

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKCİĞER KANSERİNDE
METABOLİK (CYP1) POLİMORFİZMİNİN
İLAÇ REZİSTANSINDAKİ ROLÜ**

Serdar BİLGEN

**FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN**

2008 - ANKARA

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	i
Önsöz	iii
Şekiller	iv
Çizelgeler	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser Hakkında Genel Bilgi	1
1.1.1. Kansere Neden Olan Faktörler	3
1.1.2. Türkiye’de Kanser	3
1.1.3. Dünyada Kanser	6
1.1.4. Kanser Görülme Sıklığı	6
1.1.4.1. Kanser Görülme Sıklığına Etki Eden Faktörler	6
1.1.4.1.1. Yaş	6
1.1.4.1.2. Cinsiyet	6
1.2. Akciğer Kanseri	7
1.2.1. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri	8
1.2.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri	8
1.2.2.1. Epidermoid (Squamous) Karsinoma	8
1.2.2.2. Adenokarsinoma	8
1.2.2.3. Büyük Hücre Karsinoma	8
1.2.3. Akciğer Kanserine Neden Olan Faktörler	8
1.2.3.1. Çevresel	8
1.2.3.2. Genetik	9
1.3. Sitokrom P450 (CYP)	11
1.3.1. CYP 1A1 Polimorfizmi ve Önemi	13
1.3.1.1. CYP 1A1*2A(m1)	13
1.3.1.2. CYP 1A1*2C(m2)	13
1.3.2. CYP 1B1 Polimorfizmi ve Önemi	14
1.3.2.1. CYP 1B1*3	14
1.3.2.2. CYP 1B1*4	14
1.3.3. Akciğer Kanserinde CYP1 Polimorfizmlerinin Önemi	14
1.4. Kemoterapi	15
1.4.1. Akciğer Kanserinin Tedavisinde Sıklıkla Kullanılan Kemoterapi İlaçları	16
1.4.1.1. Sisplatin	16
1.4.1.2. Karboplatin	17
1.4.1.3. Etoposid	18
1.4.1.4. Paklitaksel	19
1.4.1.5. Doksetaksel	20

1.4.1.6. Gemsitabin	20
1.4.1.7. Vinorelbin	21
1.5. İlaç Direnci	21
1.6. Çalışmanın Amacı	22
2. GEREÇ VE YÖNTEM	26
2.1. Kullanılan Gereçler	26
2.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler	26
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	27
2.2. Kullanılan Yöntemler	27
2.2.1. Deney Kurgusu	27
2.2.2. KHDAK Hastalığının Tanı Konma Yöntemleri	28
2.2.3. Kemoterapi Protokelleri	28
2.2.4. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Kriterleri	29
2.2.5. DNA İzolasyonu	30
2.2.6. DNA Saflık ve Miktar Tayini	31
2.2.7. CYP1A1 İle462Val Mutasyonunun Belirlenmesi	31
2.2.8. CYP1B1 Asn453Ser Mutasyonunun Belirlenmesi	32
2.2.9. Jel Hazırlanması ve Numunelerin Jele Uygulanması	32
2.2.10. RFLP Uygulaması	33
2.2.11. Kullanılan İstatistiksel Yöntem	33
3. BULGULAR	33
3.1. Hasta Özellikleri	35
3.2. CYP1A1 İle462Val Genotip Bulguları	40
3.3. CYP1B1 Asn453Ser Genotip Bulguları	40
3.4. Hasta Özelliklerinin Genotiplere Göre Dağılımları	41
3.5. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerinin Kemoterapiye Karşı Verilen Yanıtlara Etkisi	44
3.6. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerinin, Yanıt Verme Durumunun ve İlaç Rejiminin Hastaların Sağ Kalım Sürelerine Etkisi	45
3.7. Genotip ve Diğer Faktörlerin Sağ Kalım Üzerine Etkisinin Hazard Oranı (HR) İle Değerlendirilmesi	47
3.8. Kullanılan Kemoterapik İlaçlara Göre CYP1A1 ve CYP1B1 Genotiplerinin Sağ Kalımla İlişkisi	49
4. TARTIŞMA	51
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
ÖZET	57
SUMMARY	59
KAYNAKLAR	61
EK	
ÖZGEÇMİŞ	

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimin hazırlanması sırasında; bana her türlü olanağı sağlayan, yapıcı eleştirileriyle doğru yolu bulmama yardımcı olan, üstün bilgisi, öngörüsü ve engin tecrübeleriyle beni aydınlatan, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN' a,

çalışmalarım sırasında yardımlarını asla esirgemeyen ve bildiklerini öğreten, teşvik edici, olumlu görüş ve önerileriyle tezimde büyük katkısı ve emeği olan ve pratik ipuçları veren değerli hocam Dr. Ecz. Ahmet Oğuz ADA'ya,

Yüksek lisans tezim boyunca benimle her zaman alakadar ve yardımcı olan, hiç çekinmeden kapılarını çalabildiğim Anabilim Dalımızın tüm değerli öğretim üyelerine,

çalışmalarım esnasında destek ve yardımlarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma,

tez dönemim boyunca ve her zaman bana yardım, teşvik ve desteklerini esirgememiş sevgili aileme,

sonsuz teşekkürlerimle saygılarımı ve sevgilerimi sunarım...

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Kanser hücresinin oluşum aşamaları	2
Şekil 1.2.	Kanserli hücrenin metastaz oluşturması	2
Şekil 1.3.	Kanser olgularının yaşa göre dağılımı	7
Şekil 1.4.	B(a)P metabolizmasında CYP'lerin rolü	12
Şekil 1.5.	Sisplatin'in kimyasal yapısı	16
Şekil 1.6.	Sisplatin'in DNA'ya bağlanma pozisyonları	17
Şekil 1.7.	Karboplatinin kimyasal yapısı	18
Şekil 1.8.	Etoposid'in kimyasal yapısı	18
Şekil 1.9.	Paklitaksel'in kimyasal yapısı	19
Şekil 1.10.	Dosetaksel'in kimyasal yapısı	20
Şekil 1.11.	Gemcitabin'in kimyasal yapısı	20
Şekil 1.12.	Vinorelbin'in kimyasal yapısı	21
Şekil 3.1.	CYP1A1 İle462Val genotipine ait jel elektroforez sonucu	40
Şekil 3.2.	CYP1B1 Asn453Ser genotipine ait jel elektroforez sonucu	41
Şekil 3.3.	KHDAK'li hastalarda CYP1A1 İle/İle ve İle/Val + Val/Val genotipine sağ kalım üzerine etkisi	46
Şekil 3.4.	KHDAK'li hastalarda CYP1B1 Asn/Asn ve Asn/Ser + Ser/Ser genotipine sağ kalım üzerine etkisi	47

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1 Kansere neden olan etkenler ve geliştirdiği kanser turleri	3
Çizelge 1.2. Turlkiye'de en sık gorulen on kanser turu	4
Çizelge 1.3. Turlkiye'de en sık gorulen on kanser turu (Kadin)	5
Çizelge 1.4. Turlkiye'de en sık gorulen on kanser turu (Erkek)	5
Çizelge 1.5. Akciğer kanseri retrospektif arastırma bulguları	10
Çizelge 3.1. Kucuk hucreli disı akciğer kanserli hastaların ozellikleri	36-38
Çizelge 3.2. Hasta ozelliklerinin kemoterapiye verilen yanıt durumuna gore dagılımı	39
Çizelge 3.3. Hasta Ozelliklerinin CYP1A1 ile462Val genotiplerine gore dagılımı	42
Çizelge 3.4. Hasta Ozelliklerinin CYP1B1 Asn453Ser genotiplerine gore dagılımı	43
Çizelge 3.5. CYP1A1 ve CYP1B1 Genotip yanıtlarının sağ kalım süresine etkisi	44
Çizelge 3.6. CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin yanıtla ra gore dagılımı	45
Çizelge 3.7. CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin sağ kalımla iliskisi	48
Çizelge 3.8. CYP1A1 genotiplerinin sağ kalımla iliskisi	49
Çizelge 3.9. Kullanılan kemoterapik ilaçlara gore CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin sağ kalımla iliskisi	50

1. GİRİŞ

1.1. Kanser Hakkında Genel Bilgi

Kanser önemi giderek artan bir sağlık problemidir. Ölüm nedeni olarak kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir.

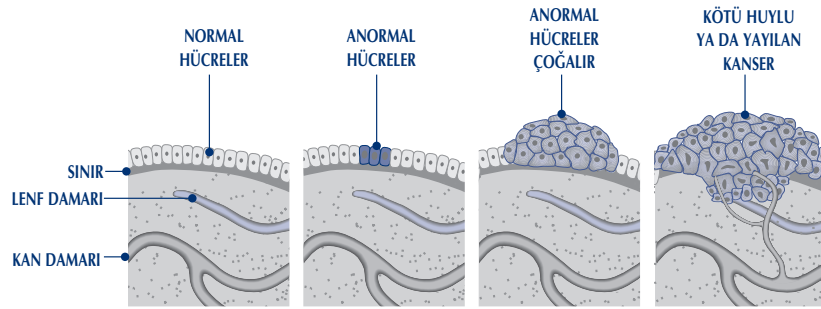
Kanser, bazı etkilerle değişime uğramış hücrelerin, kontrolsüz olarak çoğalıp büyümelerinin sonucu oluşan kötü huylu tümörlerdir. Normalde hücreler belli bir kontrol altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar. Hücreler bir taraftan programlı ölüm (apoptoz) ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalır. Büyüme faktörleri normalde DNA'daki çeşitli genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler mutasyona (değişime) uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine sebep olurlarsa, o zaman kanser oluşur ve bu genlere de "onkogen" denir.

Kanser bir organda oluşuktan sonra, uzak doku ve organlara da metastaz dediğimiz yerleşmeler yapar ve genel olarak hastalar metastazlar nedeniyle kaybedilir. Onkogenlerin yanında anti-onkogenler de çok önemlidir. Onkogenler kansere sebep olurken, anti-onkogenler kanseri önleyen genlerdir. Bunlar mutasyona uğramamış hallerinde iken hücre bölünmesini ve çoğalmasını durduran genlerdir. Örnek olarak p53 genini gösterebiliriz.

Neoplazmalar, benign ve malign olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Aralarındaki fark malignantlerin metastaz oluşturmasıdır.

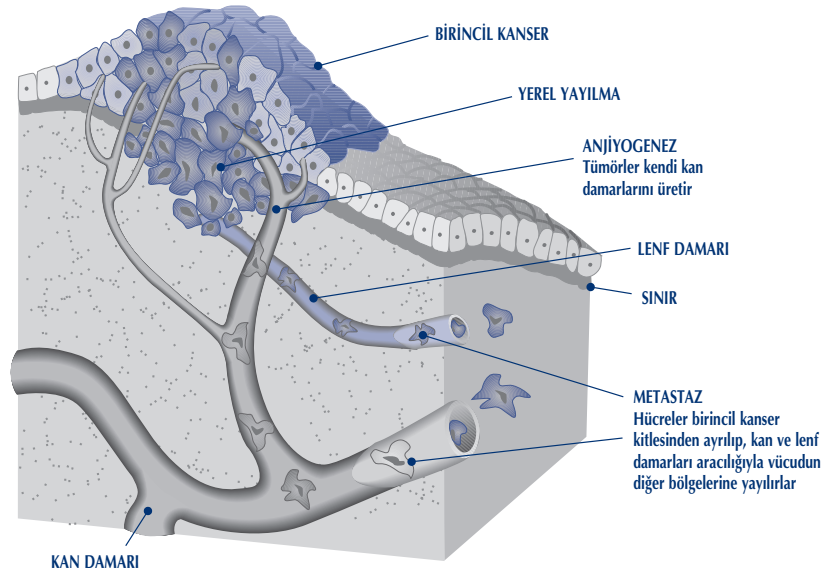
Neoplazmaların gelişmesi; başlama, gelişme ve ilerleme olmak üzere 3 aşamada gerçekleşir. Başlama aşamasında DNA'da yapısal değişiklikler gözlenebilir. İlerleme aşamasında ise hücre DNA'sında doğrudan yapısal değişiklik gözlenmez.

KANSER BAŞLANGICI



Şekil 1.1. Kanser hücrenin oluşum aşamaları.

KANSER NASIL YAYILIR



Şekil 1.2. Kanserli hücrenin metastaz oluşturması.

İnsanlarda, kansere neden olduğu düşünülen geliştirici faktörler Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Kansere neden olan etkenler ve geliştirdiği kanser turleri

Etken	Neden olduğu kanserler
Sigara içimi	Akciğer, mesane, özofagus, larinks, ağız
Yüksek kalorili diyet	Tüm kanserler
Diyetteki yağlar	Prostat, kolon, uterus, meme kanserleri
Asbestoz	Akciğer, uterus, meme kanserleri
Alkol	Ağız, farenks, özofagus, karaciğer kanserleri

1.1.1. Kansere Neden Olan Faktörler

Kansere neden olan faktörler, çevresel faktörler, beslenme, genetik ve hormonal olarak sınıflandırılabilir.

1.1.2. Türkiye’de Kanser

Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde kansere bağlı ölümler kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Kanser türlerinden de akciğer kanseri en sık rastlanan kanser türüdür.

Çizelge 1.2 Türkiye'de en sık görülen on kanser türü.

ORGANLAR	İNSİDANS (100.000de1)
Akciğer	29,51
Prostat	19,39
Meme	17,57
Deri	16,67
Mide	9,35
Mesane	8,81
Kolon	7,24
Kemik İliği	6,28
Endometrium	6,08
Ovaryum	5,86

Buna göre akciğer kanseri 29,51 insidans ile en sık rastlanan kanser türüdür (Sağlık Bakanlığı 2004). Kanser türlerinin kadın - erkek dağılımları çizelge-1.3. ve çizelge-1.4'te verilmiştir.

