ürotelyal karsinom	pT1	Yükse dereceli	2	11	Yüksek
23	Papiller ürotelyal karsinom	pTa	Düşük dereceli	4	1	Orta

*Hastanın patolojisi ‘pT1-2 + KİS (Karsinoma in situ); kesitlerde muskularis mukoza - muskularis propria invazyon ayrımı yapılamamaktadır’ şeklinde raporlanmış ve T1 kabul edilmiştir.

** pTa + KİS

4.1.2. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gönüllülerde BCG Uygulanması ve Dutasterid Kullanım Özellikleri

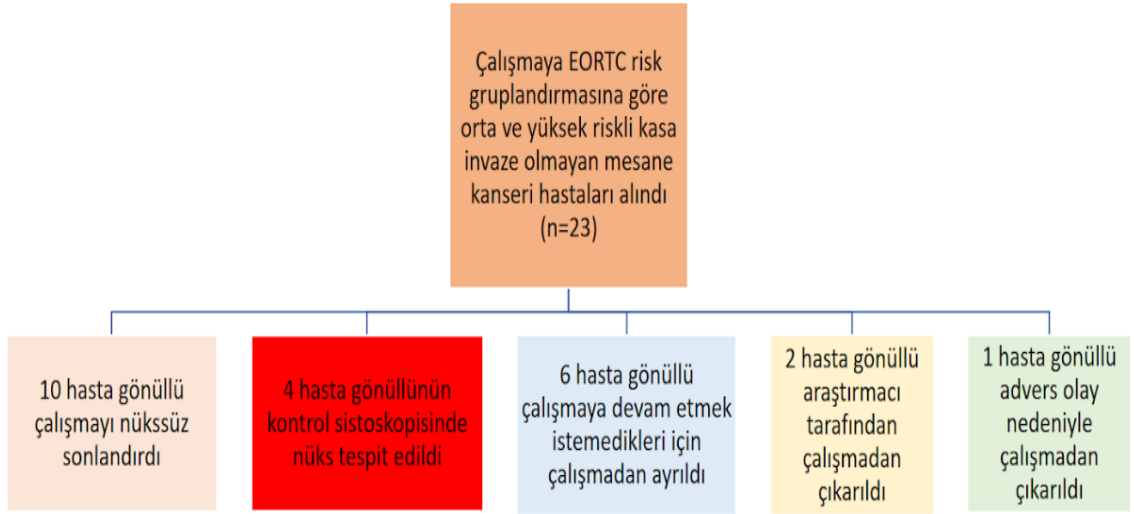
Hasta gönüllülerin tümüne araştırmada kaldıkları süre boyunca planlanan sayıda ve zaman diliminde BCG immünoterapisi uygulandı. COVID-19 nedeniyle bazı sistoskopiler atlanmasına rağmen BCG uygulamalarında aksama yaşanmadı. Hasta gönüllülerin tümüne, çalışmada kaldıkları süre boyunca 3 ayda bir gerçekleştirilen vizitlerinde 9-10 blister ya da 3 kutu dutasterid etken maddeli tabletler teslim edildi. COVID-19 nedeniyle sistoskopilerin ertelendiği dönemde ya hastalar çağrılarak ya da hasta yakınları aracılığı ile tabletler hasta gönüllülere ulaştırıldı. Bu dönem sonrasında sistoskopilerin erteleneceği zamanlar öngörülerek bazı vizitlerde hasta gönüllülere teslim edilen blister ya da kutu sayısı artırıldı. Hasta gönüllüler çalışmaya dahil edildikleri tarihten itibaren çalışma dışı kalıncaya kadar ya da çalışmayı tamamlayıncaya kadar dutasterid kullanmaya devam etti. Çalışmaya dahil edilen hasta gönüllülerden biri BCG’ye bağlı intolerans gelişmesi nedeniyle çalışma dışı bırakıldı ve dutasterid almadı (Tablo 9).

Tablo 9. Çalışma popülasyonunun dutasterid kullanım özellikleri

Dutasterid kullanım süresi	Çalışma Popülasyonu, n (%)
3 ay	3 (%13.0)
9 ay	1 (%4.3)
12 ay	2 (%8.7)
15 ay	1 (%4.3)
18 ay	3 (%13.0)
21 ay	2 (%8.7)
24 ay	10 (%43.5)
*Bir olgu ilk BCG immünoterapisi uygulanması sırasında BCG intoleransı nedeniyle dutasterid kullanımına başlamadan çalışma dışı kaldı.	
n: Hasta gönüllü sayısı	

4.1.3. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gönüllülerin İzlem Bulguları

Çalışmaya dahil edilen 23 hasta gönüllünün 14'ü çalışmayı tamamladı. 10 hasta gönüllü çalışmayı nüksüz tamamlarken, dört hasta gönüllüde sistoskopik nüks saptandı. Altı hasta gönüllü özellikle COVID-19 pandemisinin yarattığı belirsiz ortam, hastanede değişen iş akışlarının yarattığı kaygı ve BCG advers etkileri nedeniyle onamlarını çekti. Bir hasta gönüllü BCG'ye bağlı advers etki (BCG intoleransı), iki hasta gönüllü ise çalışma uyumsuzluğu nedeniyle sorumlu araştırmacı kararıyla çalışma dışı kaldı (Şekil 4, Tablo 10).



Şekil 4. Çalışmaya dahil edilen 23 hasta gönüllünün çalışmayı tamamlama durumları

Tablo 10. Mesane kanserli hasta gönüllülerin 3 ayda bir yapılan izlemdeki durumları

Hasta No	Hasta İzlemi							
	3. ay	6. ay	9. ay	12. ay	15. ay	18. ay	21. ay	24.ay
1	-	-	-	-	C-19	ÇD		
2	-	-	-	-	-	C-19	-	-
3	-	-	-	-	-	C-19	-	-
4	-	-	-	ÇD				
5	-	-	N					
6	-	-	-	-	C-19	-	-	-

7	-	-	-	-	C-19	-	ÇD	
8	-	-	-	-	ÇD			
9	-	-	-	-	C-19	-	-	-
10	-	-	C-19	-	C-19	ÇD		
11	-	-	-	C-19	-	-	C-19	-
12	-	-	-	C-19	-	-	C-19	-
13	N							
14	-	-	-	C-19	-	-	C-19	-
15	-	-	-	C-19	-	-	C-19	-
16	N							
17	-	-	-	C-19	-	C-19	-	-
18	-	-	-	C-19	-	C-19	-	-
19	N							
20	-	-	C-19	ÇD				
21	ÇD							
22	-	C-19	-	-	C-19	-	ÇD	
23	-	C-19	-	-	C-19	ÇD		

-: Nüks saptanmadı, N: Nüks saptandı, ÇD: Hasta çalışma dışına alındı, C-19: COVID-19 pandemisi nedeniyle ertelenen ziyaret

4.1.4. Faz 2 Çalışmanın Birincil Amacı Açısından Değerlendirme

Nüks gelişen dört hasta gönüllünün tümör evreleri ve dereceleri incelendiğinde; iki hasta gönüllünün çalışma öncesi ürotelyal mesane kanserleri T1 evresi ve yüksek dereceli ürotelyal karsinom, diğer iki hasta gönüllünün ise Ta evresi düşük dereceli ürotelyal karsinom olarak saptandı. Nüks özellikleri incelendiğinde, çalışma öncesi tümörü yüksek dereceli olan hasta gönüllülerin tümünün tümörleri yüksek dereceli, tümörü düşük dereceli olan hasta gönüllülerin tümünün tümörü düşük dereceli tümör olarak nüks ettiği gözlemlendi. 19 numaralı hasta gönüllüde ayrıca evre T1 adenokarsinom saptandı. İncelenen mesane doku örneğinde adenokarsinom gelişimi, çalışmamız kapsamındaki dutasterid etkililiği açısından değerlendirme parametrelerinden biri olmaması nedeniyle progresyon olarak kabul edilmedi. Çalışmanın sonucunda mesane kanserli hasta gönüllülerde standart BCG tedavisine eklenen dutasterid tedavisinin, nüks oranını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmadığı görüldü.

Nüks gözlenmeyen 10 hasta gönüllünün çalışma öncesi mesane kanseri patolojik değerlendirmesinde; sekizinin tümör evresi Ta, ikisinin ise tümör evresi T1 idi. Tümör derecelerine göre incelendiğinde ise yedi hasta gönüllünün tümörü düşük dereceli, üç hasta gönüllünün tümörü yüksek dereceli saptandı (Tablo 11).

Tablo 11. İzlemlerde nüks saptanan hasta gönüllülerde mesane karsinoma invazyon durumu

Nüks Saptanan Hasta Gönüllülerin Patolojik Özellikleri					
Hasta No	Patolojik Tanı	Nüks Ayı	Nüks Öncesi Evre	Nüks Evresi	Nüks Derecesi
5	Solid invaziv ürotelyal karsinom	9. ay	pT1*	pT1	Yüksek dereceli

13	Papiller Ürotelyal Karsinom	3. ay	pTa	pTa	Düşük dereceli
16	İnvaziv solid ürotelyal karsinom	3. ay	pT1	pT1	Yüksek dereceli
19	Ürotelyal karsinom	3. ay	pTa	pTa**	Düşük dereceli

*Hastanın patolojisi 'pT1-2 + KİS; kesitlerde muskularis mukoza - muskularis propria invazyon ayrımı yapılamamaktadır' şeklinde raporlanmış ve T1 kabul edilmiştir.

**Hastanın tümör patolojisinde ek olarak pT1 adenokarsinom raporlanmıştır.

Nüks saptanan dört ve nüks saptanmayan on hasta gönüllü arasında yaş, tümör derecesi, tümör patolojisi, multisentrisite, tümör boyutu, karsinoma in situ (KİS) varlığı ve EORTC risk grubu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 12).

Tablo 12. Nüks saptanan ve saptanmayan hastaların demografik, klinik ve patolojik bulguları

	Nüks Saptanan	Nüks Saptanmayan	P*
YAŞ			
65 yaş altı	3 (%75)	3 (%30)	0.175
65 yaş üstü	1 (%25)	7 (%70)	
Tümör Boyutu			
< 3 cm	2 (%50)	2 (%20)	0.311
> 3 cm	2 (%50)	8 (%80)	

Tümör Sayısı			
Tek	0 (%0)	4 (%40)	0.210
Çoğul	4 (%100)	6 (%60)	
KİS			
Yok	4 (%100)	9 (%90)	0.714*
Var	0 (%0)	1 (%10)	
Tümör Derecesi			
Düşük Dereceli	2 (%50)	7 (%70)	0.455*
Yüksek dereceli	2 (%50)	3(%30)	
Tümör Evresi			
pTa	2 (%50)	8 (%80)	0.311*
pT1	2 (%50)	2 (%20)	
EORTC			
Risk Derecesi	2 (%50)	7 (%70)	0.455*
Orta Risk	2 (%50)	3 (%30)	
Yüksek Risk			

KİS, karsinoma in situ. * p değeri eldesinde Fisher's Exact Test kullanılmıştır.

4.1.5. Faz 2 çalışmanın ikincil amaçları açısından değerlendirme

Mevcut çalışma, ana proje olan Faz 2 klinik araştırmanın beş maddeden oluşan ikincil amaçları arasında yer almaktadır. Bu bölümde mevcut çalışmaya dahil olmayan diğer dört ikincil amacın sonuçlarına özet olarak yer verilmiştir.