Çizelge 1.3. Türkiye’de en sık görülen on kanser türü (Kadın - 2004)

ORGANLAR	İNSİDANS (100.000de1)
Meme	34,73
Deri	14,86
Troid	7,15
Akciğer	6,73
Mide	6,68
Kolon	6,53
Endometrium	6,08
Ovaryum	5,86
Kemik İliği	5,83
Beyin	4,46

Çizelge 1.4. Türkiye’de en sık görülen on kanser türü (Erkek - 2004)

ORGANLAR	İNSİDANS (100.000de1)
Akciğer	51,92
Prostat	19,39
Deri	18,45
Mesane	15,29
Mide	11,99
Larinks	8,69
Kolon	7,93
Kemik İliği	6,71
Beyin	5,47
Rektum	5,1

1.1.3. Dünyada Kanser

Erkeklerde en sık görülen kanser türü akciğer, kadınlarda ise meme kanseridir. Erkeklerde akciğer, kadınlarda da meme kanseri ölümlerde 1. sırada yer almaktadır.

Yapılan çalışmalar, 1990 yılında tüm dünyada 5,2 milyon kanserden ölümün % 55'inin (2.8 milyon) gelişmekte olan ülkelerde meydana geldiğini ortaya koymuştur. (Pisani ve ark., 1999).

1.1.4. Kanser Görülme Sıklığı

Kanser sıklığı, bir toplumda bir yılda ortaya çıkan yeni kanser vakaları sayısının yüzbin nüfusa oranı şeklinde ifade edilir. Kanser görülüş sıklığı, yaş, cinsiyet, kanserin türü ve çeşitli ülkelere göre büyük farklılıklar gösterir. Parkin 2000 yılı için 10 milyon yeni kanser vakası, 6 milyon kanserden ölüm, 22 milyon kanserli hasta hesaplamıştır. En sık görülen kanserler, akciğer (1.2 milyon), meme (1.05 milyon), kolorektal (945,000), mide (876,000) ve karaciğerdir (564,000). (Parkin, 2001).

1.1.4.1. Kanser Görülme Sıklığına Etki Eden Faktörler

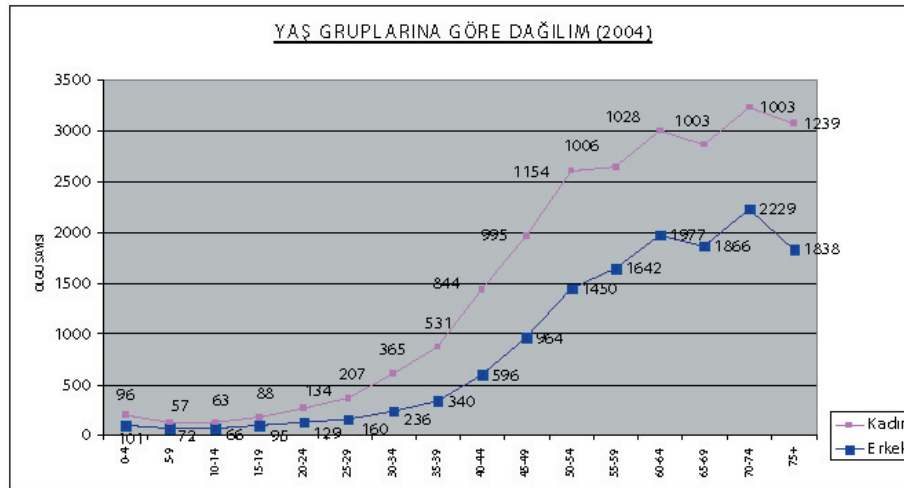
1.1.4.1.1. Yaş

Yaş artmasına bağlı olarak kanser görülme sıklığının arttığına dair görüşler vardır. Bunu, yaşam boyunca kanserojen maddelere maruz kalınması ve bunların vücutta birikmesi şeklinde açıklayabiliriz. Yaşa göre kanser olgularının dağılımı Şekil 1.3.'de gösterilmektedir. Buna göre her iki cinste de 65 yaş üstü kanserin en sık görüldüğü yaş olarak bildirilmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2004).

1.1.4.1.2. Cinsiyet

Cinsiyete göre kanser olgularının dağılımı yine Şekil 1.3.'te gösterilmektedir. Buna göre 50 yaş üstündeki erkeklerde kanser görülme

sıklığının, aynı yaş grubu kadınlar arasında görülenden yüksek olduğu gözlenmiştir. (Sağlık Bakanlığı, 2004)



Şekil 1.3. Kanser olgularının yaşa göre dağılımı

1.2. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, yapısal olarak normal akciğer dokusundan olan hücrelerin ihtiyaç ve kontrol dışı çoğalarak akciğer içinde bir kitle (tümör) oluşturmasıdır. Burada oluşan kitle öncelikle bulunduğu ortamda büyür, daha ileriki aşamalarda ise çevre dokulara veya dolaşım yoluyla uzak organlara yayılarak (karaciğer, kemik, beyin vb. gibi) hasara yol açarlar. Bu yayılmaya metastaz adı verilir.

Akciğer kanseri günümüzde sıklığı artan bir sağlık problemidir (Greenlee ve ark. 2000).

Akciğer kanseri başlıca iki ana gruba ayrılır

- Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK)
- Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK)

1.2.1. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri:

Akciğer kanserlerinin % 20'sinden daha azını oluşturan tiptir. Daha nadir görülen bu tür, oldukça hızlı seyirlidir ve tanı konulduğu zaman çoğunlukla vücudun başka bölümlerine yayılmış olarak karşımıza çıkar. Genellikle bronşlarda başlar. Oluşumunun asıl sebebi sigara içimidir.

1.2.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri :

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık % 80'ini oluşturur. Yassı epidermoid (squamous), adeno ve büyük hücreli kanser olarak üç tipi vardır. Gelişme ve diğer organlara yayılma bakımında KHAK'den daha yavaştır.

1.2.2.1. Epidermoid (Squamous) Karsinoma

Kanser, ince, yassı ve balık puluna benzer hücreler olan squamous hücrelerinde başlar.

1.2.2.2. Adenokarsinoma

Kanser, glandular (salgıbezi) özellik gösteren hücrelerde başlar.

1.2.2.3. Büyük Hücre Karsinoma

Mikroskop altında bakıldığında geniş ve anormal görülen hücrelerde başlar (National Cancer Institute, 2005).

1.2.3. Akciğer Kanseri Neden Olan Önemli Faktörler

1.2.3.1. Çevresel:

Sigara, puro, pipo (tütün) içimi: Akciğer kanserinin bugün ispatlanmış olan en önemli risk faktörüdür. Sigarayı bıraktıktan 5 yıl sonra risk azalmakta,

ancak tamamen bitmemektedir. Sigara kullanmayan kişilerde akciğer kanseri gelişme riski daha düşüktür (Pierce ve ark. 1989).

1.2.3.2. Genetik :

15. Kromozomda, nikotinic asetilkolin reseptörü alt birim genlerindeki mutasyonun akciğer kanserinden sorumlu olabileceği gösterilmiştir. Bu varyantın tek kopyasını taşıyanların (Avrupada 2 kişiden biri) akciğer kanserine yakalanma riski % 30 artarken, her iki kopyayı taşıyanlarda (Avrupada her 10 kişiden biri) risk % 80'ne çıkmaktadır (Hung Rj ve ark. 2008).

Çizelge 1.5. Akciğer kanseri retrospektif araştırma bulguları (T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri, 1999)

CİNSİYET	%
Erkek	90.4
Kadın	9.6
SİGARA ÖYKÜSÜ	
Sigara içen	77.2
Sigarayı bırakmış olan	10.8
YAŞ	
25 Yaşından Küçük	0.3
26-45 Yaş	11.4
46-65 Yaş	56.7
65 Yaşından Büyük	31.6
HÜCRE TİPİ	
Epidermoid Ca	39.2
Küçük Hücreli Ca	17.8
Adeno Ca	17.5
Büyük Hücreli Ca	1.7
Bilinmeyen	7.8
HASTALIK EVRESİ	
Küçük Hücreli Dışı Akciğer Ca	
Evre I	5.6
Evre II	7.7
Evre III A	14.1
Evre III B	32.1
Evre IV	40.4
Küçük Hücreli Akciğer Ca	
Sınırlı Evre	37.9
Yaygın Evre	62.7

Gelişmiş ülkelerde akciğer kanserlerinin erkeklerde % 90'ının ve kadınlarda % 78'inin sigara içimine bağlı olduğu bildirilmektedir (Siemiatycki va ark, 1995). Türkiye'de de akciğer kanseri hastaların erkeklerde % 88'inin kadınların % 55'inin sigara içtiği bilinmektedir (Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Derneği verileri 1999). Her 10 hastadan 9'u erkek 1'i kadındır.

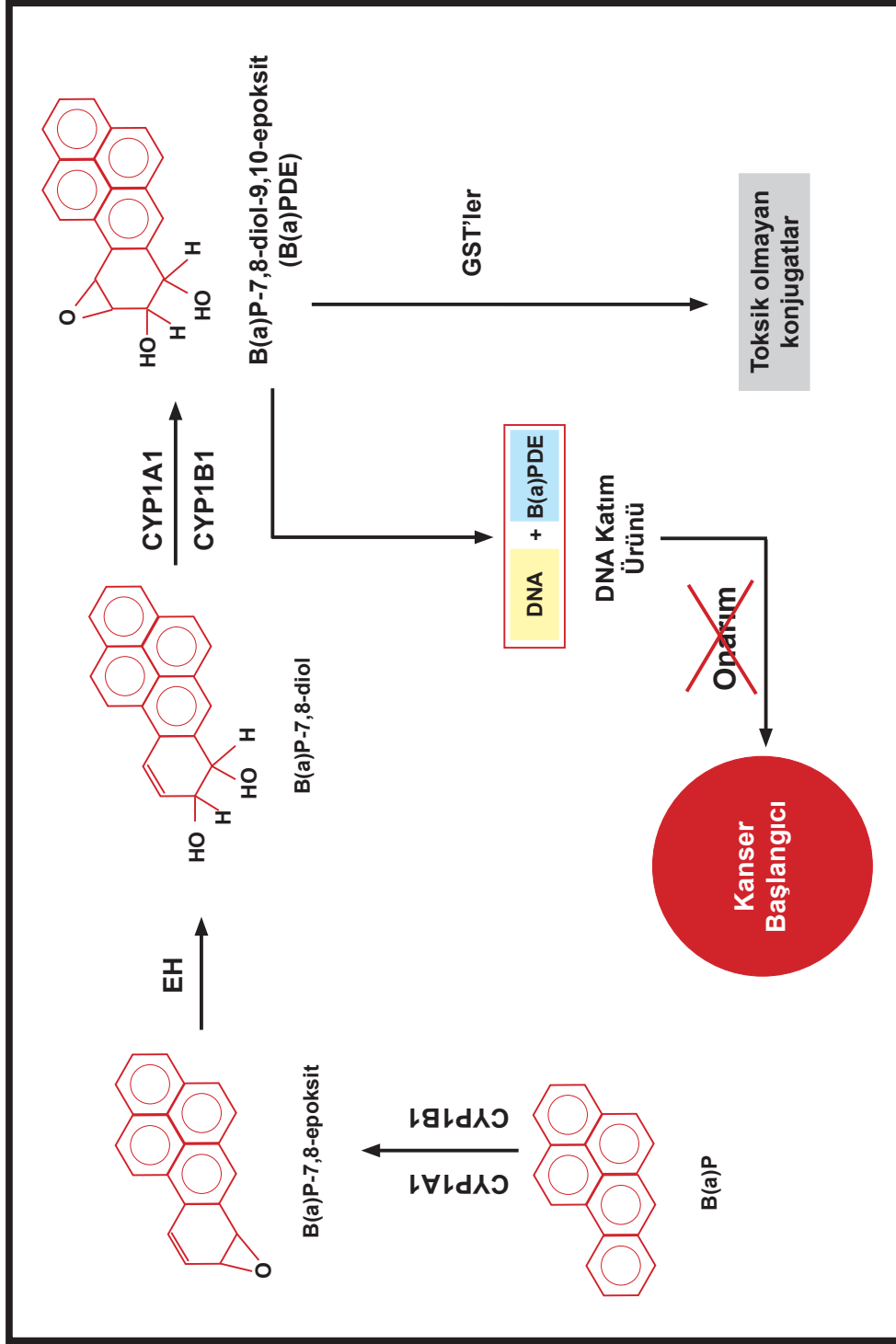
Akciğer kanserli hastaların üçte ikisi ameliyat edilemeyen lezyonlara sahiptirler. Bu hastalara ağır kemoterapi uygulansa dahi çoğu bir yıl içinde ölmektedir. Özellikle kanser olgularının % 80-85'ini oluşturan küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir (Bai ve ark., 1995; Giovino, 2002; Rosell ve ark., 2004). Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

Bu bağlamda son zamanlarda ilaç rezistans mekanizmaları üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmış ve kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığı saptanmıştır. Son yıllarda sigara içiminin daha fazla karsinojen-DNA katım ürününe neden olarak p53 geninde mutasyonların görülmesine ve kemoterapiye dirençli daha agresif tümörlerin oluşumuna sebebiyet vereceği ve sonuçta daha kısa sağ kalım süresine neden olabileceği bildirilmektedir (Goto ve ark., 1996; Sweeney ark, 2003).

1.3. Sitokrom P450 (CYP)

CYP'ler çok sayıda izozime sahip olup her biri farklı gen tarafından sentezlenmektedir (Nelson ve ark. 1996). CYP 1 ailesinden CYP 1A1 ve CYP1B1 organik maddelerin tam yanmamalarından oluşup sigara dumanı, kirli şehir havası, is, kömür, kömürde pişmiş ette, bazı tütülenmiş ve kavrulmuş besinlerde bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH) mutajenik ve karsinojenik etkili metabolitlerine dönüştürür. PAH'lardan biri olan benzo(a)pireni (BaP) güçlü karsinojenik metaboliti olan 7,8-dihidrodiol-9,10-epoksite (BPDE) dönüştürür.

Benzo(a)pireninin metabolizması Şekil 1.4'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.4. B(a)P metabolizmasında CYP'lerin rolü (Bartsch ve ark. 1999'dan uyarlanmıştır.)

1.3.1. CYP 1A1 Polimorfizmi ve Önemi

CYP1A1 geni üzerinde tanımlanmış polimorfizmler arasında birbirlerine bağlı iki yakın mutasyon B[a]P hidroksilaz aktivitesinin indüklenebilirliği ve kanser riski arasındaki olası ilişkiye bağlı olarak oldukça fazla çalışılmıştır. Bunlardan birisi *Msp1* mutasyonu olup diğeri ise *Ile462Val* mutasyonudur (Hayashi ve ark., 1991; Cascorbi ve ark. 1996). Akciğer kanserine duyarlılık ile CYP1A1 polimorfizmleri arasında ilişki çeşitli toplumlarda çalışılmıştır (Rannug ve ark. 1995; Spivack ve ark. 1997).

CYP1A1 gen mutasyonları ile DNA hasarına duyarlılıkta artış arasındaki ilişkiyi saptayan çalışmalara rastlanmaktadır. *Msp1* ve *Ile462Val* mutasyonları taşıyan alellere sahip PAH'lara maruz kalmış bireylerin BPDE-DNA katım ürünü düzeyleri de yüksek saptanmıştır (Spivack ve ark., 1997).

CYP1A1 geninin 4 önemli polimorfik formu vardır. Ancak bunların ikisi kanser oluşumu ve kansere bireysel yatkınlık açısından çok daha önemlidir (Rannug ve ark., 1995; Spivack ve ark., 1997).

Bunlar şunlardır:

1.3.1.1. CYP 1A1*2A(m1)

6235. pozisyonda T-C nükleotid değişimi sonucunda oluşan bu mutasyon CYP 1A1 geninde ilk bulunan mutasyondur. (Cascorbi ve ark., 1996)

Avrupa veya zenci ırkı ile karşılaştırıldığında Asya popülasyonunda *Msp1* homozigot polimorfizm frekansı daha yüksektir (Spivack ve ark., 1997).

1.3.1.2. CYP 1A1*2C(m2)

Nokta mutasyonu sonucu 4889. pozisyondaki A→G nükleotid değişimi sonrası İzolösin-Valin aminoasit değişimi meydana gelir ve *Ile462Val* şeklinde tanımlanır.

CYP 1A1*2C(m2)'nin *Val/Val* homozigot mutantının Japon popülasyonundaki frekansı % 11 iken Kuzey Avrupa ve ABD' de % 1' den azdır (Spivack ve ark., 1997).

1.3.2. CYP 1B1 Polimorfizmi ve Önemi

Son yıllarda CYP 1B1 geninin de polimorfik olduğu belirlenmiştir (Stoilov ve ark. 1998). Bu gendeki 4 mutasyon *Val432Leu* , *Asn453Ser*, *Ala119Ser* ve *Arg48Gly* daha sık görülen mutasyonlardır (Stoilov ve ark. 1998).

Enzimin aktivitesinde önemli hem bağlayan bölgeyi kodladığı için ilk ikisinin mutasyonunun önemli olduğu düşünülmektedir (Bailey ve ark. 1998).

1.3.2.1. CYP 1B1*3

432. kodonda nokta mutasyonu sonucu 4326. pozisyondaki C→G nükleotid değişimi sonrasında Valin-Lösin aminoasit değişimi meydana gelir ve *Val432Leu* şeklinde tanımlanır (Inoue ve ark.2000).

1.3.2.2. CYP 1B1*4

453. kodonda nokta mutasyonu sonucu 4390. pozisyondaki A→G nükleotid değişimi sonrasında Asparagin-Serin aminoasit değişimi meydana gelir ve *Asn453Ser* şeklinde tanımlanır (Inoue ve ark., 2000).

1.3.3. Akciğer Kanserinde CYP1 Polimorfizmlerinin Önemi

Bu konuda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır. Yapılan bir çalışmada küçük hücreli dışı akciğer (III. ve IV. Evre) kanserli hastalarda CYP1A1 Msp1 mutasyonunun, 3 yıl izlenmesi sonucu, sağ kalım sürelerini azalttığı gösterilmiştir. (Goto ve ark. 1996).

Diğer taraftan hücre döngüsünün regülasyonunda anahtar görevi yapan p53'ün mutasyonu akciğer kanserinde rol oynamakta ve bu mutasyonun da hastaların sağ kalımı süresini azalttığı da bildirilmektedir (Eposito ve ark., 1997).

İlaveten küçük hücreli dışı akciğer kanserinde CYP 1A1 ile462Val mutasyonunun tümörde p53 mutasyonuna ve dolayısıyla onun inaktivasyonuna neden olarak akciğer kanserinin gelişmesine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Pryzgodzki ve ark. 1998). Ancak hastaların 5 yıl izlendiği bu çalışmada bu mutasyonun hastaliksız sağ kalım süresi üzerine etkilediği belirlenmiştir. (Hastaların çoğunu ameliyat edilmiş I. ve II. Evreliler oluşturmaktaydı).

Diğer taraftan CYP1B1 ile ilgili olarak, periferal lökositlerde DNA katım ürününün CYP 1B1 mutasyonu ile ilişkili olduğu da saptanmıştır (Schoket ve ark 2001). Akciğer kanserli hastalarda kontrole göre daha yüksek düzeyde CYP 1B1 bulunduğu da saptanmıştır (Wu ve ark 2004).

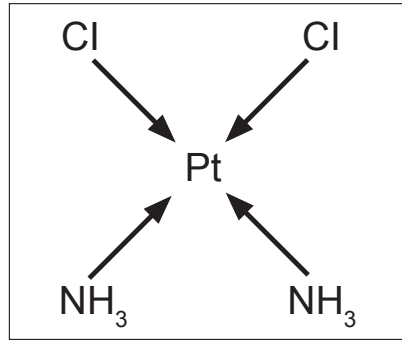
1.4. Kemoterapi

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlara kemoterapi ilaçları ve bu ilaçlarla yapılan tedaviye “kemoterapi” denir. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçlarının ortak özelliği, kanser hücresi ve normal hücreler arasında ayırım yapmadan hızla büyüyüp çoğalan hücrelere zarar vermeleridir. Kemoterapiye bağlı yan etkiler ise bu hızla büyüyüp çoğalan hücreleri olan organlarda olur. İnce bağırsak hücrelerinin geçici zarar görmesi üzerine bulantı, kıl hücrelerinin geçici zarar görmesi üzerine saç kaybı ve kemik iliği hücrelerinin etkilenmesi sonucunda kan sayımlarında düşüklük ve bağışıklık hücreleri sayısında geçici azalmalar olmaktadır.

1.4.1. Akciğer Kanserinin Tedavisinde Sıklıkla Kullanılan Kemoterapi İlaçları

1.4.1.1. Sisplatin

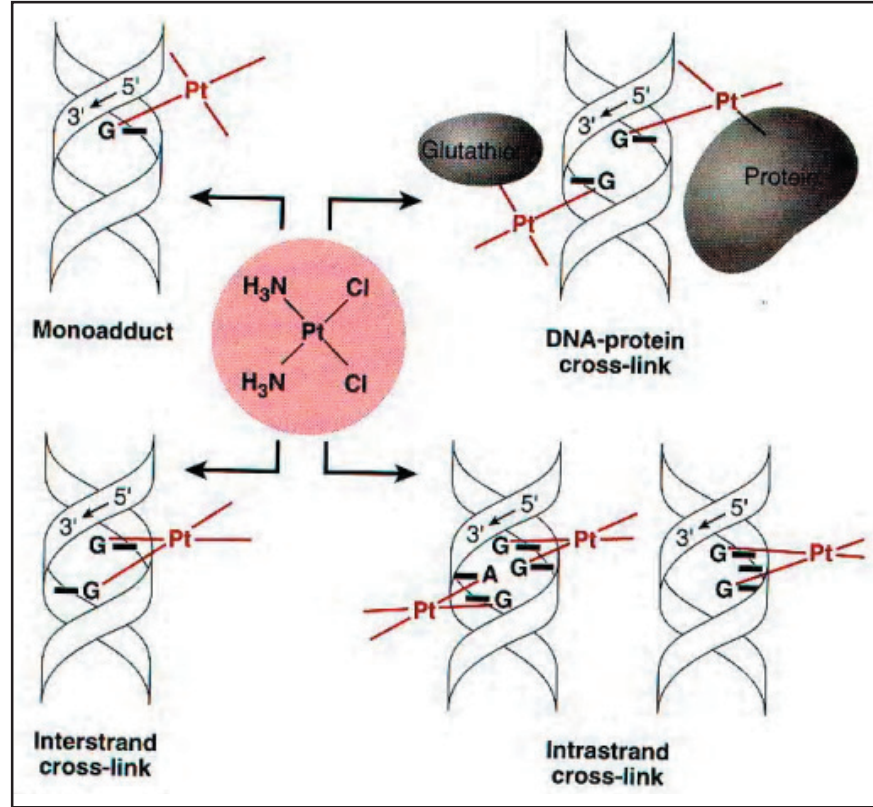
Sisplatin bugün testis, ovaryum, mesane, akciğer, baş ve boyun tümörleri de dahil olmak üzere insan neoplazmalarının tedavisi için kullanılan en etkili antineoplastik ajanlardan bir tanesidir (Loehrer ve ark.,1984; Rosenberg, 1985).



Şekil 1.5. Sisplatin'in kimyasal yapısı

Sisplatinin 1970 yılından beri anti tümör aktivitesine sahip olduğu bilinmekte olup, o yıllardan itibaren insan klinik deneylerine girmiştir. Bu deneyler 1978'de ABD'de sonuçlanmıştır. İlk olarak testis ve ovaryum kanserlerinin, daha sonra mesane kanserinin tedavisinde kullanılmıştır.

Ticari adı; cis-diamminedikloroplatinyum(II) (CDDP) olup moleküler formülü, $Cl_2H_6N_2Pt$ 'dir. Tetragonal planar yapıya sahiptir, birbirine komşu olan iki tane klor iyonu ve iki tane amonyak bileşiği içerir. IARC'in sınıflamasına göre, muhtemelen insan karsinojenidir.

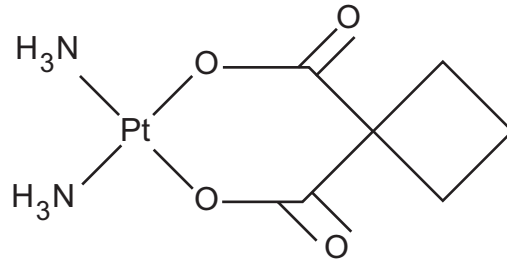


Şekil 1.6. Sisplatin'in DNA'ya bağlanma pozisyonları.

Sisplatinin anti tümör aktivitesi intrastrand (zincir içi) ve interstrand (zincir arası) çapraz bağları ve mono katım ürünüde dahil, DNA katım ürünlerinin oluşumu ile karakterizedir (Eastman, 1982). Sisplatinin esas hedefi DNA'dır ve DNA'ya guanin ve adeninin N-7 pozisyonundan kovalent bağla bağlanır. Sisplatin DNA'ya inter (<15%) ve intra (>90%) çapraz bağlarıyla bağlanabilmektedir. Bu bağlanmalar sonucunda hücresel replikasyon engellenir ve sonuç olarak hücre bölünemez.

1.4.1.2. Karboplatin

Karboplatin özellikle küçük hücreli akciğer kanserli (KHAK) hastalarının tedavisi için umut verici bir ilaçtır. Sisplatin ve karboplatinle yapılan tedaviye verilen yanıt oranları küçük hücreli akciğer kanserlerinde daha yüksektir (Takahashi ve ark.,1986; Takahashi ve ark.,1987).



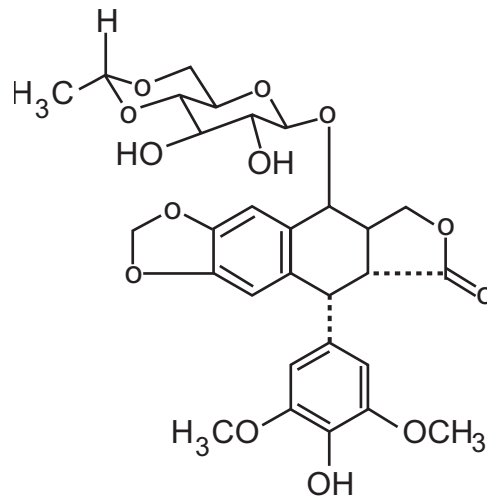
Şekil 1.7. Karboplatinin kimyasal yapısı.

Ticari adı; paraplatin'dir (CBDCA). Karboplatinde sisplatinde bulunan klor atomlarının yerini oksijen atomları almıştır.

Karboplatin de sisplatinde olduğu gibi DNA üzerine etkisini gösterir. DNA'ya adenin ve guaninin N-7 pozisyonundan kovalent bağla bağlanır. DNA katım ürünlerinin oluşması sonucunda, DNA sentezi ve transkripsiyon inhibe olur ve hücre bölünemez. DNA'ya ve stoplazmik proteinlere bağlanması, sitotoksik etkilerle sonuçlanabilir.

1.4.1.3. Etoposid

Podophyllum peltatum mandrake bitkisinden ekstrakte edilen bitki alkaloididir. Ticari adı, Vepesid'dir (VP-16). Hücre döngüsünün gecikmiş S ve G2 fazında etkinlik gösteren spesifik bir ajandır.