4.1.5.1. Orta ve yüksek riskli mesane kanserinde tedaviye eklenen dutasteridin progresyonu azaltmadaki etkililiğinin araştırılması

Faz 2 çalışmanın ikincil amaçlarından biri orta ve yüksek riskli mesane kanserinde tedaviye eklenen dutasteridin progresyonu azaltmadaki etkililiğinin araştırılmasıydı. İkincil etkililik hedefi olan mesane kas invazyonu hiçbir gönüllüde gözlenmedi. Hiçbir gönüllüde 24 aylık takiplerde progresyon saptanmadı. Nükslerin hiçbirinde tümör derecesi ve evre yönünden de progresyon gözlenmedi.

4.1.5.2. Androjen Reseptörü Ekspresyonu ile BCG+ Dutasterid Tedavisinin Etkililiği Arasındaki İlişkinin Saptanması

Mesane kanserinde AR-FL protein ekspresyonu artmış, mRNA ekspresyonu ise azalmış bulundu. AR-FL protein artışı mRNA'dan bağımsız olarak gerçekleşmektedir.

Prostat kanserinde hormon direncinin gelişmesinde rol oynayan AR-V7 proteini literatürde ilk kez mesane dokusunda gösterildi. Analizlerde mesane kanserinde protein seviyesinin azaldığı gözlemlendi.

4.1.5.3. Doku/ idrar Mikrobiyotasındaki Özelliklerin Kanser Patogenezindeki Rolünün Araştırılması

Mesane kanserli hasta doku ve idrar örneklerinde bazı bakterilerle sınırlı disbiyoz saptandı. Tanımlanan disbiyotik değişiklik, mesane kanserinin kendine ait bir mikrobiyota oluşturduğu yönünde yorumlanmaktadır.

Mesane kanserli hastaların dokularında pTa ve pT1 evresindeki gruplar karşılaştırıldığında, literatürle uyumlu olarak Veillonella'nın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pT1 mesane kanseri grubunda daha yoğun olduğu saptandı. Ayrıca pT1 evresinde Delftia artışı saptandı. Nüks gözlenen hastaların tanı anında alınan örnekleri nüks göstermeyen hastaların örnekleri ile karşılaştırıldığında da mesane kanseri örneklerinde Massilia'nın nüks tespit edilen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yoğun bulunduğunu saptandı.

4.1.5.4. Mesane Kanserli Tanısı Olan ve Olmayan Hastaların (Protokol değişikliğiyle gözlemsel bir çalışma kapsamında kontrol grubu eklenmiştir) Androjen Reseptörü Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması, Olası İlişkinin Saptanması

Mesane kanseri dokusunda normal dokuya oranla; AR-FL protein ekspresyonu ve AR-V7 mRNA ekspresyonunda artış; AR-FL mRNA ve AR-V7 protein ekspresyonunda ise azalma saptandı.

4.2. SRD5A2 genindeki V89L ve A49T Polimorfizmlerinin Dutasteridin Etkililiği ve Güvenliliği Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

“SRD5A2 geninde V89L ve A59T varyasyonlarının dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi” ana proje olan Faz 2 klinik araştırmanın ikincil amaçlarından biri, mevcut tez çalışmasının ise birincil amacıydı.

4.2.1. Genomik DNA İzolasyonu Bulguları

22 hasta gönüllüden alınan ve kodlanarak -20°C’de analiz edilmek üzere saklanan kan örneklerinden DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen 69504)) ile izole edilen genomik DNA’ların konsantrasyonu spektrofotometre (NanoDrop® ND-1000, Thermo Scientific) cihazı ile ölçüldü. DNA miktarları, 260 nm’deki absorbans değeri ile, saflıkları ise 260 nm ve 280 nm dalga boylarındaki absorbans değerlerinin oranı (A260/280) ile belirlendi. DNA’nın O.D (260/280) dalga boylarında spektrofotometrik ölçümlerinin oranının 1.8-2.0 aralığında olması ideal olarak kabul edildi. İzole edilen tüm DNA konsantrasyonları ve absorbans oranları çalışmaya alınmak için yeterli olarak değerlendirildi (Tablo 13). Örnek kodları, 23 hasta gönüllüye rastgele verildi. Bu nedenle BCA 6 kodu, kan örneği alınamayan hasta gönüllüye (Hasta No: 21) denk geldiği için atlandı.

Tablo 13. İzole edilen genomik DNA’ların konsantrasyonları ve saflık değerleri

Hasta No	DNA Örnek Kodu *	DNA konsantrasyonu (ng/µl)	A260	A280	DNA saflığı A260/280	A260/230
13	BCA 1	13.4	0.268	0.146	1.84	3.17
10	BCA 2	17.7	0.353	0.198	1.78	3.29
22	BCA 3	15.4	0.308	0.166	1.85	3.96
23	BCA 4	7.3	0.146	0.088	1.67	10.33

19	BCA 5	10.2	0.204	0.111	1.84	3.59
11	BCA 7	9.7	0.195	0.108	1.8	4.4
20	BCA 8	16.4	0.328	0.179	1.84	3.77
18	BCA 9	13	0.261	0.141	1.85	3.94
16	BCA 10	10.2	0.205	0.107	1.92	4.58
12	BCA 11	27.7	0.554	0.291	1.91	3.49
15	BCA 12	14.4	0.288	0.156	1.85	3.5
17	BCA 13	14.4	0.288	0.168	1.71	1.68
7	BCA 14	13.3	0.265	0.143	1.85	2.59
6	BCA 15	12.7	0.253	0.131	1.94	3.85
9	BCA 16	13	0.26	0.136	1.91	4
3	BCA 17	17.5	0.351	0.202	1.74	1.38
2	BCA 18	12.6	0.251	0.137	1.84	2.06
8	BCA 19	11.5	0.23	0.113	2.02	4.67
4	BCA 20	10.2	0.204	0.103	1.98	4.61
5	BCA 21	13	0.259	0.14	1.85	2.78
14	BCA 22	14.8	0.297	0.161	1.84	3.05
1	BCA 23	19.8	0.396	0.239	1.66	1.16

4.2.2. V89L (rs523349) Polimorfizminin Saptanması

Analizde G nükleotidi yerine C nükleotidi değişikliği araştırıldı. V89L varyasyonunda G nükleotidi yerine C nükleotidi geldiğinde, valin amino asidi (Kodon: GTA) yerine lösin amino asidi (Kodon: CTA) gelmekteydi. İki adet TaqMan Minor Groove binder (MGB) ve Nonfluorescent quenchers (NFQ) bağlı prob bulunan sistemde VIC-etiketli prob ile spesifik olarak Allel 1 (C alleli), ve FAM-etiketli prob ile spesifik olarak Allel 2 (G alleli) dizisi tespit edildi (Şekil 5).

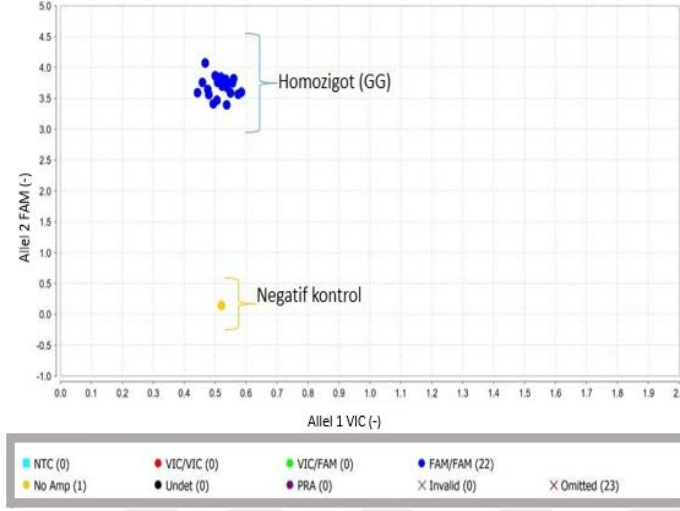
SNP ID: rs523349

Gen: SRD5A2

Gen ismi: Steroid 5-alfa redüktaz 2

Polimorfizm: C/G Transversiyon Yer Değiştirme

Dizi içeriği (VIC/FAM): AAACGCTACCTGTGGAAGTAATGTA[C/G]GCAGAAGAGGCCAGAAAGTACCGTC



Şekil 5. V89L alleli (rs523349)'nin saptanması

Tüm hasta gönüllüler için V89L (rs523349) polimorfizmi çalışıldı ve tüm hastalar “Homozigot GG” olarak saptandı (Tablo 14). Analiz sonuçları hiçbir hasta gönüllüde valin yerine lösin amino asidinin sentezlenmediğini, enzim aktivitesinde değişikliğe neden olacak ilgili varyasyonun (V89L) saptanmadığını göstermektedir.

Tablo 14. V89L polimorfizmi (rs523349) ve hasta gönüllülerin genotipleri

Kan örneği kodu	VIC (C) Allel 1	FAM (G) Allel 2	Genotip
BCA 1 (Hasta No 13)	-	+	Homozigot GG
BCA 2 (Hasta No 10)	-	+	Homozigot GG
BCA 3 (Hasta No 22)	-	+	Homozigot GG
BCA 4 (Hasta No 23)	-	+	Homozigot GG
BCA 5 (Hasta No 19)	-	+	Homozigot GG
BCA 7 (Hasta No 11)	-	+	Homozigot GG
BCA 8 (Hasta No 20)	-	+	Homozigot GG

BCA 9 (Hasta No 18)	-	+	Homozigot GG
BCA 10 (Hasta No 16)	-	+	Homozigot GG
BCA 11 (Hasta No 12)	-	+	Homozigot GG
BCA 12 (Hasta No 11)	-	+	Homozigot GG
BCA 13 (Hasta No 17)	-	+	Homozigot GG
BCA 14 (Hasta No 7)	-	+	Homozigot GG
BCA 15 (Hasta No 6)	-	+	Homozigot GG
BCA 16 (Hasta No 9)	-	+	Homozigot GG
BCA 17 (Hasta No 3)	-	+	Homozigot GG
BCA 18 (Hasta No 2)	-	+	Homozigot GG
BCA 19 (Hasta No 8)	-	+	Homozigot GG
BCA 20 (Hasta No 4)	-	+	Homozigot GG
BCA 21 (Hasta No 5)	-	+	Homozigot GG
BCA 22 (Hasta No 14)	-	+	Homozigot GG
BCA 23 (Hasta No 1)	-	+	Homozigot GG

Nüks olarak değerlendirilen hasta gönüllüler tabloda kalın olarak işaretlenmiştir.