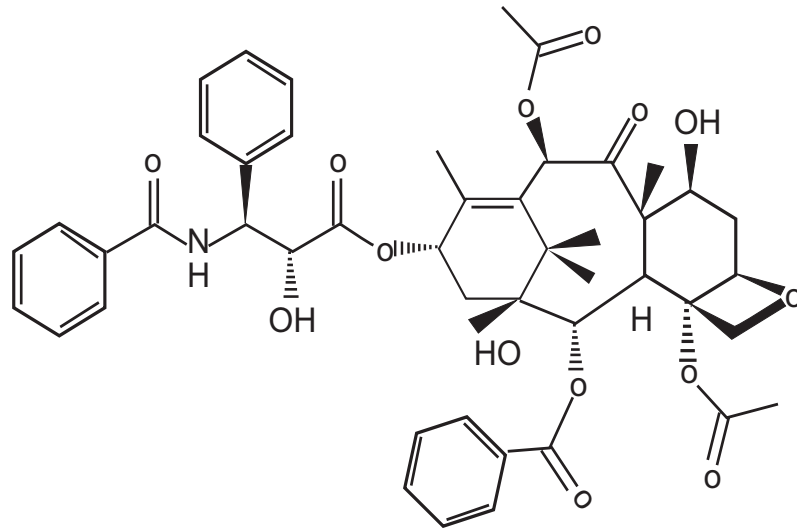


Şekil 1.8. Etoposid'in kimyasal yapısı.

Etoposid topoizomeras II inhibitörüdür. DNA-Topoizomeras II kompleksini stabilize ederek DNA çift ipliğinin birbirinden ayrılmasını engeller. Böylece DNA replikasyonu engellenir ve kanser hücrelerinin çoğalması durdurulur. (Franks ve ark., 2003).

1.4.1.4. Paklitaksel

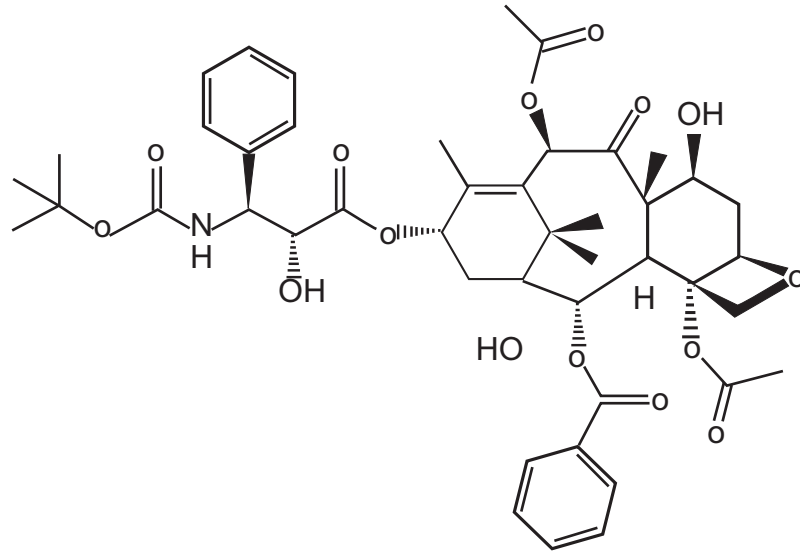
Akciğer kanseri tedavisinde son yıllarda kullanılan en etkili ilaçlardan bir tanesidir. Pasifik okyanusu kıyısında bulunan bir ağaçtan elde edilmektedir. İkinci faz klinik çalışmalarda paklitaksel alan metastatik KHDAK olan hastaların %40 nın bir sene sonunda hayatta kaldığı gösterilmiştir. Özellikle karboplatinle birlikte kombine kullanıldığında hem yan etkileri azalır, hem de metastatik hastalarda %50 nin üzerinde klinik cevap gösterir.



Şekil 1.9. Paklitaksel'in kimyasal yapısı.

Taksanlar, polimerize olmuş tübüline bağlanırlar. Mikrotübüllerdeki her tübülün dimeri üzerinde paklitaksel için bir bağlanma sahası vardır. Paklitakselin mikrotübüllere etkin konsantrasyonda bağlanmasıyla polimerizasyon indüklenir ve sitotoksik etki oluşur (Kayaalp, 2000).

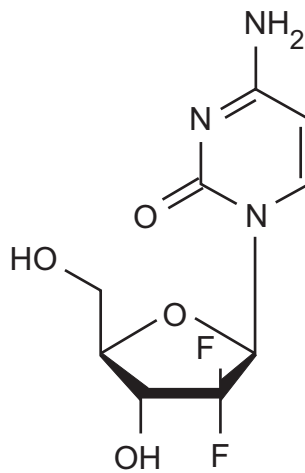
1.4.1.5. Doksetsel



Şekil 1.10. Doksetsel'in kimyasal yapısı.

Paklitaksel'in semi-sentetik türevidir. Aynı ağacın yapraklarından ek bir reaksiyonla elde edilir. Akciğer kanserinde çok etkili bir ilaçtır. Evre III ve IV KHDAK hastalarda cevap oranı %35 ve bir yıllık hayatta kalma oranı %40 civarındadır. Özellikle sisplatin'e cevap vermemiş hastalarda, hiç tedavi olmamış hastalarda olduğu kadar etkilidir ve bu büyük bir avantajdır.

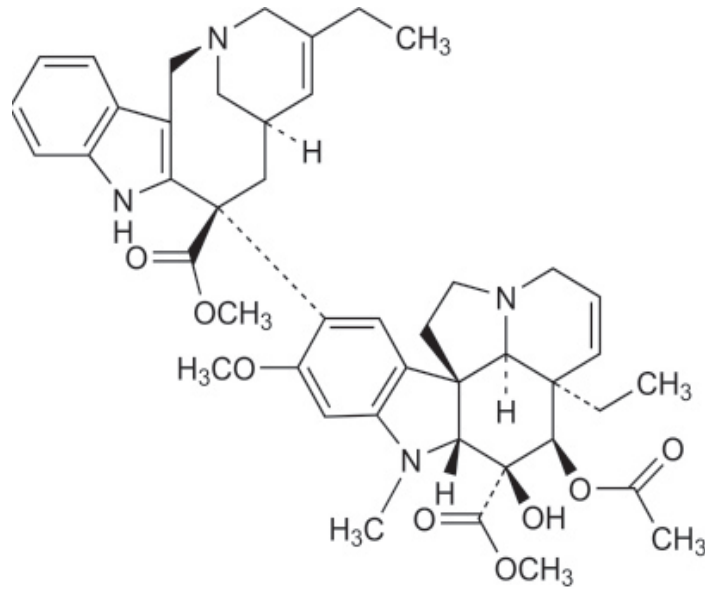
1.4.1.6. Gemcitabin



Şekil 1.11. Gemcitabin'in kimyasal yapısı.

Bir sentetik pirimidin nükleozid analogu olan gemsitabin birçok solid tümör (akciğer, pankreas, mesane, meme) tedavisinde önemli rol oynar. 400'den fazla akciğer kanserli hasta üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, %21 klinik cevap ve ortalama 26-46 hafta hayatta kalma gözlenmiştir. Ayrıca hastaların %60-70'inin ilacı aldıktan sonra klinik olarak daha iyi oldukları ve semptomlarının azaldığı gözlenmiştir. Gemsitabin'nin yan etkileri oldukça azdır ve ilacın uygulanması oldukça kolaydır (haftada bir kere 30 dakikalık IV infüzyon). Gemsitabin özellikle sisplatin ile birlikte kullanıldığında etkisi daha da artmaktadır.

1.4.1.7. Vinorelbin



Şekil 1.12. Vinorelbin'in kimyasal yapısı.

Vinorelbin bir vinka alkaloidi türevidir. Yan etkileri oldukça azdır. Tek başına kullanıldığında, metastatik akciğer kanseri hastalarında %15 aktivite gösterir ve bir yıllık hayatta kalma oranı %25'dir. Sisplatin ile birlikte kullanıldığında etkinliği artmaktadır ve bir yıllık hayatta kalma oranı %30-35'leri bulmaktadır.

1.5. İlaç Direnci

Son zamanlarda, kanserli hastaların tedavisi için en sık uygulanan tedavi yöntemi kemoterapidir. Ancak, tümör hücreleri bir ilaca direnç geliştirdiklerin-

den dolayı kemoterapinin etkisi sınırlıdır (Sun ve ark., 2004) Tümör tiplerinin birçoğu kemoterapik ajanlara karşı geliştirilen dirence ya baştan sahiptirler ya da tedavi süresince direnç kazanırlar. Tedaviye karşı dirençli hücrelerde, tedaviye verilen yanıtın eksik olması veya verilen yanıtın sonra tekrar tümör gelişmesi söz konusudur. Tekrarlayan tümörlerde tedaviye karşı daha fazla direnç gözlenir (Broxterman ve ark., 2003).

Kanser hastalarının kemoterapiye verdikleri yanıtın anlamlı olması ve hastaların daha uzun süre hayatta kalmaları için antikanser ajanlara karşı geliştirilen direncin mekanizmalarının belirlenmesi gerekmektedir (Broxterman ve Georgopapadaku, 2001).

Mamot ve ark.'ları (2003) ilaç direnç mekanizmalarını genel olarak şu şekilde göstermiştir;

- İlacın hücreden atılımında artış,
- İlacın hücre içine alımında azalma,
- DNA onarım kapasitesindeki artma,
- Apoptozise uğrama yeteneğindeki azalma,
- Glutatyon aracılı direnç
- Ksenobiyotik metabolizmasındaki değişiklikler.

1.6. Çalışmanın Amacı

Akciğer kanseri özellikle erkeklerde dünyada görülen en sık kanser türü olup kanserden ölümlerde birinci sırada yer almaktadır. Benzer durum Türkiye'de de gözlenmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri, 1999). Akciğer kanserli hastaların üçte ikisi ameliyat edilemeyen lezyonlara sahiptirler. Bu hastalara ağır kemoterapi uygulansa dahi çoğu bir yıl içinde ölmektedir. Özellikle kanser olgularının % 80-85'ini oluşturan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir (Bai ve ark., 1995; Giovino, 2002; Rosell ve

ark., 2004). Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

Bu bağlamda son zamanlarda ilaç rezistans mekanizmaları üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmış ve kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığı saptanmıştır. Son yıllarda sigara içiminin daha fazla karsinojen-DNA katım ürününe neden olduğu ve bunun da p53 geninde mutasyonlara yol açarak daha agresiv ve kemoterapiye dirençli tümörleri oluşturarak sonuçta daha kısa sağ kalım süresine neden olabileceği bildirilmektedir (Goto ve ark.,'ları, 1996; Sweeney ark'ları, 2003).

Akciğer kanserlerinin erkeklerde % 90'nının ve kadınlarda % 78'inin sigara içimine bağlı olduğu bildirilmektedir (Siemiatycki ve ark., 1995; Shopland ve ark., 1991). Türkiye'de de akciğer kanseri hastaların çoğunun sigara içtiği bildirilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri, 1999). Sigara dumanında bulunan ve karsinojenik etkiden sorumlu polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) genotoksik etki gösterebilmeleri için metabolitlerine dönüşmeleri gerekmektedir. Sitokrom P450 (CYP) enzim sistemi PAH'lar dahil çok sayıda çevresel kimyasal maddeleri toksik ve karsinojenik metabolitlerine dönüştürür. Bu enzim sisteminin en önemli bileşeni olan CYP çok sayıda izozimi olup her biri farklı gen tarafından ekspres edilmektedir (Nelson ve ark., 1996). CYP1 ailesinden CYP1A1 PAH'ları mutajenik ve karsinojenik etkili metabolitlerine dönüştürür. Örneğin PAH'lardan biri olan benzo(a)pireni (BaP) güçlü karsinojenik metaboliti olan benzopiren 7,8-dihidrodiol-9.10-epoksite (BPDE) dönüştürmede CYP1A1 önemli görev üstlenir. Nitekim sigara içenlerde artan akciğer kanser riski CYP1A1 tarafından katalizlenen B(a)P hidroksilaz aktivitesinin yüksek oranda indüklenebilirliğine ve bu aktivite ile BPDE katım ürünü arasındaki pozitif ilişkiye bağlanmaktadır (Kellerman ve ark., 1973; Bartsch ve ark., 1992; Bartsch ve ark., 1995). CYP1A1 'nin yanısıra diğer CYP'lerden 1B1'in PAH'ların aktivasyonundan önemli derecede sorumlu oldukları belirlenmiştir (Einolf ve ark., 1997; Kim ve ark., 1998; Luch ve ark., 1998). Bu CYP'lerin polimorfik regülasyon altında oldukları bilinmektedir.

CYP1A1 geni üzerinde tanımlanmış polimorfizmler arasında birbirine bağlı iki yakın mutasyon B(a)P hidroksilaz aktivitesinin indüklenebilirliği ve kanser riski arasındaki olası ilişkiye bağlı olarak oldukça fazla çalışılmıştır. Bunlardan birisi Msp1 mutasyonu olup ve diğeri ise İle462 Val mutasyonudur (Hayashi ve ark., 1991; Cascorbi ve ark., 1996). Akciğer kanserine duyarlılık ile CYP1A1 polimorfizmleri arasında ilişki çeşitli toplumlarda çalışılmıştır (Rannug ve ark., 1995; Spivack ve ark., 1997). CYP1A1 gen mutasyonları ile DNA hasarına duyarlılıkta artış arasındaki ilişkiyi saptayan çalışmalara rastlanmaktadır. İlk sonuçlarda Msp1 ve İle462Val mutasyonları taşıyan allellere sahip PAH'lara maruz kalmış bireylerin BPDE-DNA-katım ürünü düzeyleri de yüksek saptanmıştır (Spivack ve ark., 1997). CYP1A1 genindeki allelik varyasyonların bağlı polimorfizmlerin akciğer kanserleriyle ilişkili oldukları da saptanmıştır (Garcia-Closas ve ark., 1997; Le Marchand ve ark., 1998; Dresler ve ark., 2000).

Son yıllarda CYP1B1 geninin de polimorfik olduğu belirlenmiştir (Stoilov ve ark., 1998). Bu gendeki 4 mutasyon Val432Leu , Asn453Ser , Ala119Ser ve Arg48 Gly daha sık görülen mutasyonlardır (Stoilov ve ark., 1998). Enzimin aktivitesinde önemli hem bağlayan bölgeyi kodladığı için ilk ikisinin mutasyonununki önemli olduğu düşünülmektedir (Bailey ve ark., 1998). Son zamanlarda periferel lökositlerde DNA katım ürününün CYP1B1 mutasyonu ile ilişkili olduğu (Schoket ve ark., 2001) ve akciğer kanserlilerde kontrole göre daha yüksek düzeyde CYP1B1 bulunduğu saptanmıştır (Wu ve ark., 2004). CYP1B1 gen polimorfizmi ile akciğer kanseri riski arasındaki olası ilişkiyi irdeleyen epidemiyolojik çalışmalar da son dönemde artmıştır (Watanabe ve ark., 2000; Wu ve ark., 2004; Sorensen ve ark., 2005).

Son yıllarda küçük hücreli dışı akciğer kanserinde CYP1A1 Msp1 mutasyonunun kanser riskini arttırdığı ve hastaların sağ kalım süresini azalttığı bildirilmektedir (Goto ve ark., 1996). İlaveten, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde CYP1A1 aktivasyonunun p53 inaktivasyonuna neden olduğu (Pryzgodzki ve ark.'ları, 1998) ve koruyucu p53 gen ekspresyonu azalması

ile düşük sağ kalım süresinde anlamlı bir ilişki olduğu da bildirilmektedir (Goto ve ark., 1996). Bu da daha agresiv tümörlerin oluşumuna neden olarak kemoterapiye yanıtı direnci artırarak sonuçta daha kısa sağ kalım süresine neden olmasına bağlanmaktadır.

CYP1A1'in diğer mutasyonu olan İle462 Val mutasyonu ile CYP1B1 Asn 453 Ser mutasyonlarının tek başlarına veya birlikte küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında kemoterapiye yanıtı ve buna bağlı olarak sağ kalım süresi üzerine olası etkilerinin, bildiğimiz kadarı ile, araştırılmadığı gözlenmektedir. Bu konunun aydınlatılması ile bu tip akciğer kanserinde platin bazlı kemoterapiye yanıtta bu polimorfik genlerin katkısının olup olmadığı ortaya konularak kemoterapiye yanıtta markır olarak kullanılabilirliği ve sonuçta bireysel bazda etkili tedavi için farklı kemoterapi rejimlerinin uygulanmasına olanak sağlayabilmeleri açısından son derece önemlidir.

Dolayısıyla bu çalışmada platin bazlı ilaçlarla tedavi gören küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların CYP1A1 gen , İle462 Val mutasyonu, ile CYP1B1 gen, Asn 453 Ser mutasyonu, polimorfizmlerinin kemoterapiye karşı yanıtları ve sağ kalım süreleri saptanarak bu CYP polimorfizmlerin tedavi ve sağ kalım süreleri üzerine etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

- DNA izolasyon kiti (Promega Corporation, ABD)
- İzopropanol (Merck, Almanya)
- Etanol (Merck, Almanya)
- Borik asit (Merck, Almanya)
- Tris (AppliChem, Almanya)
- EDTA (AppliChem, Almanya)
- NaOH (Merck, Almanya)
- SYBR green (Roche Almanya)
- Agaroz (Lonza, ABD)
- PCR master mix (Fermentas, Litvanya)
- Primerler (IDT, ABD)
- PCR marker (Promega Corporation, ABD)
- Kesim enzimleri (New England Biolabs, İngiltere)

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- -80'lik derin dondurucu (Sjnidars Scientific)
- -20'lik derin dondurucu (Bosch)
- Rotatör (Labinco)
- Vortex (Labinco L46)
- Mikrosantrifüj (Hermle Z 160 M)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-160 A)
- Otoklav (Sanyo, MAC-235 EX)
- Steril kabin (Bilser)
- Thermal cycler (Thermo Hybaid)
- pH-metre (Jenway 3320)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik MD55I)
- Mini Elektroforez Tankı (Thermo EC)
- Midi Elektroforez Tankı (Thermo EC)
- Elektroforez Güç Kaynağı (E-C Apparatus Corp. EC250-90)
- Jel görüntüleme sistemi (Vilber-Lourmat, TCP-20-MX)
- Isıtıcı blok (Grant Boekel)

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. Deney Kurgusu

Çalışmada Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma hastanesine başvuran, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanısı konmuş olan ve platin bazlı kemoterapi alan, 126 erkek ve 12 kadın olmak üzere toplam 138 hastadan alınan kan örnekleri ile çalışıldı. Bu 138 hastanın yaş ortalaması 56 ± 9 (ortalama \pm SH, aralık 34-75). 126 erkek hastanın yaş ortalaması 56 ± 9 (ortalama \pm SH, aralık 34-75). 12 kadın hastanın yaş

ortalaması ise 58 ± 8 (ortalama $44 \pm$ SH aralık 34-69). Bütün hastalar Şubat 2002 ve Kasım 2005 yılları arasında takip edilmiştir. Hastaların onayı alındıktan sonra, dirsek ön yüzü toplardamarlarından bir seferde 7 ml'lik kan örneği araştırma grubumuz içinde bulunan doktor gözetiminde alındı. Sonuçların ayrıntılı bir biçimde değerlendirilebilmesi için her bir bireye ait beslenme, sigara ve kahve alışkanlıkları, geçirdiği hastalıklar ve gerekli diğer bilgileri içeren bilgilendirilmiş gönüllü onay formları ve anket formları dolduruldu (Hasta onay formu ve anket ekte sunulmaktadır). Bu işlemlerden sonra, örnekler buz içinde laboratuvarımıza getirildi. Çalışma için gerekli etik kurul kararı da örneklerin alındığı Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Hastanesi etik kurulunda alınmıştır (ekte sunulmaktadır).

2.2.2. KHDAK Hastalığının Tanı Konma Yöntemleri

Hastalara KHDAK tanısı, görüntüleme yöntemleri ve patolojik tanı olmak üzere iki şekilde konulmaktadır. Görüntüleme yöntemlerinden, direk göğüs grafisi, akciğer, sürrenal ve beyin bilgisayarlı tomografisi ve kemik sintigrafisi yöntemleri kullanılmaktadır. Patolojik tanı yöntemlerinden ise, ince iğne aspirasyon biyopsisi, bronkoskopik biyopsi ve cerrahi olarak alınan biyopsi yöntemleri kullanılmıştır.

2.2.3. Kemoterapi Protokolleri

Platin bazlı kemoterapi uygulanan 138 kişilik hasta grubu kemoterapi rejimlerine göre hasta sayısından dolayı iki gruba ayırdık. Bu gruplar platin ve etoposid, platin ve diğer kemoterapik ilaçlar kullananlardır. Platin ve etoposid kullanan hasta grubu: Sisplatin-Etoposid. 1.gün cisplatin (80 mg/m^2), etoposid (100 mg/m^2) verilir. 2. ve 3. günler sadece etoposid yine aynı dozlarda verilir. (n = 87)

Platin ve diğer kemoterapik ilaç kullanan hasta grubu: Sisplatin - Gemsitabin 1.gün sisplatin (80 mg/m^2), gemsitabin (1250 mg/m^2), 8. gün gemsitabin (1250 mg/m^2) verilir (n=12). Sisplatin - Dosetaksel sisplatin (75 mg/m^2) ve dosetaksel

(75 mg/m²) verilir (n=7). Sisplatin - Vinorelbin, 1.gün sisplatin (80 mg/m²), vinorelbin (30 mg/m²) ve 8. gün vinorelbin (30 mg/m²) verilir (n= 9). Paklitaksel - Karboplatin, 1.gün paklitaksel (225 mg/m²/2), karboplatin 5 AUC (Glomerüler Filtrasyon Hızı + 25 mg) ve 8. gün paklitaksel (225 mg/m²/2) verilir (n=13). Sisplatin - Paklitaksel, 1.gün paklitaksel (225 mg/m²/2) ve 2. gün sisplatin (80 mg/m²) verilir (n=10).

Yukarıda belirtilen ilaç uygulama dozları sadece bir kürde uygulanan dozlardır. Her bir kürün süresi 21 gündür. DSÖ kriterlerine göre yapılan radyolojik değerlendirme 2. kür sonrası yapılmaya başlanmaktadır. Bu nedenle çalışmaya 2. kür ve sonrası hastalar dahil edilmiştir.

2.2.4. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Kriterleri

Tam Yanıt

En az 4 hafta da, asıl tümör ve bütün metastaslarda tam olarak yok olma görülür.

Kısmi (Parsiyal) Yanıt

En az 4 hafta da, bütün metastaslar ve asıl tümör tarafında % 50'den fazla azalma görülür.

Stabil Hastalık

Mevcut lezyonda % 25'den az büyüme, % 50'den az küçülme görülür.

Progresyon

Bir veya daha fazla ölçülebilir lezyon tarafında % 25'den daha büyük bir artış veya yeni lezyon oluşumu görülür.

Bu çalışmanın değerlendirilmesinde;

Yanıt verenler (YV) grubuna, Tam Yanıt ve Kısmi Yanıt veren hastalar,

Yanıt vermeyenler (YM) grubuna, Stabil Hastalık ve Progresyon gözlenen hastalar alınmıştır.

2.2.5. DNA İzolasyonu

Kan numuneleri, homojen hale gelene kadar yaklaşık 10 dakika rotatörde çevrilmeye bırakıldı. 1,5 ml'lik steril mikrosantrifüj tüpüne 900 µl hücre parçalayıcı çözelti konuldu. Rotatörde homojen hale gelen kan numunesinden 300 µl alınarak bu çözeltinin içine eklendi ve pipetle 4-5 kez karıştırıldı. Hazırlanan karışım oda sıcaklığında 10 dakika rotatörde çevrildi ve 13,000-16,000 × g 'de 20 saniye santrifüj edildi. Dibe çöken lenfositlerin bozulmamasına özen gösterilerek üstte kalan kısım tüpten uzaklaştırıldı. Dipte 10-20 µl sıvı bırakıldı.

Lenfositler dağılına kadar tüp vortekste karıştırıldı. 300 µl çekirdek parçalayıcı çözelti eklendi ve iyice pipetlendi. Bu işlem sonunda sonunda oluşan viskoz çözelti üzerine 100 µl protein çöktürücü çözelti ilave edildi ve protein parçaları görünür hale gelene kadar vortekslendi, 13,000-16,000 × g'de 3 dakika santrifüj edildi ve bu işlem sonunda koyu kahverengi protein çökeleği görünür bir hal aldı.

Üstte kalan kısım, içinde 300 µl izopropanol (oda sıcaklığında) bulunan, 1,5 ml'lik yeni steril mikrosantrifüj tüplerine alındı. Solüsyon, elle altüst edilerek, DNA iplik halinde görünene kadar karıştırıldı. 13,000-16,000 × g'de 1 dakika santrifüj işlemi yapıldı ve DNA çöktürüldü. DNA'ya zarar vermeden izopropanol, dikkatlice dökülerek veya pipet yardımıyla, tüpten uzaklaştırıldı, Daha sonra oda sıcaklığındaki 300 µl % 70'lik etanol DNA'ya eklendi ve tüpün kenarları iyice temizlendi. 13,000-16,000 × g'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi bittikten sonra , yine DNA'ya zarar vermeden ethanol de tüpten,

dikkatlice dökülerek veya pipet yardımıyla, uzaklaştırıldı ve yaklaşık 15 dakika tüplerin kurumaması beklenildi, Daha sonra 100 µl DNA rehidratasyon çözeltisi eklendi. DNA'lar 1 gece oda sıcaklığında bekletildi ve kullanılıncaya kadar -20 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

2.2.6. DNA Saflık ve Miktar Tayini

DNA' lar kandan izole edildikten sonra miktarlarının tayini için her bir DNA çözeltisi 1' e 20 oranında seyreltildi. Hazırlanan seyreltik DNA çözeltilerinin spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda verdikleri absorbanslar saptanarak aşağıdaki formül yardımıyla içerdikleri DNA miktarı µg/ml olarak belirlendi.

$$\text{DNA miktarı } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times d \times 1 \times 50$$

Bu formülde;

- A_{260} : 260 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunan değer,
- d: Seyreltme faktörü,
- 1: Spektrofotometre küvetinin uzunluğu,
- 50: Sabit değer.

DNA çözeltilerinin saflıkları ise spektrofotometrede 260 nm' de okunan absorbans değerinin 280 nm' de okunan absorbans değerine bölünmesi ile tespit edildi. Buna göre 1,7 ile 2,0 arasındaki değerlere sahip olan DNA' ların yeterli saflıkta izole edildiği saptandı.

2.2.7. CYP1A1 İle462Val Mutasyonunun Belirlenmesi

CYP1A1 geninde İle462Val mutasyonu Cascorbi ve ark' larının (1996) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu polimorfizm analizleri, PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak yapılmıştır.

50 µl toplam PCR reaksiyonu karışımı 24 µl PCR master mix(0,05 u/µl Taq DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, 4mM MgCl₂ , 0,4 mM dNTP karışımı), 24µl nukleaz içermeyen su, 100 pmol CYP1A1 primerleri sense-ileri (5'-GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT-3') ve antisense-geri (5'-CAG CTG CAT TTG GAA GTG CTC-3'), 100ng DNA içermektedir.

PCR koşulları, 30 PCR döngüsü erime (94°C 30 saniye), yapışma (63°C 30 saniye) ve sentez (72°C 30 saniye)' dir.

2.2.8. CYP1B1 Asn453Ser Mutasyonunun Belirlenmesi

CYP1B1 genindeki Asn453Ser mutasyonu, PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak yapılmıştır (Bailey ve ark., 1998).

50 µl toplam PCR reaksiyonu karışımı 24 µl PCR master mix(0,05 u/µl Taq DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, 4mM MgCl₂ , 0,4 mM dNTP karışımı), 24µl nukleaz içermeyen su, 100 pmol CYP1B1 primerleri sense-ileri (5'-GTG GTT TTT GTC AAC CAG TGG-3') ve antisense-geri (5'-GCC CAC TGA AAA AAT CAT CAC TCT GCT GGT CAG GTG C-3')), 150ng DNA içermektedir.

PCR koşulları, 30 PCR döngüsü erime (95°C 60 saniye), yapışma (62°C 60 saniye) ve sentez (72°C 60 saniye)' dir.