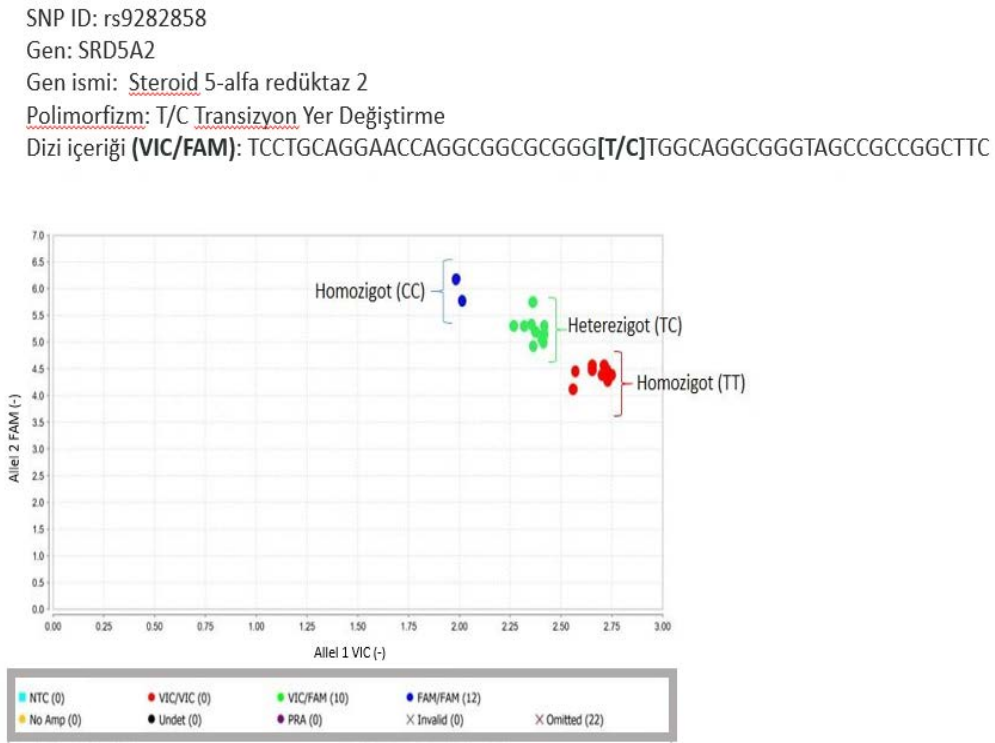
4.2.3. A49T (rs9282858) Polimorfizminin Saptanması

SRD5A2 geni rs9282858 (A49T) polimorfizminde C nükleotidi yerine T nükleotidi geldiğinde, alanin aminoasidi (Kodon: GCC) yerine treonin amino asidi (Kodon: ACC) sentezlenmektedir. İki adet TaqMan Minor Groove binder (MGB) ve Nonfluorescent quenchers (NFQ) bağlı prob bulunan sistemde VIC-etiketli prob ile spesifik olarak Allel 1 (T alleli), ve FAM-etiketli prob ile spesifik olarak Allel 2 (C alleli) dizisi tespit edildi (Şekil 6).

Analiz sonuçları incelendiğinde 11 hasta gönüllü Heterozigot TC (% 50), 9 hasta gönüllü homozigot TT (% 40.9), 1 hasta gönüllü homozigot CC (% 4.5) olarak

saptandı (Tablo 15). Dahil edilen 22 hasta gönüllü arasında BCA14 koduna sahip 7 numaralı hasta gönüllünün genotipi belirlenemedi.

Nüks görülen hasta gönüllülerin % 75'i Heterozigot (n=3) TC, % 25'i homozigot TT'dir (n=1). Analiz sonuçları 9 hasta gönüllüde (TT genotipi) alanin yerine treonin amino asidi sentezlendiğini ve bu hasta gönüllülerin A49T polimorfizmine sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan istatistiksel analizlerde A49T polimorfizminin farklı genotipleri ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.715).



Şekil 6. A49T alleli (rs9282858)'nin saptanması

Nüks gözlenen hasta gönüllülerin büyük çoğunluğu (% 75) heterozigot TC olmasına rağmen, nüks gözlenmeyen hasta gönüllülerde de heterozigot TC genotipi saptandı. Nüks görülen tüm hasta gönüllülerde en az bir T alleli varlığı dikkat çekmektedir ancak nüks görülmeyen hastalarda da T allelinin yoğun olarak saptanması nedeniyle T alleli varlığı ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.639).

Tablo 15. A49T polimorfizmi (rs9282858) ve hasta gönüllülerin genotipleri

<i>Kan örneği kodu</i>	<i>VIC (T) Allel 1</i>	<i>FAM (C) Allel 2</i>	<i>Genotip</i>
BCA 1 (Hasta No 13)	+	+	Heterozigot TC
BCA 2 (Hasta No 10)	+	-	Homozigot TT
BCA 3 (Hasta No 22)	+	-	Homozigot TT
BCA 4 (Hasta No 23)	+	+	Heterozigot TC
BCA 5 (Hasta No 19)	+	+	Heterozigot TC
BCA 7 (Hasta No 11)	+	-	Homozigot TT
BCA 8 (Hasta No 20)	+	-	Homozigot TT
BCA 9 (Hasta No 18)	+	-	Homozigot TT
BCA 10 (Hasta No 16)	+	-	Homozigot TT
BCA 11 (Hasta No 12)	+	-	Homozigot TT
BCA 12 (Hasta No 15)	+	-	Homozigot TT
BCA 13 (Hasta No 17)	+	+	Heterozigot TC
BCA 14 (Hasta No 7)	-	+	Belirlenemedi
BCA 15 (Hasta No 6)	+	+	Heterozigot TC
BCA 16 (Hasta No 9)	-	+	Homozigot CC
BCA 17 (Hasta No 3)	+	+	Heterozigot TC
BCA 18 (Hasta No 2)	+	-	Homozigot TT
BCA 19 (Hasta No 8)	+	+	Heterozigot TC
BCA 20 (Hasta No 4)	+	+	Heterozigot TC
BCA 21 (Hasta No 5)	+	+	Heterozigot TC
BCA 22 (Hasta No 14)	+	+	Heterozigot TC
BCA 23 (Hasta No 1)	+	+	Heterozigot TC

Nüks olarak değerlendirilen hasta gönüllüler tabloda kalın olarak işaretlenmiştir.

Ayrıca, TT, TC ve CC genotiplerine sahip bireylerin ayrı ayrı nüks, patolojik tanı, tümör evresi, tümör derecesi, EORTC risk skoru, advers olay ve ciddi advers olay varlığı ile ilişkileri ve ilgili genotiplere sahip bireylerin yaş ortalamaları karşılaştırıldı. Analiz sonucunda tümör evresi, tümör derecesi ve EORTC risk skoru ile bireylerin genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 16). TT ve TC genotipine sahip bireylerin yaş ortalamaları (sırasıyla 71.11 ± 7.07 ve 59.63 ± 13.80) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p=0.037$).

Tablo 16. TT, TC ve CC genotipleri ile nüks, patolojik tanı, tümör evresi, tümör derecesi, EORTC risk grubu, advers olay ve ciddi advers olay varlığı ilişkisi

	TT genotipi	TC genotipi	CC genotipi	p
Nüks				
Var, n (%)	1 (%11.1)	3 (%27.3)	0 (%0)	0.715
Yok, n (%)	8 (%88.9)	8 (%72.7)	1 (%100)	
Patolojik Tanı				
Papiller ürotelyal karsinom,	7 (%77.8)	7 (%63.6)	1 (%100)	0.718
İnvaziv papiller ürotelyal karsinom,n (%)	1 (%11.1)	4 (%36.4)	0 (% 0)	
Solid İnvaziv Ürotelyal karsinom, n (%)	1 (%11.1)	0 (%0)	0 (% 0)	
Tümör Evresi				
PTa, n (%)	7 (%77.8)	6 (%54.5)	1 (%100)	0.521
PT1, n (%)	2 (%22.2)	5 (%45.5)	0 (%0)	
Tümör Derecesi				
Düşük, n (%)	5 (%55.6)	6 (%54.5)	1 (%100)	0.676

<i>Yüksek, n (%)</i>	4 (%44.4)	5 (%55.5)	0 (%0)	
EORTC Risk Grubu				
<i>Orta, n (%)</i>	5(%55.6)	6(%54.5)	1 (%100)	0.676
<i>Yüksek, n (%)</i>	4 (%44.4)	5 (%45.5)	0 (%0)	
Advers Olay				
<i>Var, n (%)</i>	8 (%88.9)	7 (%63.6)	0 (%0)	0.196
<i>Yok, n (%)</i>	1 (%11.1)	4 (%36.4)	1(%100)	
Ciddi Advers Olay				
<i>Var, n (%)</i>	1 (%11.1)	2 (%18.2)	0 (%0)	0.906
<i>Yok, n (%)</i>	8 (%88.9)	9 (%81.8)	1 (%100)	
n: Sayı				

4.3. Çalışma Sırasında Gözlenen Advers Olaylar

Çalışmanın güvenlik hedefi, tedavi edilen hasta gönüllülerde advers olayların saptanmamasıydı.

Dahil edilen 23 hasta gönüllünün 16'sında (% 69.6), araştırmada bulundukları süre içerisinde en az bir advers olay, üç hasta gönüllüde (%13) ise ciddi advers olay gelişti. Hasta gönüllülerde görülen advers olayların büyük çoğunluğunu idrar yolu enfeksiyonu oluştururken (% 56.5), üst solunum yolu enfeksiyonları, genel durum bozukluğu, karın ağrısı, halsizlik, iştahsızlık, kusma gibi advers olaylar da kaydedildi (Tablo 17). Saptanan advers olayların dutasterid ve BCG immünoterapisi ile nedensellik ilişkisi Liverpool Nedensellik Değerlendirme Aracı (LCAT), Naranjo Yöntemi ve Dünya Sağlık Örgütü-Uppsala İlaç İzlem Merkezi Nedensellik Değerlendirme Sistemi kullanılarak değerlendirildi. Hiçbir hasta gönüllüde dutasterid ile nedensellik ilişkisi kurulan advers reaksiyon gözlenmedi. İdrar yolu

enfeksiyonunun dutasterid ile nedensellik ilişkisinin her üç skalaya göre değerlendirilmesine ilişkin örnek, Ek-3'te sunulmaktadır. Çalışma sırasında gözlenen advers olayların Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI-CTCAE) 5.0' a göre derecelendirilmesi Tablo 18'de sunulmaktadır.

Ciddi advers olaylar ise hipotansiyon, koroner arter hastalığı, dispne ve üretral darlık sebebiyle hastaneye yatışı gerektirecek durumlardan oluşmaktadır (Tablo 17). Ciddi advers olaylar ile araştırma ürünleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili saptanmadı.