2.2.9. Jel Hazırlanması ve Numunelerin Jele Uygulanması

Agaroz jel %2 oranında olacak şekilde hassas terazide tartıldı. Mikrodalga fırında yaklaşık 2 dakika jel berrak bir hal alana kadar ısıtıldı. Daha sonra jel elektroforez kabına döküldü ve hemen tarak yerleştirildi. Jel donduktan sonra elektroforez tankına yerleştirildi. Yeni hazırlanan boş 0,5 ml'lik tüplere 10'ar µl PCR ürünü (geri kalanı RFLP için kullanılır) ve marker tüpüne de 5 µl marker konuldu, üzerlerine de 3'şer µl loading buffer ilave edildi. Tüplerdeki

ürünler jele uygulandı ve 100 Volt, 0,5 amperlik akımda yaklaşık 1 saat 15 dakika yürümleri beklendi. Elektroforez sonrası Tanktan çıkıralın jel, 1/10,000 oranında seyreltilmiş SYBR Green nükleik asit jel boyası içeren bir kapta düşük hızdaki çalkalayıcı yardımıyla, 30 dk. inkübe edilerek jeldeki PCR ürünlerine ait bantların UV ışığından görünür hale gelmesi sağlandı. Jelin, görüntüleme sisteminde çekilen fotoğrafında, CYP1A1 İle462Val genine ait PCR ürünü 204 bç'de bant, CYP1B1 Asn453Ser genine ait PCR ürünü de 143 bç'de izlendi ve görülmesi halinde RFLP uygulamasına geçildi.

2.2.10. RFLP Uygulaması

Kodon 462' deki İle-Val değişimi PCR reaksiyonunu takiben 65°C' de gece boyu 2U BsrDI enzimi ile kesilerek belirlenmiştir (Cascorbi ve ark., 1996). Enzimle kesim işleminden sonra yapılan elektroforetik analiz sonucunda 55 ve 149 bç' lik iki bant İle/İle (yabanıl tip) genotipini, 204 ve 149 bç' lik iki bant İle/Val (heterozigot) genotipini, 204 bç' lik tek bant ise Val/Val (homozigot mutant) genotipi belirlemektedir.

Kodon 453 deki Asn-Ser değişimi ise PCR reaksiyonunu takiben 55°C'de gece boyu Cac8I enzimi ile kesilerek belirlenmiştir. (Bailey ve ark. 1998) Enzimde yapılan kesim işlemi sonucu 143 bç'lik tek bant Asn/Asn (yabanıl tip) genotipini, 143 ve 105 bç' lik iki bant Asn/Ser (heterozigot) genotipini, 105 bç' lik tek bant ise Ser/Ser (homozigot mutant) genotipi belirlemektedir.

2.2.11. Kullanılan İstatistiksel Yöntem

Genotiplerin dağılımı ve aralarındaki karşılaştırmalarla kemoterapiye karşı alınan yanıtların karşılaştırılmaları ki-kare veya Fischer'in exact testi ile yapılmıştır. Sağ kalım süreleri tanı tarihinden her hasta için izlenen sürede ölüm tarihine veya son izlendiği tarihte sağ oluşlarına kadar geçen süre (ay) olarak hesaplanmıştır. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser genotipleri ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki Kaplan-Meier testi ile log rank metodu kullanılarak

belirlenmiştir. Hazard oranları (Hazard ratio-HR) yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojisi için düzeltilmiş çoklu regresyon Cox proportional hazard modeli ile belirlenmiştir. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Hesaplamalarda SPSS programının 11.0 sürümü kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Hasta Özellikleri

Çalışmada yer alan KHDAK 138 hastanın yaş, cinsiyet, hastalığın evresi ve tümörün histolojisi, CYP1A1 ve CYP1B1 genotipleri, kemoterapiye karşı verdikleri yanıtlar, sağ kalım süreleri ve aldıkları ilaç rejimleri gibi bireysel özellikleri çizelge 3.1.'de ayrıntılı olarak gösterilmektedir. Çizelge 3.2.'de hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, ilaç rejimi, sigara içme durumu ve içilen sigara miktarı gibi özelliklerine göre kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlar verilmektedir. Buna göre tedaviye karşı alınan yanıtlarda yaş, cinsiyet, hastalığın evresi, tümör histoloji, uygulanan ilaç rejimi, sigara içme durumu ve içilen sigaranın miktarı gibi özelliklerin etkisi olmadığı gösterilmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 3.1. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların özellikleri

Sıra No	Ad	Yaş	Cinsiyet	Histoloji	Evre	1A1	1B1	Kemoterapiye Yanıt	Sağ kalım Süresi (ay)	İlaç Rejimi
1	AT	73	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Ser	YV	12	Etoposid-Sisplatin
2	MB	66	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	13	Paklitaksel-Karboplatin
3	EK	62	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	9	Paklitaksel-Karboplatin
4	NY	65	Kadın	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	14	Paklitaksel-Karboplatin
5	AB	55	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	11	Paklitaksel-Sisplatin
6	EU	71	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	24	Vinorelbin-Sisplatin
7	MD	64	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Paklitaksel-Sisplatin
8	RG	42	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	25	Etoposid-Sisplatin
9	AD	63	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	25	Etoposid-Sisplatin
10	HY	66	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	24	Paklitaksel-Karboplatin
11	RA	43	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/val	Asn/Asn	YV	21	Paklitaksel-Sisplatin
12	AK	69	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	22	Vinorelbin-Sisplatin
13	LD	66	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	11	Paklitaksel-Karboplatin
14	VS	61	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/val	Asn/Asn	YV	16	Vinorelbin-Sisplatin
15	SB	45	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	18	Gemsitabin-Sisplatin
16	HK	48	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	19	Paklitaksel-Sisplatin
17	NE	58	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	22	Paklitaksel-Sisplatin
18	NU	49	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	5	Paklitaksel-Karboplatin
19	LB	58	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/val	Asn/Asn	YM	16	Etoposid-Sisplatin
20	İA	46	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	12	Etoposid-Sisplatin
21	HN	53	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	13	Etoposid-Sisplatin
22	ŞC	42	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	23	Gemsitabin-Sisplatin
23	ŞC	56	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	22	Paklitaksel-Sisplatin
24	EE	52	Kadın	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	18	Vinorelbin-Sisplatin
25	CA	61	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	24	Etoposid-Sisplatin
26	EN	55	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	18	Etoposid-Sisplatin
27	ZE	51	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	21	Vinorelbin-Sisplatin
28	TA	45	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	10	Gemsitabin-Sisplatin
29	MK	62	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	33	Paklitaksel-Sisplatin
30	AK	44	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	18	Etoposid-Sisplatin
31	NE	59	Kadın	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	15	Paklitaksel-Karboplatin
32	ŞK	59	Erkek	Adeno	3	ile/val	Asn/Asn	YM	16	Etoposid-Sisplatin
33	HA	65	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	17	Etoposid-Karboplatin
34	AÇ	54	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	18	Paklitaksel-Sisplatin
35	MD	64	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	32	Dosetaksel-Sisplatin
36	DT	39	Erkek	Epidermoid	3	ile/val	Asn/Asn	YM	5	Gemsitabin-Sisplatin
37	KÇ	60	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	9	Etoposid-Sisplatin
38	MŞ	58	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	19	Dosetaksel-Sisplatin
39	RT	44	Kadın	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	18	Gemsitabin-Karboplatin
40	AT	55	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	7	Etoposid-Sisplatin
41	İA	68	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	9	Etoposid-Sisplatin
42	YA	44	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	19	Paklitaksel-Karboplatin
43	DK	63	Erkek	Epidermoid	4	ile/val	Asn/Asn	YM	14	Vinorelbin-Sisplatin
44	RK	75	Erkek	Epidermoid	3	ile/val	Asn/Asn	YM	10	Etoposid-Sisplatin
45	İP	70	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	9	Etoposid-Sisplatin
46	MV	51	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	11	Etoposid-Sisplatin
47	MÖ	49	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	29	Dosetaksel-Sisplatin
48	NÇ	64	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	15	Dosetaksel-Sisplatin

Çizelge 3.1. (Devam) küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların özellikleri

49	YK	43	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	14	Etoposid-Sisplatin
50	ÖY	64	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	12	Paklitaksel-Karboplatin
51	EZ	45	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	12	Etoposid-Sisplatin
52	KK	50	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	9	Etoposid-Sisplatin
53	NA	50	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YV	13	Dosetaksel-Sisplatin
54	YE	71	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YV	6	Etoposid-Sisplatin
55	HB	54	Kadın	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	10	Gemcitabin-Sisplatin
56	MS	61	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	10	Etoposid-Sisplatin
57	FA	67	Erkek	Epidermoid	3	ile/val	Asn/Ser	YV	10	Etoposid-Sisplatin
58	ŞK	60	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	13	Paklitaksel-Karboplatin
59	NÖ	48	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	12	Etoposid-Sisplatin
60	MA	55	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	14	Paklitaksel-Karboplatin
61	AS	65	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	15	Etoposid-Sisplatin
62	FS	50	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	10	Etoposid-Sisplatin
63	CS	50	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YV	10	Paklitaksel-Karboplatin
64	MD	71	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	6	Etoposid-Sisplatin
65	ŞC	64	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	10	Etoposid-Sisplatin
66	FD	34	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	10	Vinorelbin-Sisplatin
67	AK	72	Erkek	Epidermoid	4	ile/val	Asn/Ser	YM	9	Etoposid-Sisplatin
68	KA	47	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
69	EÖ	67	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Ser/Ser	YM	45	Paklitaksel-Karboplatin
70	NÖ	46	Kadın	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	12	Gemcitabin-Sisplatin
71	AN	56	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	18	Vinorelbin-Sisplatin
72	ŞB	56	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YV	9	Etoposid-Sisplatin
73	ZA	64	Kadın	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	13	Gemcitabin-Sisplatin
74	İU	66	Erkek	Epidermoid	3	ile/val	Asn/Ser	YV	6	Etoposid-Sisplatin
75	NŞ	63	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	9	Etoposid-Sisplatin
76	MG	54	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	15	Etoposid-Sisplatin
77	RK	42	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	8	Vinorelbin-Sisplatin
78	SY	63	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/val	Asn/Asn	YM	4	Etoposid-Sisplatin
79	İB	63	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	26	Gemcitabin-Sisplatin
80	NA	63	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YV	10	Etoposid-Sisplatin
81	NS	40	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	4	Etoposid-Sisplatin
82	SY	50	Erkek	Adeno	4	ile/val	Asn/Asn	YM	10	Etoposid-Sisplatin
83	AÜ	53	Erkek	Adeno	3	ile/val	Asn/Asn	YM	19	Paklitaksel-Sisplatin
84	ZA	56	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	10	Etoposid-Sisplatin
85	ZB	56	Kadın	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	8	Etoposid-Sisplatin
86	MB	60	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	8	Etoposid-Sisplatin
87	SL	47	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YV	13	Etoposid-Sisplatin
88	EB	68	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Etoposid-Sisplatin
89	EV	56	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Etoposid-Sisplatin
90	MM	49	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Etoposid-Sisplatin
91	YA	62	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	26	Etoposid-Sisplatin
92	OK	52	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	7	Etoposid-Sisplatin
93	HA	50	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	10	Etoposid-Sisplatin
94	H.IK	56	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Etoposid-Sisplatin
95	HE	70	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	9	Etoposid-Sisplatin
96	AD	67	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	8	Etoposid-Sisplatin
97	FŞ	55	Kadın	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	8	Etoposid-Sisplatin
98	HE	53	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Etoposid-Sisplatin

Çizelge 3.1. (Devam) küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların özellikleri

99	DA	55	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	6	Dosetaksel-Sisplatin
100	MK	63	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
101	AA	46	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	30	Etoposid-Sisplatin
102	YT	55	Erkek	Epidermoid	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	6	Dosetaksel-Sisplatin
103	MA	55	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
104	HB	55	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	6	Gemcitabin-Sisplatin
105	HÇ	68	Kadın	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	3	Etoposid-Sisplatin
106	OC	72	Erkek	Epidermoid	3	ile/val	Asn/Asn	YM	5	Etoposid-Sisplatin
107	AK	58	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/val	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
108	KA	46	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	7	Etoposid-Sisplatin
109	VT	53	Erkek	Epidermoid	3	ile/val	Asn/Asn	YM	7	Etoposid-Sisplatin
110	GI	69	Kadın	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	6	Etoposid-Sisplatin
111	HK	56	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	11	Etoposid-Sisplatin
112	ÖY	60	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
113	RÜ	50	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	9	Etoposid-Sisplatin
114	HK	65	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/ile	Asn/Ser	YV	7	Etoposid-Sisplatin
115	ÜK	41	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	7	Etoposid-Sisplatin
116	RT	45	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Ser	YV	6	Etoposid-Sisplatin
117	LG	54	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Paklitaksel-Sisplatin
118	YK	43	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	12	Etoposid-Sisplatin
119	MA	34	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	7	Etoposid-Sisplatin
120	ŞS	67	Erkek	Adeno	3	ile/val	Asn/Asn	YV	3	Etoposid-Sisplatin
121	AU	64	Erkek	Adeno	3	ile/val	Asn/Asn	YM	24	Etoposid-Sisplatin
122	DT	49	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Ser	YM	9	Etoposid-Sisplatin
123	HA	58	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	9	Etoposid-Sisplatin
124	ŞG	66	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	6	Etoposid-Sisplatin
125	MB	57	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	7	Etoposid-Sisplatin
126	AÖ	48	Erkek	Sınıflandırılmamış	2	val/val	Asn/Asn	YM	15	Etoposid-Sisplatin
127	MK	54	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/val	Asn/Asn	YM	23	Etoposid-Sisplatin
128	HA	54	Erkek	Sınıflandırılmamış	3	ile/val	Asn/Ser	YV	9	Etoposid-Sisplatin
129	RB	65	Erkek	Epidermoid	3	val/val	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
130	ŞK	57	Erkek	Epidermoid	3	val/val	Asn/Asn	YM	6	Etoposid-Sisplatin
131	MÇ	54	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	14	Etoposid-Sisplatin
132	MK	57	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YV	5	Etoposid-Sisplatin
133	HD	59	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YM	5	Etoposid-Sisplatin
134	NU	46	Erkek	Epidermoid	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	6	Etoposid-Sisplatin
135	CM	71	Erkek	Sınıflandırılmamış	4	ile/ile	Asn/Asn	YV	4	Gemcitabin-Sisplatin
136	HC	53	Erkek	Adeno	3	ile/ile	Asn/Asn	YM	8	Etoposid-Sisplatin
137	MK	47	Erkek	Adeno	4	ile/ile	Asn/Ser	YM	5	Etoposid-Sisplatin
138	MK	62	Kadın	Adeno	4	ile/val	Asn/Asn	YM	4	Gemcitabin-Sisplatin

Çizelge 3.2. Hasta Özelliklerinin Kemoterapiye Verilen Yanıt Durumuna Göre Dağılımı

Hasta Sayıları ve Yüzdeleri				
Hasta Özellikleri	Hastalar	Yanıt Veren (%)	Yanıt Vermeyen (%)	p değeri*
Toplam	138	42 (30,4)	96 (69,6)	
Yaş				
≤50	40 (29,0)	15 (35,7)	25 (26,0)	
51-60	48 (34,8)	9 (21,4)	39 (40,6)	
≥61	50 (36,2)	18 (42,9)	32 (33,3)	0,09
Cinsiyet				
Erkek	126 (91,3)	38 (90,5)	88 (91,7)	
Kadın	12 (8,7)	4 (9,5)	8 (8,3)	0,82
Histoloji				
Epidermoid	49 (35,5)	18 (42,8)	31 (32,3)	
Adenokarsinoma	48 (34,8)	11 (26,2)	37 (38,5)	
Sınıflandırılmamış	41 (29,7)	13 (31,0)	28 (29,2)	0,33
Evre				
Evre 3	60 (43,5)	21 (50)	39 (40,6)	
Evre 4	78 (56,5)	21 (50)	57 (59,4)	0,31
İlaç				
Etoposid içeren ^a	87 (63,0)	24 (57,1)	63 (65,6)	
Etoposid içermeyen ^b	51 (37,0)	18 (42,9)	33 (34,4)	0,34
Sigara öyküsü				
Hiç içmeyen	13 (9,4)	5 (11,9)	8 (8,3)	
Halen içen	85 (61,6)	28 (66,7)	57 (59,4)	
Bırakmış	40 (29,0)	9 (21,4)	31 (32,3)	0,40

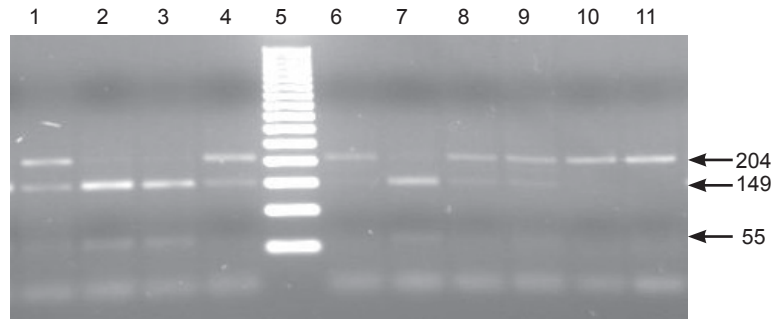
* Ki- kare testi kullanılmıştır

^a. Sisplatin ve etoposid

^b. Sisplatin - Gemsitabin, Sisplatin - Dosetaksel, Sisplatin - Öinorelbin, Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.

3.2. CYP1A1 İle462Val Genotip Bulguları

138 kişilik KHDAK'li hasta grubunda CYP1A1 İle462Val, İle/İle (yabanıl tip) genotipe sahip bireylerin sayısı 113 (% 81.9), İle/Val (heterozigot) ve Val/Val (homozigot mutant) genotipe sahip bireylerin sayısı 25 (% 18.1) olarak saptanmıştır. Bu 25 bireyden 3 tanesi Val/Val (homozigot mutant) genotipe sahiptir. Hasta grubuna ait CYP1A1 İle462Val gen polimorfizm sonuçları Şekil 3.1' de gösterilmiştir.

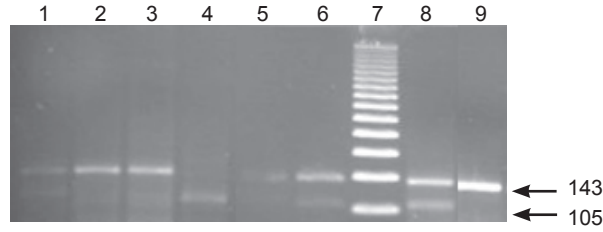


Şekil 3.1. CYP1A1 İle462Val genotipine ait jel elektroforez sonucu:

5. sütun; 50 bç' lik DNA marker,
 2., 3. ve 7. sütunlar; 55 ve 149 bç' lik iki bant CYP1A1 İle462Val, İle/İle genotipini
 1.,4.,6., 8. ve 9. sütunlar; 55, 149 ve 204 bç' lik üç bant CYP1A1 İle462Val, İle/Val genotipini,
 10. ve 11. sütun; 204 bç'lik tek bant CYP1A1 İle462Val, Val /Val genotipini göstermektedir.

3.3. CYP1B1 Asn453Ser Genotip Bulguları

138 kişilik KHDAK'li hasta grubunda CYP1B1 Asn453Ser, Asn/Asn (yabanıl tip) genotipe sahip bireylerin sayısı 96 (% 69,4), Asn/Ser (heterozigot) ve Ser/Ser (homozigot mutant) genotipe sahip bireylerin sayısı 42 (% 30,4) olarak saptanmıştır. Bu 42 bireyden sadece 1 tanesi Ser/Ser (homozigot mutant) genotipe sahiptir. Hasta grubuna ait CYP1B1 Asn453Ser gen polimorfizm sonuçları Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. CYP1B1 Asn453Ser genotipine ait jel elektroforez sonucu:

7. sütun; 50 bç' lik DNA marker,
 2. ve 9. sütunlar; 143 bç'lik tek bant CYP1B1 Asn453Ser, Asn/Asn
 1., 3., 5., 6., 8. sütunlar; 143 ve 105 bç'lik 2 bant CYP1B1 Asn453Ser, Asn/Ser
 4. sütun; 105 bç'lik tek bant CYP1B1 Asn453Ser, Ser/Ser
 genotiplerini göstermektedir.

3.4. Hasta Özelliklerinin Genotiplere Göre Dağılımları

Hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre ve sigara içme durumlarına göre her bir genotipin dağılımı çizelge 3.3. ve 3.4'de gösterilmektedir. Genotiplerin bu kategorilerin alt grupları arasında dağılımında CYP1A1 için evre ve CYP1B1 için ilaç haricinde istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmemiştir ($p>0.05$). Çizelge 3.3.'de heterozigot (İle/Val) ve mutant (Val/Val) ve çizelge 3.4'de heterozigot (Asn/Ser) ve mutant (Ser/Ser) genotiplerine sahip hastalar varyant genotip adı altında birleştirilerek (hasta sayısının azlığından dolayı) aynı değerlendirme yapılmış ve bir anlamlılık bulunamamıştır ($p>0.05$). çalışmada yer alan 138 KHDAK'li hastanın 25'i varyant (İle/Val + Val/Val), 42'si varyant (Asn/Ser + Ser/Ser) genotipe sahiptir.

Çizelge 3.3. Hasta Özelliklerinin CYP1A1 İle462Val Genotiplerine Göre Dağılımı

Hasta Sayısı ve Yüzdeleri				
Hasta Özellikleri	Hastalar	İle/İle	İle/Val + Val/Val	p değeri*
Toplam	138	113 (81,9)	25 (18,1)	
Yaş				
≤50	40 (29,0)	36 (31,9)	4 (10,0)	
51-60	48 (34,8)	39 (34,5)	9 (36,0)	0,23
≥61	50 (36,2)	38 (33,6)	12 (48,0)	
Cinsiyet				
Erkek	126 (91,3)	102 (90,3)	24 (96,0)	0,36
Kadın	12 (8,7)	11 (9,7)	1 (4,0)	
Histoloji				
Epidermoid	49 (35,5)	38 (33,6)	11 (44,0)	
Adenokarsinoma	48 (34,8)	42 (37,2)	6 (24,0)	0,43
Sınıflanmamış	41 (29,7)	33 (29,2)	8 (32,0)	
Evre				
Evre 3	60 (43,5)	44 (38,9)	16 (64,0)	0,02
Evre 4	78 (56,5)	69 (61,1)	9 (36,0)	
Sigara öyküsü				
Hiç içmeyen	13 (9,4)	13 (11,5)	0 (0,0)	
Halen içen	85 (61,6)	70 (61,9)	15 (60,0)	0,13
Bırakmış	40 (29,0)	30 (26,5)	10 (40,0)	
İlaç				
Etoposid İçeren ^a	87 (63,0)	68 (60,2)	19 (76,0)	0,14
Etoposid İçermeyen ^b	51 (37,0)	45 (39,8)	6 (24,0)	
Yanıt				
Yanıt Veren	42 (30,4)	36 (31,9)	6 (24,0)	0,44
Yanıt Vermeyen	96 (69,4)	77 (68,1)	19 (76,0)	

* Ki- kare testi kullanılmıştır

^a. Sisplatin ve etoposid

^b. Sisplatin - Gemsitabin, Sisplatin - Dosetaksiel, Sisplatin - Öinorelbin, Karboplatin - Paklitaksiel, Sisplatin - Paklitaksiel.

Çizelge 3.4. Hasta Özelliklerinin CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerine Göre Dağılımı

Hasta Sayısı ve Yüzdeleri				
Hasta Özellikleri	Hastalar	Asn/Asn	Asn/Ser + Ser/Ser	p değeri*
Toplam	138	96 (69,6)	42 (30,4)	
Yaş				
≤50	40 (29,0)	27 (28,1)	13 (31,0)	
51-60	48 (34,8)	36 (37,5)	12 (28,6)	0,59
≥61	50 (36,2)	33 (34,4)	17 (40,5)	
Cinsiyet				
Erkek	126 (91,3)	86 (89,6)	40 (95,2)	0,28
Kadın	12 (8,7)	10 (10,4)	2 (4,8)	
Histoloji				
Epidermoid	49 (35,5)	33 (34,4)	16 (38,1)	
Adenokarsinoma	48 (34,8)	37 (38,5)	11 (26,2)	0,35
Sınıflanmamış	41 (29,7)	26 (27,1)	15 (35,7)	
Evre				
Evre 3	60 (43,5)	40 (41,7)	20 (47,6)	0,52
Evre 4	78 (56,5)	56 (58,3)	22 (52,4)	
Sigara öyküsü				
Hiç içmeyen	13 (9,4)	9 (9,4)	4 (9,5)	
Halen içen	85 (61,6)	60 (62,5)	25 (59,5)	0,94
Bırakmış	40 (29,0)	27 (28,1)	13 (31,0)	
İlaç				
Etoposid İçeren ^a	87 (63,0)	55 (57,3)	32 (76,2)	0,03
Etoposid İçermeyen ^b	51 (37,0)	41 (42,7)	10 (23,8)	
Yanıt				
Yanıt Veren	42 (30,4)	28 (29,2)	14 (33,3)	0,63
Yanıt Vermeyen	96 (69,4)	68 (70,8)	28 (66,7)	

* Ki- kare testi kullanılmıştır

^a. Sisplatin ve etoposid

^b. Sisplatin - Gemsitabin, Sisplatin - Dosetaksel, Sisplatin - Öinorelbin, Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.

3.5. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerinin Kemoterapiye Karşı Verilen Yanıtlara Etkisi

Çizelge 3.5.'de CYP1A1 İle/İle ve CYP1A1 İle/Val + Val/Val, CYP1B1 Asn/Asn, CYP1B1 Asn/Ser + Ser/Ser genotiplerini taşıyan hastaların sağ kalım süreleri görülmektedir. İstatiksel değerlendirme sonucunda hastaların bu genotipler ile sağ kalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. ($p>0.05$). Fakat CYP1B1 mutasyonları sağ kalım süresini düşürmektedir.

Çizelge 3.5. CYP1A1 ve CYP1B1 genotip yanıtlarının sağ kalım süresine etkisi

Kemoterapiye Yanıt	Genotip	Sağ kalım (ay) (ortalama \pm SS)	p değeri*
Yanıt veren	CYP1A1 İle/İle	17 \pm 2	0.72
	CYP1A1 İle/Val+Val/Val	16 \pm 7	
Yanıt vermeyen	CYP1A1 İle/İle	18 \pm 3	0.52
	CYP1A1 İle/Val+Val/Val	16 \pm 1	
Yanıt veren	CYP1B1 Asn/Asn	18 \pm 3	0.61
	CYP1B1 Asn/Ser + Ser/Ser	13 \pm 1	
Yanıt vermeyen	CYP1B1 Asn/Asn	18 \pm 3	0.11
	CYP1B1 Asn/Ser + Ser/Ser	14 \pm 2	

* Kaplan-Meier - log rank ile hesaplanmıştır.