Tablo 17. Çalışma sırasında gözlenen advers olaylar

	Çalışma Popülasyonu
Advers Olay, n (%)*	16 (%69.6)
<i>İdrar Yolu enfeksiyonu, n (%)</i>	13 (%56.5)
<i>Dizüri, n (%)</i>	3 (%13)
<i>Üst Solunum Yolu enfeksiyonu, n (%)</i>	3 (%13)
<i>Genel Durum Bozukluğu, n (%)</i>	2 (%8.7)
<i>Kusma, n (%)</i>	1 (%4.3)
<i>Karın Ağrısı, n (%)</i>	1 (%4.3)
<i>Hematüri, n (%)</i>	1 (%4.3)
<i>Halsizlik, n (%)</i>	1 (%4.3)
<i>COVID-19 enfeksiyonu, n (%)</i>	1 (%4.3)
Ciddi Advers Olay, n (%)**	3 (%13)
<i>Koroner Arter Hastalığı, n (%)</i>	1 (%33.3)

<i>Dispne, n (%)</i>	1 (%33.3)
<i>Hipotansiyon, n (%)</i>	1 (%33.3)
<i>Üretral Darlık, n (%)</i>	1 (%33.3)

***Bazı olgularda birden fazla türde advers olay gözlenmiştir.**

**** Bir olguda 2 adet ciddi advers olay bir arada gerçekleşmiştir.**

n: Hasta gönüllü sayısı

Tablo 18. Çalışma sırasında gözlenen advers olayların Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI-CTCAE) 5.0' a göre derecelendirilmesi

		CTCAE 5.0 terminolojisine göre şiddet derecesi			
		Advers Olaylar			
		Derece 1	Derece 2	Derece 3	Derece 4
İdrar yolu enfeksiyonu			13/13		
	n=13	-	(%100)	-	-
Dizüri		3/3			
	n=3	(%100)	-	-	-
Üst solunum yolu enfeksiyonu			3/3		
	n=3	-	(%100)	-	-
Hematüri		1/1			
	n=1	(%100)	-	-	-
Kusma		1/1			
	n=1	(%100)	-	-	-
Karın ağrısı		1/1			
	n=1	(%100)	-	-	-
Ciddi Advers Olaylar					

	Derece 1	Derece 2	Derece 3	Derece 4
Hipotansiyon			1/1	
n=1	-	-	(%100)	-
Dispne		1/1		
n=1	-	(%100)	-	-
Göğüs ağrısı		1/1		
n=1	-	(%100)	-	-



5. TARTIŞMA

Ana proje olan faz 2 klinik çalışmada, mesane kanserli hasta gönüllülerde standart BCG tedavisine eklenen dutasterid tedavisi, nüks oranını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmadı. Ana projenin bir iş paketi kapsamında gerçekleştirilen çalışmamızda, mesane kanseri tanısı ile BCG immünoterapisine eklenen dutasteridi alan hasta gönüllülerin kan örneklerinde 5-alfa redüktaz tip 2 enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmler incelendi. Çalışma süresince mesane kanseri nüksü, progresyonu ve ortaya çıkan tüm advers olaylar kayıt altına alındı. Çalışma popülasyonunda bu polimorfizmler ortaya konarak bireylerin enzim aktiviteleri arasındaki olası farklılık ile hastalık nüksü ve advers olaylar arasındaki ilişki değerlendirildi.

5-alfa redüktaz tip 2 enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki V89L (rs523349) polimorfizminin, dutasteridin etkililiği ve güvenliliği ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine) veri tabanında V89L polimorfizmi için G>A (Guanin>adenozin), G>C (Guanin>sitozin) ve G>T (guanin>timin) nükleotid yer değişiklikleri tanımlanmaktadır (49). Çalışmamızda V89L polimorfizmi için tanımlanan değişikliklerin arasında olan G nükleotidi yerine C nükleotidinin transvers yer değişikliği (transversiyon) analiz edilmiştir. SRD5A2 genindeki V89L (rs523349) polimorfizminde DNA dizisindeki ilgili kodonda G nükleotidi yerine C nükleotidi geldiğinde, valin amino asidi yerine lösin amino asidi sentezlenmektedir. Bir çalışmada, V89L (rs523349) polimorfizminin, 5-alfa redüktaz enzim aktivitesini yaklaşık % 40 oranında azalttığı gösterilmiştir (50). Bu polimorfizme sahip hastalarda 5-alfa redüktaz enziminin aktivitesinin azalmasının, DHT (dihidrotestosteron) üretimini ve androjen reseptörü aracılı sinyal yolağının aktivasyonunu azaltması beklenmektedir. Bununla birlikte enzim aktivitesinin azalması nedeniyle dutasteridin etkisinin artması beklenmektedir. Bu polimorfizme sahip hastalarda kanserin progresyonu ve nüks olasılığının azalması öngörülmektedir.

5-alfa redüktaz tip 2 enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki A49T (rs9282858) polimorfizminin de, dutasteridin etkililiği ve güvenliliği ile ilişkili olduğu

raporlanmaktadır (4). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine) veritabanında A49T polimorfizmi için C>T nükleotid (Sitozin>timin) yer değişikliği tanımlanmaktadır. Çalışmamızda A49T polimorfizmi için C nükleotidi yerine T nükleotidinin transizyonel yer değişikliği analiz edilmiştir. SRD5A2 genindeki A49T (rs9282858) polimorfizminde DNA dizisindeki ilgili kodonda C nükleotidi yerine T nükleotidi geldiğinde, alanin amino asidi yerine valin amino asidi sentezlenmektedir (51). A49T polimorfizminin, 5-alfa redüktaz enzim aktivitesini yaklaşık 5 kat arttırdığı bildirilmektedir (50). DHT üretiminin artması sonucu androjen reseptörü (AR) uyarılmaktadır. Böylelikle bu yolak üzerinde mesane kanseri patogenezinde rol oynayabilecek olası bir androjenik mekanizma varlığında kanserin progresyonunun artması beklenmektedir. Bununla birlikte enzim aktivitesinin artması nedeniyle dutasteridin etkisinin azalması beklenmektedir. Bu polimorfizme sahip hastalarda kanserin progresyonu ve nüks olasılığının artması öngörülmektedir.

Çalışmamız mesane kanseri tanımlı hastalarda SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin analiz edildiği ilk çalışmadır. Bu nedenle bulgularımızı tartışırken patogenezinde androjen reseptörlerinin rol aldığı bilinen benign prostat hiperplazisi ve prostat kanseri hastalarında gerçekleştirilen analizlerden yararlandık. Bu çalışmaların büyük çoğunluğu kanser gelişim riski ile ilgili polimorfizmlerin ilişkisini incelemektedir. Polimorfizmlerin hastalık nüksü ile ilişkisi değerlendirilirken kanser patogenezinde rol alan mekanizmalarla benzer şekilde nüks geliştiği kabul edildi.

SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin dutasteridin etkililiği üzerindeki rolünün değerlendirilmesi

Çalışmamızda, tüm hasta gönüllülerin SRD5A2 geni V89L polimorfizmi açısından homozigot GG genotipine sahip olduğunu saptadık. Çalışmaya dahil edilen hiçbir hasta gönüllüde SRD5A2 genindeki V89L polimorfizmi yoktu. Bu bulguya dayanarak tüm hasta gönüllülerde valin amino asidinin sentezlendiği kabul edildi. Tüm hasta gönüllülerin aynı genotipe sahip olması nedeniyle SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkisi istatistiksel olarak incelenemedi.

Nam ve arkadaşları tarafından yapılan bir olgu-kontrol çalışmasında, serum prostat spesifik antijen düzeylerinin yüksekliği ya da anormal prostat muayene bulguları nedeniyle prostat biyopsisi alınan hasta gönüllülerde, SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin prostat kanseri gelişme riskinin öngörülmesindeki yeri araştırılmıştır. Araştırmacılar, prostat kanseri tanısı alan 158 olgu ve prostat kanseri tanısı almayan 162 kontrol hastadan alınan kan örneklerinde V89L polimorfizmi analiz ederek bulguları karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada genotipler aminoasit isimleriyle anılmış olup VV (valin, valin) genotipi çalışmamızdaki GG genotipi ile örtüşmektedir. VV (valin, valin), VL (valin, lösin) ve LL (lösin, lösin) genotiplerinin oranları sırasıyla % 47.5, % 42.5 ve % 10 ve VV, VL ve LL genotiplerine sahip hastalarda prostat kanseri gelişme oranları ise sırasıyla % 52.6 (80/152), % 49.3 (67/136) ve % 34.4 (11/32) saptanmıştır. LL genotipiyle karşılaştırıldığında en az bir V alleli (VV veya VL) taşıyanlarda prostat kanseri gelişme olasılık oranının 2.53 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (52). Bu çalışmanın prostat kanserli hastalarda VV genotipinin yoğun olarak saptandığını göstermesi, çalışmamızda tüm hasta gönüllülerin valin aminoasidi sentezlenmesini sağlayan GG genotipine sahip olması ile benzerdir. Bu bulgu, 5-alfa redüktaz enzimini kodlayan SRD5A2 genindeki G alleli varlığının mesane kanserinin patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda kontrol grubunun olmaması nedeniyle karşılaştırma yapılamaması SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin mesane kanseri ile ilişkisini kesin olarak ortaya koyamamıştır.

Tersine, valin amino asidi varlığının prostat kanseri riskini artırdığını gösteren çalışmaları desteklemeyen çalışmalar da bulunmaktadır. Bir olgu-kontrol çalışmasında prostat kanseri tanısı olan ve olmayan kardeşlerde (411 aileden 440 olgu, 480 kontrol) SRD5A2 genindeki V89L polimorfizmi karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda en az bir L alleli taşımanın prostat kanseri riskini yaklaşık 1.5 kat artırdığı saptanmıştır (Odds ratio:1.56, %95 Güven Aralığı 1.08-2.25, p=0.02) (53). Bizim çalışmamızda ise mesane kanseri tanılı hasta gönüllülerin hiçbirinde lösin amino asidi sentezi saptanmadı.

Bir başka olgu-kontrol çalışmasında, 89 prostat kanserli, 45 benign prostat hiperplazili ve 223 sağlıklı kontrol grubunda SRD5A2 genindeki V89L polimorfizmi

analiz edilmiştir. Prostat kanseri olanlarda homozigot LL alleli kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük oranda saptanmış ($p=0.05$) olmasına karşın benign prostat hiperplazili olgular ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu çalışmanın bulguları, düşük transkripsiyon aktivitesine sahip olduğu bilinen homozigot LL alleleline sahip bireylerde prostat kanseri gelişmesinde, testosteronu dihidrotestosterona dönüştüren başka genetik yatkınlıklar ve 5-alfa redüktaz enzimi dışındaki faktörlerin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir (54).

SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen birkaç meta-analizde ise bu polimorfizm ile kanser gelişimi arasında ilişki bulunamamıştır. SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen ve 45 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde SRD5A2 genindeki V89L polimorfizmi ile prostat kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır (Odds ratio: 1.03, % 95 Güven Aralığı 0.98-1.08) (55). Bir başka meta-analizde de SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisini araştırmak amacıyla beyaz ırk, siyah ırk, Asyalı ve Hispanik etnik kökene sahip bireyler dahil edilmiştir. V89L polimorfizmi özelinde 10,088 olgu ve 10,120 kontrolün analizinde SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin L alleli ile V alleli arasında prostat kanseri riski açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptanmamıştır (Odds ratio: 0.99, Güven Aralığı %95 0.94-1.05) (56). Bir başka meta-analizde de 8,615 olgu ve 9,089 kontrolün analizinde, SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisi araştırılmış, LL genotipine sahip bireylerdeki prostat kanseri gelişme riskinin VV genotipine sahip bireylerdeki riskten farklı olmadığı saptanmıştır (Odds ratio:1.05, %95 Güven Aralığı 0.87-1.26, $p=0.61$) (57). Meta analizler prostat kanseri ile V89L polimorfizmi arasında ilişki olmadığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda da mesane kanseri ile V89L polimorfizmi arasındaki ilişki varlığını gösteremedik. Meta-analiz sonuçları dikkate alındığında, kanser patogenezi ile ilişkisi olmayan bir genin hastalık nüksü ile ilişkili olması da beklenmemektedir. Çalışmamızdaki hasta gönüllülerin mesane kanseri tanısına ve aynı genotipe sahip olması nedeniyle bulgular meta- analiz bulguları ile karşılaştırılamadı.

Polimorfizmlerin sıklığının ırklar arası farklılık gösterdiği bilinmektedir. Asya ırkı ile yapılan bir olgu-kontrol çalışmasında, 1993-1995 yılları arasında prostat kanseri tanısı almış 191 olgu ve 304 sağlıklı kontrolde SRD5A2 genindeki V89L, A49T ve R227Q polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. V89L polimorfizmi özelinde, VV, VL ve LL genotiplerinin sıklığının prostat kanseri olgularında sırasıyla % 21.5, % 46.2 ve % 32.3; kontrol grubunda sırasıyla 20.5, % 44.9 ve %34.7 olduğu saptanmıştır. Prostat kanseri gelişme riskinin, LL genotipine sahip bireylerde VV genotipine sahip bireylere göre daha düşük olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlılık göstermediği belirtilmiştir (Odds ratio:0.88, % 95 Güven Aralığı, 0.53-1.47) (58). SRD5A2 genindeki V89L polimorfizmi ve CYP17 gen polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisini incelemek amacıyla Türk popülasyonda gerçekleştirilen bir olgu-kontrol çalışmasına, prostat kanseri tanısı alan 100 olgu ve 105 kontrol dahil edilmiştir. VV, VL, ve LL genotiplerinin sıklıklarının prostat kanseri olgularında sırasıyla % 8, %37 ve % 55; kontrol grubunda ise sırasıyla % 5.7, % 36.2 ve % 58.1 olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada da VV ve VL genotipleri ile kıyaslandığında LL genotipine sahip olunmasının prostat kanseri riskini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırmadığı belirtilmiştir (Odds ratio:1.13, % 95 Güven Aralığı 0.65-1.97). Aynı çalışmada, VV genotipine sahip olunmasının, LL ve VL genotipleri ile karşılaştırıldığında, prostat kanseri riskini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırmadığı gösterilmiştir (Odds ratio:1.43, Güven Aralığı % 95, 0.48-4.29) (59). Farklı ırklarda genotip sıklıkları değerlendirildiğinde prostat kanseri olgularında VV genotipinin sıklığının VL ve LL genotiplerine göre düşük olduğu görülmektedir. Tersine bizim çalışmamızda VV genotipi ile örtüşen GG genotipinin sıklığının % 100 olarak saptanmış ancak mesane kanserinde ırka bağlı polimorfizm konusunda çalışmanın bulunmaması nedeniyle çalışmamızda bu durum değerlendirmeye alınmamıştır.

Türk popülasyonda gerçekleştirilen başka bir çalışmada, benign prostat hiperplazisi tanısı olan 39 olgu ve 34 kontrol hastası dahil edilmiştir. Çalışmada belirlenen genotipler Val89 ve Leu89 olarak adlandırılmıştır. Val89 genotipi bizim çalışmamızdaki GG genotipi ile Leu89 genotipi ise LL genotipi ile örtüşmektedir. Çalışmada Val89 genotipinin benign prostat hiperplazili hastalardaki sıklığı % 27.1, Leu89 genotipinin sıklığı ise % 72.9 olarak saptanmıştır. Kontrol hasta grubunda

Val89 genotipinin sıklığı % 37.9, Leu89 genotipinin sıklığı ise % 62.1 olarak saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları benign prostat hiperplazisi ile SRD5A2 genindeki V89L polimorfizm arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadığını göstermektedir (39). Çalışmamızda, bu çalışmadaki Val89 genotipine karşılık gelen GG genotipinin sıklığı % 100 olarak saptandı. Sözkonusu çalışmadan farklı olan bu bulgu, çalışmamızın örneklem büyüklüğünün küçük olması, kontrol grubunun olmaması, hastaların tümünün mesane kanseri tanısına sahip olması, SRD5A2 genindeki V89L polimorfizminin literatürde ilk kez mesane kanseri hastalarında analiz ediliyor olması ile açıklanabilir.

SRD5A2 genindeki A49T polimorfizminin dutasteridin etkililiği üzerindeki rolünün değerlendirilmesi

Çalışmamızda, SRD5A2 geni A49T polimorfizmi açısından 22 hasta gönüllünün 11'i heterozigot TC (% 50), 9'u homozigot TT (% 40.9), 1'i homozigot CC (% 4.5) olarak saptandı. Bir hasta gönüllünün genotipi belirlenemedi. Nüks görülen hasta gönüllülerin % 75'inin heterozigot TC (n=3), % 25'inin ise homozigot TT (n=1) olduğu saptandı. A49T polimorfizminin farklı genotipleri ile hastalık nüksü arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0.715). Nüks görülen hasta gönüllülerde en az bir T alleli vardı. Bununla birlikte, nüks görülmeyen hastalarda da T allelinin yoğun olarak saptanması nedeniyle T alleli varlığı ile nüks gelişme riski arasında bir ilişki yoktu.

SRD5A2 genindeki A49T polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisini araştırmak amacıyla beyaz ırk, siyah ırk, Asyalı ve Hispanik etnik kökenli 4,998 olgu ve 5,451 kontrolün dahil edildiği bir meta-analizde, T alleli ile A alleli arasında prostat kanseri riski açısından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde bir farklılık saptanmamıştır (Odds ratio: 1.10, Güven Aralığı % 95 0.86-1.40) (56). Bu çalışmada aminoasit adları ile verilen allellerden T alleli çalışmamızdaki T alleliyle, A alleli ise çalışmamızdaki C alleli ile örtüşmektedir. Benzer olarak Türk popülasyonunda gerçekleştirilen bir olgu-kontrol çalışmasında da prostat kanseri tanısı olan ve olmayan kardeşlerde (411 aileden 440 olgu, 480 kontrol) SRD5A2 genindeki A49T polimorfizmi karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda ilgili polimorfizm ve prostat kanseri riski açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (53). Türk

popülasyonunda gerçekleştirilen, prostat kanseri tanılı 80 olgu ve 76 sağlıklı kontrolün dahil edildiği bir başka çalışmada da prostat kanseri ile SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. A49T polimorfizmi açısından, prostat kanseri olanlarda alanin ve treonin aminoasidi sentezlenmesini sağlayan genetik özelliğe sahip bireylerin sıklığının sırasıyla % 97.5 ve % 2.5 olduğu saptanmış ancak iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (60). Çalışmamızda ise benzer olarak bir hasta gönüllü dışında diğerlerinin treonin amino asidinin sentezini sağlayan en az bir T alleli taşıdığı saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bununla birlikte, çalışmamızda kanserin gelişme riski değil nüks oranı değerlendirmeye alınmıştır.

SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen ve 45 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde T alleleline sahip bireylerde A alleleline sahip bireylere kıyasla prostat kanseri riskinin 1.24 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (Odds ratio: 1.24, % 95 Güven Aralığı 1.02-1.50). Sadece Kafkas ırkı ile yapılan 13 çalışma ile tekrar analiz gerçekleştirildiğinde de benzer sonuç bulunmuştur (Odds ratio: 1.24 , % 95 Güven Aralığı 1.01-1.53) (55). Mesane kanserinde ırka bağlı polimorfizm konusunda çalışmanın bulunmaması nedeniyle çalışmamızda bu durum değerlendirmeye alınmamıştır.

Bir başka olgu-kontrol çalışmasında, 89 prostat kanserli, 45 benign prostat hiperplazili ve 223 sağlıklı kontrol grubunda SRD5A2 genindeki A49T polimorfizmi analiz edilmiştir. Prostat kanseri olanlarda AT genotipi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük oranda saptanmış olmasına karşın benign prostat hiperplazili olgular ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmada genotipler AA, AT ve AA olarak adlandırılmış ve bu genotipler sırasıyla çalışmamızdaki CC, CT ve TT genotipleri ile örtüşmektedir (54). Çalışmamızda farklı genotiplere sahip, kanser tanısı olan hasta gönüllülerin nüks oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Türk popülasyonunda gerçekleştirilen bir çalışmada, benign prostat hiperplazisi tanısı olan 39 olgu ve 34 kontrolde belirlenen genotipler Ala49 ve Thr49 olarak adlandırılmıştır. Ala49 genotipi çalışmamızdaki CC, Thr49 genotipi ise TT genotipi

ile örtüşmektedir. Çalışmada Ala49 genotipinin benign prostat hiperplazili hastalardaki sıklığı % 74.3, Thr49 genotipinin sıklığı ise % 25.7 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda Ala49 genotipinin sıklığı % 91.4, Thr49 genotipinin sıklığı ise % 8.6 olarak saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları, Thr49 genotipinin benign prostat hiperplazisi görülme riskini 2.3 kat artırdığını göstermektedir (Odds ratio: 2.3, Güven Aralığı %95 1.04-5.1, $p=0.01$) (39). Çalışmamızda ise sözkonusu çalışmadakinden farklı olarak Ala49 genotipine karşılık gelen CC genotipinin sıklığı % 4.5, Thr49 genotipine karşılık gelen TT genotipinin sıklığı ise % 50 olarak saptandı. Sözkonusu çalışmada Thr49 genotipinin prostat hiperplazisi riskini arttırması ile bizim çalışmamızda nüks saptanan hasta gönüllülerin tümünde en az bir T alleli bulunması benzer olmasına karşın genotipler ile mesane kanseri nüksü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Bu bulgu çalışmamızın örneklem büyüklüğünün küçük olması ve kontrol grubu olmaması ile açıklanabilir.

Makridakis ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen, 216 Afrika-Amerikan ve 172 Hispanik etnik kökenli prostat kanserli olgu ile 261 Afrika-Amerikan ve 200 Hispanik etnik kökenli sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği bir çalışmada, SRD5A2 genindeki A49T polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisi araştırılmıştır. Prostat kanseri, TNM sınıflamaları ve Gleason skorlarına göre lokalize ve ilerlemiş olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmada Afrika-Amerikan kökenli ilerlemiş prostat kanseri olgularının 69'unun AA, 7'sinin AT ve 2'sinin TT genotipine, kontrol grubunda ise 257'sinin AA, 3'ünün AT ve 1'inin TT genotipine sahip olduğu saptanmıştır. Prostat kanseri gelişme riskinin AA genotipine sahip bireylerde AT/TT genotiplerine sahip bireylere göre yaklaşık 7 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (Odds ratio: 7.22, % 95 Güven Aralığı 2.17-27.91, $p=0.001$) (40). Çalışmamızda ise TT, TC ve CC genotipi ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Aynı çalışma grubunun 2009 yılında yayınladığı bir makalede daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip ve beş farklı etnik kökene ait bireylerin de dahil edildiği bir kohort ile analizlerin güncellendiği belirtilmiştir. Önceki analiz sonuçlarının aksine, AT ve TT genotipine sahip bireylerin prostat kanseri riskinde artış gözlemlendiği ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde olmadığı saptanmıştır (Odds ratio: 1.16, %95 Güven Aralığı 0.79-1.69). Bu bulgunun bir önceki çalışmada gerçekleştirilen genotipleme hatasıyla ilgili olabileceğinden bahsedilmiştir. Ek olarak, çalışma grubu o tarihe kadar

gerçekleştirilen çalışmaların (1999-2009 yılları arasında yayınlanan 19 yayın) da dahil edildiği bir meta-analizde ve A49T polimorfizmi ile prostat kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Odds ratio: 1.1, %95 Güven Aralığı, 0.91-1.34) (61). İlgili çalışma, genotipleme analizinde hatalarla karşılaşılabilceği, analizlerin kalite kontrolünün yapılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Asya ırkı ile yapılan bir olgu-kontrol çalışmasında, 1993-1995 yılları arasında prostat kanseri tanısı almış 191 olgu ve 304 sağlıklı kontrolde SRD5A2 genindeki V89L, A49T ve R227Q polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. A49T polimorfizmi özelindeki analizlerde analiz edilen tüm bireylerin (olgu ve kontrol grubu) genotipi AA olarak saptanmıştır (58). Bu nedenle bir olasılık oranı belirlenememiştir. Bu çalışma bizim çalışmamızdan daha büyük örneklem büyüklüğüne ve kontrol grubuna sahip olmasına rağmen yine de bazı genotiplerin sıklığının %100 olarak bulunmasının mümkün olduğunu göstermesi açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamız, SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin mesane kanserli hastalardaki sıklığını ortaya koyan ve mesane kanseri nüksü ile ilişkisini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır. V89L polimorfizminde GG genotipinin %100 olarak saptanması çalışmamızın küçük örneklem büyüklüğüne sahip olması ile açıklanabilir. Nüks gelişimi ile A49T ve V89L polimorfizmi arasındaki olası ilişkinin ortaya konması için daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip ve kontrol grubunun da dahil edileceği ileri çalışmaların planlanması gerekmektedir.

SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin dutasteridin güvenliliği üzerindeki rolünün değerlendirilmesi

Çalışmamızın amaçlarından biri SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin dutasteride bağlı gelişebilecek advers olaylar ile ilişkisini araştırmak idi. Çalışma süresince hasta gönüllülerin % 69.6'sında advers olay gelişti. En sık raporlanan advers olaylar sırasıyla idrar yolu enfeksiyonu (% 56.5), üst solunum yolu enfeksiyonu (% 13), dizüri (% 13) ve genel durum bozukluğu (% 8.7) idi. Çalışma süresince üç hasta gönüllüde hastaneye yatışı gerektirecek ciddi advers olay gelişti. Hasta gönüllülerin birinde iki adet ciddi advers olay gelişti. Bu advers olaylar koroner

arter hastalığı, dispne, hipotansiyon ve üretral darlık olarak raporlandı. Çalışmamızın süresi boyunca hiçbir hasta gönüllüde dutasterid ile nedensellik ilişkisi kurulan advers olay gelişmedi. Bu nedenle SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin dutasteride bağlı advers olaylar ile ilişkisi analiz edilmedi.

Çalışmamızda SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmlerinin en az bir advers olay gelişimi ve ciddi advers olay gelişimi ile ilişkisi araştırıldı. V89L polimorfizmi açısından tüm hasta gönüllülerin aynı genotipe sahip olması nedeniyle analiz gerçekleştirilemedi. A49T polimorfizmi açısından analiz gerçekleştirildiğinde ise genotipler ile en az bir advers olay gelişimi ve ciddi advers olay gelişimi arasında bir ilişki saptanmadı.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Dutasterid, hasta gönüllülere “Primer ve kasa invaze olmayan orta ve yüksek riskli mesane kanseri tanılı hastalarda standart BCG immunoterapisine eklenen dutasteridin etkililiği ve güvenliliğinin araştırıldığı tek kollu, tek merkezli bir Faz 2 araştırma” kapsamında verildi. Endikasyon dışı kullanım olması nedeniyle çalışma popülasyonu genişletilemedi ve Faz 2 çalışma popülasyonu ile sınırlı kaldı. Çalışmamızın en önemli kısıtlılıklarından biri de kontrol grubu bulunmaması idi. Kontrol grubunun varlığı, genotip sıklıkları ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye sahip olunmasına olanak sağlayacaktır. Genotipleme analizi, analiz dönemi öncesinde döviz kurlarının yükselişi nedeniyle planlanan bütçeyi aşmıştır. Ek olarak analiz için temin edilecek malzemeler COVID-19 pandemisi nedeniyle gecikmeli olarak teslim edilmiş ve bu nedenle ödemelerin miktarları daha da yükselmiştir. Analizler mevcut bütçe ile tamamlanmış olmakla birlikte sözedilen gerekçelerle genotipleme analizi başlangıçta planlandığı kadar kapsamlı gerçekleştirilememiştir.

Sonuç olarak, çalışmamız sınırlı sayıda da olsa mesane kanseri tanılı hastalarda SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmleri ile ilgili bulgu sunması nedeniyle literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır. SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizminin dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki olası etkisini ortaya koyacak daha geniş örneklem büyüklüğü ve kontrol grubuna sahip ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

• Bu çalışma, primer ve kasa invaze olmayan orta ve yüksek riskli mesane kanseri tanılı hastalarda standart BCG immunoterapisine eklenen dutasteridin etkililiği ve güvenliliğinin araştırıldığı, tek kollu, tek merkezli bir Faz 2 araştırma kapsamında gerçekleştirildi. Mevcut çalışma, Faz 2 çalışmanın protokol değişikliği sonucunda ana projenin ikincil amaçlardan biri olarak eklendi. Yirmiiki hasta gönüllüden alınan kan örneklerinde SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmleri araştırıldı. V89L polimorfizmi özelinde tüm hasta gönüllüler homozigot GG olarak saptandı. Tüm hasta gönüllülerin aynı genotipe sahip olması nedeniyle istatistiksel analiz gerçekleştirilemedi. A49T polimorfizmi özelinde 11 hasta gönüllüde TC, 9 hasta gönüllüde TT ve 1 hasta gönüllüde CC genotipine saptanırken 1 hasta gönüllünün genotipi belirlenemedi. Genotiplerin nüks ile ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

• Mevcut çalışma mesane kanseri hastalarının SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizmini araştırarak ilk çalışmadır.

• Çalışmaya dahil edilen hasta gönüllülerde dutasteride bağlı advers olay oluşmadı. Dutasterid ile nedensellik ilişkisi kurulan advers etki raporlanmaması nedeniyle SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizminin dutasteridin güvenliliği ile ilişkisi araştırılamadı.

• SRD5A2 genindeki V89L ve A49T polimorfizminin dutasteridin etkililiği ve güvenliliği üzerindeki etkisini araştırmak için daha büyük örneklem büyüklüğüne ve kontrol grubuna sahip klinik çalışmalar planlanmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Roden, D., et al. "Genomics Medicine 2—Pharmacogenomics." *The Lancet* 394.10197 (2019): 521-532.
2. Food and Drug Administration, HHS. "International Conference on Harmonisation; Guidance on E15 Pharmacogenomics Definitions and Sample Coding; Availability. Notice." *Federal register* vol. 73,68 (2008): 19074-6.
3. Wake, Dyson T., et al. "Pharmacogenomics: prescribing precisely." *Medical Clinics* 103.6 (2019): 977-990.
4. Shastry, Barkur S. "SNPs: impact on gene function and phenotype." *Single Nucleotide Polymorphisms* (2009): 3-22.
5. Katara, Pramod. "Single nucleotide polymorphism and its dynamics for pharmacogenomics." *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences* 6.2 (2014): 85-92.
6. Sun, Liqun, Mei Zhou, and Tao Liu. "Association between SRD5A2 polymorphism and hypospadias: a meta-analysis." *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 74.2 (2019): 125-128.
7. Batista, Rafael Loch, and Berenice Bilharinho Mendonca. "Integrative and analytical review of the 5-alpha-reductase type 2 deficiency worldwide." *The Application of Clinical Genetics* 13 (2020): 83.
8. Batista, Rafael L., and Berenice B. Mendonca. "The Molecular Basis of 5 α -Reductase Type 2 Deficiency." *Sexual Development* 16.2-3 (2022): 171-183.
9. Wu, Christopher, and Anil Kapoor. "Dutasteride for the treatment of benign prostatic hyperplasia." *Expert opinion on pharmacotherapy* 14.10 (2013): 1399-1408.
10. Loughlin, Kevin R. "The clinical applications of five-alpha reductase inhibitors." *Can J Urol* 28 (2021): 10584-10588.
11. Lenis, Andrew T., Patrick M. Lec, and Karim Chamie. "Bladder cancer: a review." *Jama* 324.19 (2020): 1980-1991.
12. Babjuk, Marko, et al. "EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2016." *European urology* 71.3 (2017): 447-461.
13. Cumberbatch, Marcus George Kwesi, et al. "Epidemiology of bladder cancer: a systematic review and contemporary update of risk factors in 2018." *European urology* 74.6 (2018): 784-795.
14. Jiang, Song, and Gil Redelman-Sidi. "BCG in Bladder Cancer Immunotherapy." *Cancers* 14.13 (2022): 3073.
15. Kamat, Ashish M et al. "Predicting Response to Intravesical Bacillus Calmette-Guérin Immunotherapy: Are We There Yet? A Systematic Review." *European urology* vol. 73,5 (2018): 738-748.
16. Klein, Michelle E., Md Masud Parvez, and Jae-Gook Shin. "Clinical implementation of pharmacogenomics for personalized precision medicine: barriers and solutions." *Journal of pharmaceutical sciences* 106.9 (2017): 2368-2379.
17. Tekpınar, L., Erdem, R. Kişiselleştirilmiş Tıp ve Genom Araştırmalarının Sağlık Çıktıları Bağlamında Değerlendirilmesi. *Hacettepe Sağlık İdaresi Dergisi*, (2019): 22(4): 843-862.
18. Kayaalp, S. Oğuz. Akılcı tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2012.

19. Goetz, Laura H., and Nicholas J. Schork. "Personalized medicine: motivation, challenges, and progress." *Fertility and sterility* 109.6 (2018): 952-963.
20. National Cancer Institute, "Dictionary of Genetic Terms" (Erişim tarihi: 11 Eylöl 2022).
<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/genetics-dictionary/def/homozygous-genotype>
21. National Cancer Institute, "Dictionary of Genetic Terms" (Erişim tarihi: 11 Eylöl 2022).
<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/heterozygous-genotype>
22. National Cancer Institute, "Dictionary of Genetic Terms" (Erişim tarihi: 11 Eylöl 2022).
<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/polymorphism>
23. Roden, Dan M et al. "Pharmacogenomics: challenges and opportunities." *Annals of internal medicine* vol. 145,10 (2006): 749-57.
24. Daly, Ann K. "Pharmacogenetics: a general review on progress to date." *British medical bulletin* 124.1 (2017): 65-79.
25. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu- Klinik Uygulamaları (İKU) Kılavuzu– Tanımlar (Yayın tarihi: 19.12.2020) (Erişim tarihi: 05 Ağustos 2022).
https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/legislation/KADKLVZ01IKU13.11.2015Rev08_13ac0133-274b-44dc-98cd-33998758cc72.pdf
26. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu- İyi Farmakovijilans Uygulamaları (İFU) Kılavuzu Modöl I-Advers ilaç reaksiyonlarının yönetimi ve bildirimi. (Yayın tarihi: 12.06.2014) (Erişim tarihi: 05 Ağustos 2022).
<https://titck.gov.tr/Dosyalar/Ilac/Farmakovijilans/%c4%b0FU%20Mod%C3%BCl%20I.pdf>
27. Walter, Scott R., and Blanca Gallego. "Detecting Adverse Drug Events: Accuracy and Generalizability." *Therapeutic Innovation & Regulatory Science* 53.6 (2019): 795-796.
28. Keam, Susan J, and Lesley J Scott. "Dutasteride: a review of its use in the management of prostate disorders." *Drugs* vol. 68,4 (2008): 463-85.
29. Dutasteride. In: *Pharmacokinetics: In Depth Answers* [database on the Internet]. Greenwood Village (CO): IBM Corporation; 2021. (Erişim tarihi: 15 Ağustos 2022).
<https://www.micromedexsolutions.com/micromedex2/librarian>
30. Evans, Hannah C, and Karen L Goa. "Dutasteride." *Drugs & aging* vol. 20,12 (2003): 905-16; discussion 917-8.
31. Dutasteride. In: *Adverse Effects: In Depth Answers* [database on the Internet]. Greenwood Village (CO): IBM Corporation; 2021. (Erişim tarihi: 15 Ağustos 2022).
<https://www.micromedexsolutions.com/micromedex2/librarian>
32. Roehrborn, Claus G et al. "Efficacy and safety of dutasteride in the four-year treatment of men with benign prostatic hyperplasia." *Urology* vol. 63,4 (2004): 709-15.
33. Andriole, Gerald L, and Roger Kirby. "Safety and tolerability of the dual 5alpha-reductase inhibitor dutasteride in the treatment of benign prostatic hyperplasia." *European Urology* vol. 44,1 (2003): 82-8.

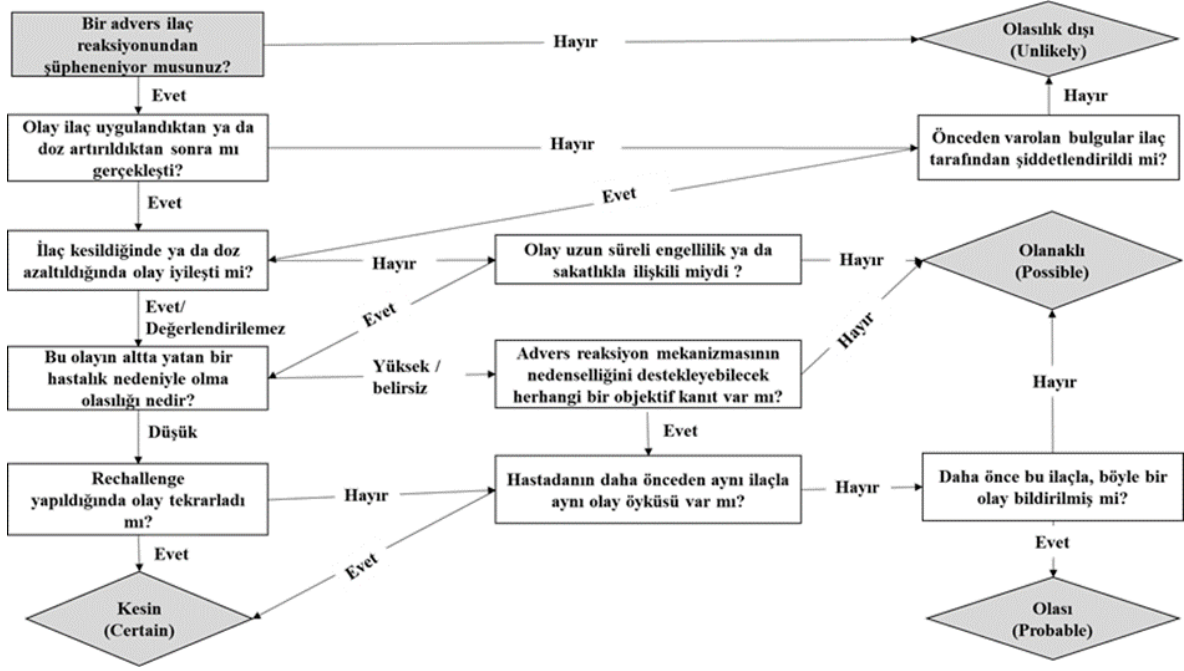
34. Fertig, Raymond M., et al. "Sexual side effects of 5- α -reductase inhibitors finasteride and dutasteride: A comprehensive review." *Dermatology Online Journal* 23.11 (2017).
35. Wilson, Jean D., James E. Griffin, and David W. Russell. "Steroid 5 α -reductase 2 deficiency." *Endocrine Reviews* 14.5 (1993): 577-593.
36. Okeigwe, Ijeoma, and Wendy Kuohung. "5-Alpha reductase deficiency: a 40-year retrospective review." *Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity* 21.6 (2014): 483-487.
37. Makridakis, Nick, Abebe Akalu, and Juergen KV Reichardt. "Identification and characterization of somatic steroid 5 α -reductase (SRD5A2) mutations in human prostate cancer tissue." *Oncogene* 23.44 (2004): 7399-7405.
38. Makridakis, Nick, and Juergen KV Reichardt. "Pharmacogenetic analysis of human steroid 5 α reductase type II: comparison of finasteride and dutasteride." *Journal of molecular endocrinology* 34.3 (2005): 617-623.
39. Izmirli, Muzeyyen, et al. "Associations of polymorphisms in HPC2/ELAC2 and SRD5A2 genes with benign prostate hyperplasia in Turkish men." *Asian Pac J Cancer Prev* 12.3 (2011): 731-3.
40. Makridakis NM, Ross RK, Pike MC, et al. Association of missense substitution in SRD5A2 gene with prostate cancer in African-American and Hispanic men in Los Angeles, United States. *Lancet*. 1999;354(9183):975–978.
41. Sissung, Tristan M., et al. "Genetic variation: effect on prostate cancer." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 1846.2 (2014): 446-456.
42. Sung, Hyuna, et al. "Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries." *CA: a cancer journal for clinicians* 71.3 (2021): 209-249.
43. World Health Organization- International Agency for Research on Cancer - Bladder Fact Sheet Globocan 2020 (Erişim: 10 Ağustos 2022). <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/30-Bladder-fact-sheet.pdf>
44. World Health Organization- International Agency for Research on Cancer- Cancer Today Map (Erişim: 10 Ağustos 2022). <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map>
45. EAU Guidelines: Non-muscle-invasive Bladder Cancer | Uroweb [Internet]. (Erişim tarihi: 22 Ağustos 2022). <https://uroweb.org/guideline/non-muscle-invasive-bladder-cancer/#4>
46. DeGeorge, Katharine Claire, Harry R. Holt, and Stephanie C. Hodges. "Bladder cancer: diagnosis and treatment." *American family physician* 96.8 (2017): 507-514.
47. Kuzgunbay, Baris, and Yildirim Beyazit. "The Risk Stratifications in Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: How Much Accurate are the Methods That We Use? A Multi-Directional View." (2015).
48. Shiota, Masaki, et al. "Suppressed recurrent bladder cancer after androgen suppression with androgen deprivation therapy or 5 α -reductase inhibitor." *The Journal of urology* 197.2 (2017): 308-313.
49. National Library of Medicine. "dbSNP Short Genetic Variations- Frequency" (Erişim tarihi: 11 Eylül 2022). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs523349?vertical_tab=true#frequency_tab

50. Makridakis, N M et al. "Biochemical and pharmacogenetic dissection of human steroid 5 alpha-reductase type II." *Pharmacogenetics* vol. 10,5 (2000): 407-13.
51. National Library of Medicine. "dbSNP Short Genetic Variations- Frequency" (Erişim tarihi: 11 Eylül 2022).
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs9282858?vertical_tab=true#frequency_tab
52. Nam, R. K., et al. "V89L polymorphism of type-2, 5-alpha reductase enzyme gene predicts prostate cancer presence and progression." *Urology* 57.1 (2001): 199-204.
53. Cicek, Mine S., et al. "Association of prostate cancer risk and aggressiveness to androgen pathway genes: SRD5A2, CYP17, and the AR." *The Prostate* 59.1 (2004): 69-76.
54. Giwercman, Yvonne L et al. "The 5alpha-reductase type II A49T and V89L high-activity allelic variants are more common in men with prostate cancer compared with the general population." *European urology* vol. 48,4 (2005): 679-85.
55. Li, Qiaoxin et al. "Steroid 5-alpha-reductase type 2 (SRD5A2) V89L and A49T polymorphisms and sporadic prostate cancer risk: a meta-analysis." *Molecular biology reports* vol. 40,5 (2013): 3597-608.
56. Li, Jun et al. "Steroid 5-{alpha}-reductase Type 2 (SRD5a2) gene polymorphisms and risk of prostate cancer: a HuGE review." *American journal of epidemiology* vol. 171,1 (2010): 1-13.
57. Wang, Chunyang et al. "SRD5A2 V89L polymorphism and prostate cancer risk: a meta-analysis." *The Prostate* vol. 70,2 (2010): 170-8.
58. Hsing, Ann W., et al. "Polymorphic markers in the SRD5A2 gene and prostate cancer risk: a population-based case-control study." *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 10.10 (2001): 1077-1082.
59. Onen, Ilke Hacer et al. "The association of 5alpha-reductase II (SRD5A2) and 17 hydroxylase (CYP17) gene polymorphisms with prostate cancer patients in the Turkish population." *DNA and cell biology* vol. 26,2 (2007): 100-7.
60. Neijmann, Sebnem Tekin, et al. "Association of missense substitution of A49T and V89L in the SRD5A2 gene with prostate cancer in Turkish patients." *Turkish Journal of Biochemistry* 42.1 (2017): 37-43.
61. Pearce, C Leigh et al. "No association between the SRD5A2 gene A49T missense variant and prostate cancer risk: lessons learned." *Human molecular genetics* vol. 17,16 (2008): 2456-61.

8. EKLER

8.1. Ek-1: Nedensellik Değerlendirme Araçları

8.1.1. Ek-1a: Liverpool Nedensellik Değerlendirme Aracı (Liverpool Causality Assessment Tool, LCAT)



8.1.2. Ek-1b: Naranjo Yöntemi

Sorular	Evet	Hayır	Bilgi yok
1. Bu reaksiyon ile ilgili önceden bildirilen kesin rapor var mı?	+1	0	0
2. Olay şüpheli ilaç uygulandıktan sonra mı ortaya çıktı?	+2	-1	0

3. İlaç kesildiğinde ya da spesifik antidot uygulandığında reaksiyon iyileşti mi?	+1	0	0
4. İlaç yeniden uygulandığında advers olay yeniden ortaya çıktı mı?	+2	-1	0
5. İlaç dışında, tek başına bu advers olaya yol açmış olabilecek alternatif sebepler* var mı?	-1	+2	0
6. Plasebo verildiğinde reaksiyon tekrar ortaya çıktı mı?	-1	+1	0
7. Kanda ya da diğer vücut sıvılarında ilaç toksik konsantrasyonlarda tespit edildi mi?	+1	0	0
8. Reaksiyon şiddeti doz artırıldığında daha fazla, doz azaltıldığında daha az mıydı?	+1	0	0
9. Aynı ya da benzer ilaca daha önceki maruz kalımlarında hastada benzer reaksiyon gelişmiş miydi?	+1	0	0
Advers olay herhangi bir <u>objektif kanıt</u> ** ile olaylandı mı?	+1	0	0

TOPLAM SKOR[#]

*Varolan hastalıklar veya kullanılan diğer ilaçlar

**Objektif kanıt: Advers olayın dokümantasyon kalitesi ile ilişkilidir. Olayı gösteren laboratuvar sonucu ya da hekim/ hemşire gözlem notu objektif kanıt olarak değerlendirilmektedir.

[#]Toplam Skor ≥ 9 ise Kesin (Definite); 5-8 ise Olası (Probable); 1-4 ise Olanaklı (Possible); ≤ 0 ise Şüpheli (Doubtful) olarak sınıflandırılmaktadır.

8.1.3. Ek-1c: Dünya Sağlık Örgütü- Uppsala İlaç İzlem Merkezi Nedensellik Değerlendirme Sistemi [World Health Organization- Uppsala Monitoring Centre (WHO-UMC) Causality Assessment System]

Nedensellik gücü	Değerlendirme kriterleri*
Kesin (Certain)	☐ Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasında mantıklı bir zamansal ilişki vardır.
	☐ Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlarla kesinlikle açıklanamaz.
	☐ İlacın kesilmesine makul bir klinik yanıt vardır.

☐Olayın farmakolojik ya da fenomenolojik olarak kesinliği bilinmektedir.

☐Aynı ilaç aynı dozda ve aynı farmasötik şekilde yeniden uygulandığında (rechallenge) olay aynen meydana geldiği gösterilebilmelidir**.

Olası
(Probable/ Likely)

☐Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasında kabul edilebilir bir zamansal ilişki vardır.

☐Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlar nedeniyle olması olası değildir.

☐İlacın kesilmesine kabul edilebilir bir klinik yanıt vardır.

☐“Rechallenge” bilgisi gerekmemektedir.

Olanaklı
(Possible)

☐Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasında kabul edilebilir bir zamansal ilişki vardır.

☐Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlar ile de açıklanabilmektedir.

☐İlacın kesilmesine yanıt ile ilgili bilgi yoktur ya da net değildir.

**Olasılık-dışı
(Unlikely)**

☐ Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasındaki zamansal bağlantı nedensellik ilişkisini olasılık dışı bırakmaktadır.

☐ Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlar daha kabul edilebilir bir nedenselliğe sahiptir.

**Koşullu/
sınıflanmamış
(Conditional/
Unclassified)**

☐ Olay ya da laboratuvar anormalliği mevcuttur.

☐ Değerlendirme yapabilmek için daha çok veriye ihtiyaç duyulmaktadır ya da klinik olayla ilgili verilerin bir kısmı hala inceleme sürecindedir.

**Değerlendirilemez/
sınıflandırılmaz
(Unassessable/
Unclassifiable)**

☐ Bildirilen bir advers reaksiyon mevcuttur; ancak olay hakkındaki bilgiler yetersiz ya da çelişkilidir.

☐ Olay ile ilgili karar verebilmek için ek veri elde edilememektedir ya da bilgiler doğrulanamamaktadır.

*Tüm kriterler kabul edilebilir ölçüde karşılanmalıdır.

**Diğer tüm koşullar sağlanıyor ise “rechallenge” bilgisi gerekmemektedir.

8.2. Ek-2: Advers Olayların Şiddetinin Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Advers Olaylar Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI-CTCAE) 5.0

Advers Olay	1. derece	2. derece	3. derece	4. derece	5. derece
İdrar Yolu Enfeksiyonu	-	Orta düzeyde semptom, oral ilaç endikasyonu (antibiyotik, antifungal vb.)	İntravenöz antibiyotik, antifungal ya da antiviral endikasyonu, invaziv girişim endikasyonu	Hayatı tehdit eden durum gelişimi, acil girişim endikasyonu	Ölüm
Hematüri	Asemptomatik, klinik ya da tanısal gözlem, girişim endikasyonu bulunmamaktadır	Semptomatik, üriner kateter ya da mesane yıkama endikasyonu; enstrümental günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı	Gros hematüri; transfüzyon ya da IV ilaç, yatış endikasyonu; elektif invaziv girişim endikasyonu, özbakımı kapsayan günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı	Hayatı tehdit eden sonuçlar; acil invaziv girişim endikasyonu	Ölüm
Dizüri	Var	-	-	-	-

Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu	-	Orta düzeyde semptom, oral ilaç endikasyonu (antibiyotik, antifungal vb.)	İntravenöz antibiyotik, antifungal ya da antiviral endikasyonu, invaziv girişim endikasyonu	Hayatı tehdit eden durum gelişimi, acil girişim endikasyonu	Ölüm
Kusma	Girişim endikasyonu bulunmamaktadır	İntravenöz hidrasyon, tıbbi girişim endikasyonu bulunmaktadır	Tüple beslenme, total periferel nütrisyon ve yatış endikasyonu	Hayatı tehdit eden durum gelişimi	Ölüm
Karın ağrısı	Hafif düzeyde ağrı	Enstrümental günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı , orta düzeyde ağrı,	Özbakımı kapsayan günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı, ciddi düzeyde ağrı	-	-
Göğüs ağrısı	Hafif düzeyde ağrı	Enstrümental günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı , eforla ortaya çıkan orta düzeyde ağrı; hemodinamik olarak stabil	Özbakımı kapsayan günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı, dinlenme halinde ortaya çıkan ciddi düzeyde ağrı; demodinamik olarak stabil değil	-	-

Hipotansiyon	Asemptomatik, girişim endikasyonu bulunmamaktadır	Acil tıbbi girişim endikasyonu bulunmamaktadır	Acil tıbbi girişim endikasyonu bulunmamaktadır; yatış endikasyonu	Hayatı tehdit eden durum gelişimi, acil girişim endikasyonu	Ölüm
Dispne	Orta düzey eforla ortaya çıkan nefes darlığı	Enstrümental günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı, hafif düzey eforla ortaya çıkan nefes darlığı	Özbakımı kapsayan günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayıcı, dinlenme halinde ortaya çıkan nefes darlığı	Hayatı tehdit eden durum gelişimi, acil girişim endikasyonu	Ölüm

Tablo 19. Seçilen olguda idrar yolu enfeksiyonu ve dutasterid kullanımı arasındaki nedensellik ilişkisinin “Naranjo Yöntemi” ne göre değerlendirilmesi

Sorular	Evet	Hayır	Bilgi yok
Bu reaksiyon ile ilgili önceden bildirilen kesin rapor var mı?	+1	0●	0
Olay şüpheli ilaç uygulandıktan sonra mı ortaya çıktı?	+2●	-1	0
İlaç kesildiğinde ya da spesifik antidot uygulandığında reaksiyon iyileşti mi?	+1	0	0●
İlaç yeniden uygulandığında advers olay yeniden ortaya çıktı mı?	+2	-1●	0
İlaç dışında, tek başına bu advers olaya yol açmış olabilecek alternatif sebepler* var mı?	-1●	+2	0
Plasebo verildiğinde reaksiyon tekrar ortaya çıktı mı?	-1	+1	0●
Kanda ya da diğer vücut sıvılarında ilaç toksik konsantrasyonlarda tespit edildi mi?	+1	0	0●
Reaksiyon şiddeti doz artırıldığında daha fazla, doz azaltıldığında daha az mıydı?	+1	0	0●
Aynı ya da benzer ilaca daha önceki maruz kalımlarında	+1	0●	0●

hastada benzer reaksiyon gelişmiş miydi?			
D. Advers olay herhangi bir <u>objektif kanıt</u> ** ile olaylandı mı?	+1●	0	0
TOPLAM SKOR#	2: Olanaklı (Possible)		
*Varolan hastalıklar veya kullanılan diğer ilaçlar **<u>Objektif kanıt</u>: Advers olayın dokümantasyon kalitesi ile ilişkilidir. Olayı gösteren laboratuvar sonucu ya da hekim/ hemşire gözlem notu objektif kanıt olarak değerlendirilmektedir. #Toplam Skor ≥ 9 ise Kesin (Definite); 5-8 ise Olası (Probable); 1-4 ise Olanaklı (Possible); ≤ 0 ise Şüpheli (Doubtful) olarak sınıflandırılmaktadır.			

Tablo 20. Seçilen olguda idrar yolu enfeksiyonu ve dutasterid kullanımı arasındaki nedensellik ilişkisinin “WHO-UMC Nedensellik Değerlendirme Sistemi” ne göre değerlendirilmesi

Nedensellik gücü	Değerlendirme kriterleri*
Kesin (Certain)	☐ Olay ya da laboratuvar anormallliği ile ilaç alımı arasında mantıklı bir zamansal ilişki vardır.
	☐ Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlarla kesinlikle açıklanamaz.
	☐ İlacın kesilmesine makul bir klinik yanıt vardır.
	☐ Olayın farmakolojik ya da fenomenolojik olarak kesinliği bilinmektedir.

☐ Aynı ilaç aynı dozda ve aynı farmasötik şekilde yeniden uygulandığında (rechallenge) olay aynen meydana geldiği gösterilebilmelidir**.

**Olası
(Probable/ Likely)**

☐ Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasında kabul edilebilir bir zamansal ilişki vardır.

☐ Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlar nedeniyle olması olası değildir.

☐ İlacın kesilmesine kabul edilebilir bir klinik yanıt vardır.

☐ “Rechallenge” bilgisi gerekmemektedir.

Olanaklı (Possible)

☒ Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasında kabul edilebilir bir zamansal ilişki vardır.

☒ Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlar ile de açıklanabilmektedir.

☒ İlacın kesilmesine yanıt ile ilgili bilgi yoktur ya da net değildir.

Olasılık-dışı (Unlikely)

☐ Olay ya da laboratuvar anormalliği ile ilaç alımı arasındaki zamansal bağlantı nedensellik ilişkisini olasılık dışı bırakmaktadır.

☐ Varolan hastalıkla veya birlikte maruz kalınan ilaçlar daha kabul edilebilir bir nedenselliğe sahiptir.

**Koşullu/
sınıflanmamış**

☐Olay ya da laboratuvar anormalliği mevcuttur.

**(Conditional/
Unclassified)**

☐Değerlendirme yapabilmek için daha çok veriye ihtiyaç duyulmaktadır ya da klinik olayla ilgili verilerin bir kısmı hala inceleme sürecindedir.

**Değerlendirilemez/
sınıflandırılmaz**

☐Bildirilen bir advers reaksiyon mevcuttur; ancak olay hakkındaki bilgiler yetersiz ya da çelişkilidir.

**(Unassessable/
Unclassifiable)**

☐Olay ile ilgili karar verebilmek için ek veri elde edilememektedir ya da bilgiler doğrulanamamaktadır.

*Tüm kriterler kabul edilebilir ölçüde karşılanmalıdır.

**Diğer tüm koşullar sağlanıyor ise “rechallenge” bilgisi gerekmemektedir.