Çizelge 3.6.'da CYP1A1 İle/İle, İle/Val, Val/Val ve CYP1B1 Asn/Asn, Asn/Ser, Ser/Ser genotiplerini taşıyan hastaların kemoterapiye karşı verdikleri yanıtlar incelenmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda hastaların kemoterapiye karşı verdikleri yanıtların CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser genotipleri ile ilişkili olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). İlâveten benzeri ilişki her iki genin varyant allelini taşıyan hastalarda da kemoterapiye karşı verdikleri yanıtlar üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 3.6. CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin yanıtlara göre dağılımı

Genotip	Hasta Sayısı ve Yüzdeleri (%)		p değeri
	Yanıt Veren	Yanıt Vermeyen	
CYP1A1			
İle/İle	36 (31,9)	77 (68,1)	0,44
İle/Val, Val/Val	6 (24,0)	19 (76,0)	
CYP1B1			
Asn/Asn	28 (29,2)	68 (70,8)	0,63
Asn/Ser, Ser/Ser	14 (33,4)	28 (66,7)	
CYP1A1 + CYP1B1			
İle/İle + Asn/Asn	26 (33,8)	51 (66,2)	0,11
İle/Val, Val/Val + Asn/Ser, Ser/Ser	4 (66,7)	2 (33,3)	

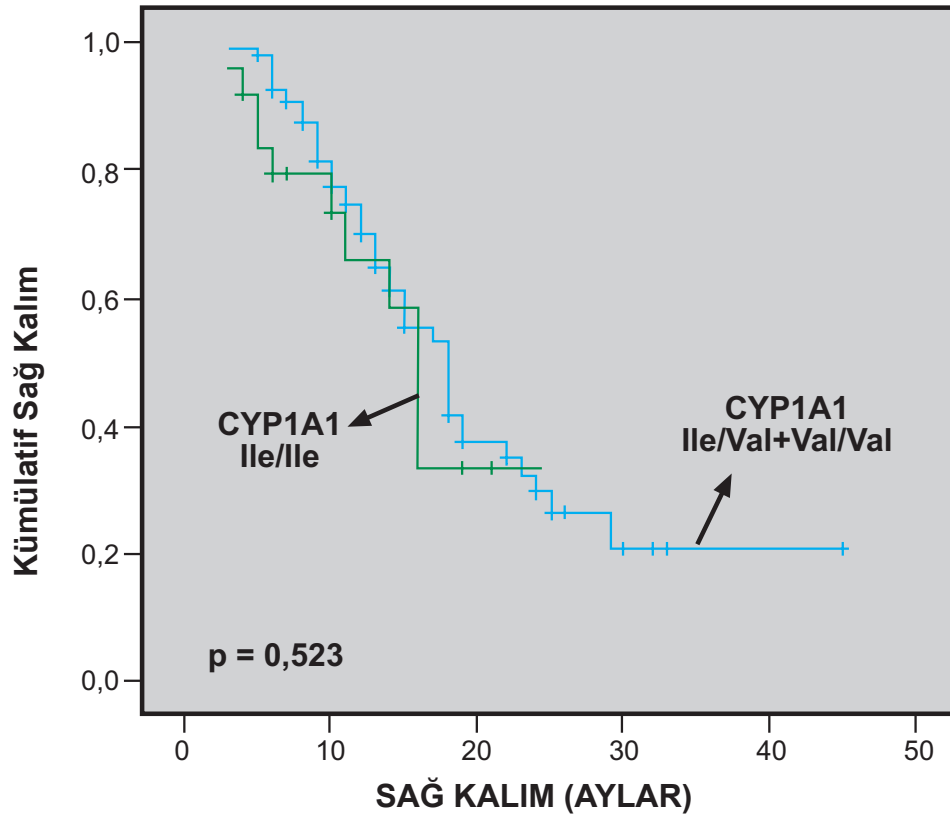
3.6. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerinin, Yanıt Verme Durumunun ve İlaç Rejiminin Hastaların Sağ Kalım Sürelerine Etkisi

Çalışmada yer alan 138 hastanın sağ kalım süreleri, hastalara KHDAK tanısı konulan tarihten itibaren hesaplanmıştır. Takip süresi boyunca 138 KHDAK'li hastanın 59'u ölmüştür. CYP1A1 İle462Val, CYP1B1 Asn453Ser ve CYP1A1 + CYP1B1 genotiplerine göre sağ kalımlar Kaplan-Meier testi ile hesaplanmıştır ve genotiplerin sağ kalım sürelerine etkisi Şekil 3.3. ve 3.4.'de gösterilmiştir. Bu değerlendirmenin sonucuna göre CYP1A1 varyant (İle/Val + Val/Val) genotipin sağ kalım süresi üzerinde anlamlı etkisi olmadığı saptanmıştır (log-rank p=0.523).

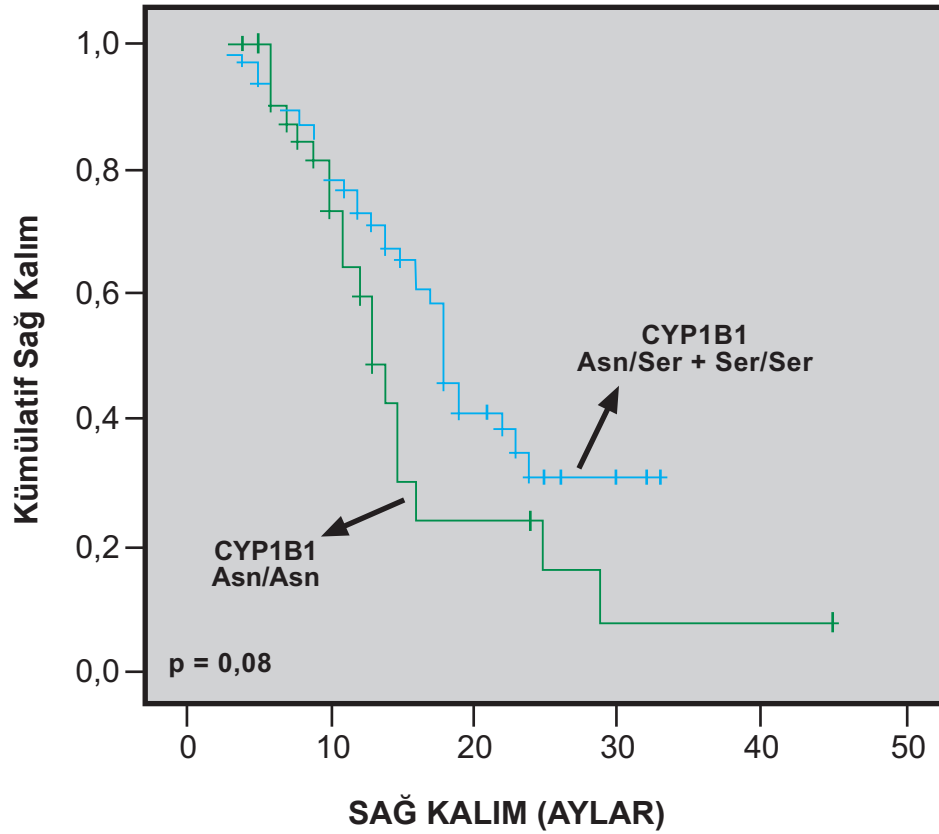
CYP1A1 yabanıl (İle/İle) genotipe sahip hastalar için ortalama sağ kalım süresi 18 ay, varyant (İle/Val + Val/Val) genotipe sahip hastalar için ise 16 aydır.

Fakat CYP1B1 Asn453Ser, varyant genotipinin sağ kalım süresini anlamlılığa oldukça yakın verdiği saptanmıştır. (p=0,08) Bu varyant genotip sağ kalım süresini önemli sayılacak düzeyde azalttığı saptanmıştır. (18 aydan 13 aya, %28). Ayrıca CYP1A1 ve CYP1B1 genlerinin varyant alellerini birlikte içeren

hastalarında sağ kalım süreleri önemli ölçüde kısalmış olduğu gözlenmiştir (18 aydan 11 aya %39). Ancak büyük olasılıkla bu genotipteki hasta sayısını az olmasına bağlı olarak (n= 6) istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır.



Şekil 3.3. KHDAK'li hastalarda CYP1A1 Ile/Ile ve Ile/Val + Val/Val genotiplerinin sağ kalım üzerine etkisi



Şekil 3.4. KHDAK'li hastalarda CYP1B1 Asn/Asn ve Asn/Ser + Ser/Ser genotiplerinin sağ kalım üzerine etkisi

Kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlarla sağ kalım süresi arasındaki ilişkiye yine Kaplan-Meier fonksiyonu ile bakılmıştır. Tedaviye karşı yanıt veren grup ve yanıt vermeyen grup arasında sağ kalım süreleri arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı bulunmuştur. ($p > 0,05$) Ayrıca genotiplerin aldıkları farklı ilaç rejimlerinin sağ kalım süresine bir etkisinin olmadığı da bulunmuştur (log-rank, $p > 0,05$).

3.7. Genotip ve Diğer Faktörlerin Sağ Kalım Üzerine Etkisinin Hazard Oranı (HR) İle Değerlendirilmesi

Çizelge 3.7.'de CYP1A1 ve CYP1B1 genotipleri ile ölümlerin ilişkisi çoklu regresyon analizi ile düzeltilmiş hazard oranına göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme ve

yanıt durumları için düzeltme yapılarak hazard oranları (HR) hesaplanmıştır. CYP1A1 varyant (İle/Val + Val/Val) genotipine sahip hastaların yabancı (İle/İle) genotipe sahip olanlarla karşılaştırıldığında varyant genotipin sağ kalım üzerinde anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (1,46 HR: % 95 GA, 0,69 - 3,08). CYP1B1 varyant (Asn/Ser + Ser/Ser) genotipine sahip hastaların yabancı (Asn/Asn) genotipe sahip olanlarla karşılaştırıldığında ölüm riskinin ise anlamlılığa yakın ($p=0,08$) oranda arttığı saptanmıştır. (1,66 HR: %95 GA, 0,93 - 2,96). Ayrıca CYP1A1 ve CYP1B1 genotipleri birlikte bakıldığında da sağ kalım üzerine etkisinin olmadığı görülmektedir (2,16 HR: % 95 GA, 0,57 - 8,18). Fakat CYP1B1 mutasyonu sağkalım süresini oldukça azaltmaktadır. Sonucu anlamlılığa çok yakındır. ($p = 0,08$)

Her iki genin varyant alelini birlikte taşıyan hastalarda da (hasta sayısının azlığından dolayı) istatistiksel olarak bir anlamlılık ortaya çıkmamıştır.

Çizelge 3.7. CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin sağ kalımla ilişkisi

Genotip	Yaşam Durumları		HR* (%95 GA)	p değeri
	Ölen	Sağ Kalan		
CYP1A1				
İle/İle	48	65	Referans	0,32
İle/Val, Val/Val	11	14	1,46 (0,69-3,07)	
CYP1B1				
Asn/Asn	39	57	Referans	0,08
Asn/Ser, Ser/Ser	20	22	1,66 (0,93-2,96)	
CYP1A1 + CYP1B1				
İle/İle + Asn/Asn	31	46	Referans	0,26
İle/Val, Val/Val + Asn/Ser, Ser/Ser	3	3	2,16 (0,57-8,18)	

* HR: Hazard oranı, % 95 GA:
Hazard oranı, %95 Güven Aralığı, yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve genotipe göre düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox proportional hazard modeli ile hesaplanmıştır.

Çizelge 3.8.'de kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlar, hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve genotipleri için düzeltme yapılarak hazard oranı 1,50 HR: 0,85 - 2,68 (HR, %95 GA) olarak saptanmış ve bu da yanıt ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir.

Çizelge 3.8. CYP1A1 genotiplerinin yanıtların sağ kalımla ilişkisi

Yanıt	Ölü	Sağ	HR (95% GA)*
Yanıt vermeyen	37	59	Referans
Yanıt veren	22	20	1.50 (0.85-2.68)

* HR: hazard oranı, 95% GA:

(a) Hazard oranı, %95 Güven Aralığı, yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve genotipe göre düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox proportional hazard modeli ile hesaplanmıştır.

Benzer çalışma CYP1B1 içinde yapıldı. Bu genotipinin yanıtlarının sağ kalımla ilişkisi anlamlılık görülmedi. (HR: 1,44 %95 GA, 0,81 - 2,56) (p=0,211)

3.8. Kullanılan Kemoterapik İlaçlara Göre CYP1A1 ve CYP1B1 Genotiplerinin Sağ Kalımla İlişkisi

Çalışmada yer alan KHDAK 138 hastadan 87'si platin ve etoposid 57'si ise platin ve etoposid harici (sisplatin ve gemsitabin, sisplatin ve dosetaksel, sisplatin ve vinorelsoin, sisplatin ve poklitaksel) ilaçlarla tedavi almıştır. Çizelge 3.9'da polimorfizmlerin (gerek tek başlarına veya birlikte) sağ kalım üzerine etkilerinin farklı ilaç kombinasyonları ile tedavi edilen hastalarda değişmediği belirlenmiştir.

Çizelge 3.9. Kullanılan Kemoterapik İlaçlara Göre CYP1A1 ve CYP1B1 Genotiplerinin Sağ Kalımla İlişkisi

Genotipleri	Yaşam Durumları		HR* (%95 GA)	p değeri
	Ölen	Sağ Kalan		
Platin ve Etoposid alan hastalar ^a (n=87)				
CYP1A1			Referans	0,42
İle/İle	24	44		
İle/Val, Val/Val	8	11	1,53 (0,54-4,36)	
CYP1B1			Referans	0,21
Asn/Asn	18	37		
Asn/Ser, Ser/Ser	14	18	1,66 (0,75-3,69)	
CYP1A1 + CYP1B1			Referans	0,49
İle/İle + Asn/Asn	12	29		
İle/Val, Val/Val + Asn/Ser, Ser/Ser	2	3	1,90 (0,29-12,11)	
Platin ve diğer kemoterapik ilaç alan hastalar ^b (n=51)				
CYP1A1			Referans	0,67
İle/İle	24	21		
İle/Val, Val/Val	3	3	1,34 (0,34-5,26)	
CYP1B1			Referans	0,28
Asn/Asn	21	20		
Asn/Ser, Ser/Ser	6	4	1,84 (0,60-5,65)	
CYP1A1 + CYP1B1			Referans	0,22
İle/İle + Asn/Asn	19	17		
İle/Val, Val/Val + Asn/Ser, Ser/Ser	1	0	5,30 (0,36-78,89)	

* HR: hazard oranı, 95% GA: % 95 güven aralığı.

^a Sisplatin ve etoposid

^b Sisplatin - Gemcitabin, Sisplatin - Dosetaksel, Sisplatin - Öinorelbin, Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada günümüzde geçerli standard bir tedavi yöntemi içinde yer alan platin bazlı ilaçlarla tedavi gören küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıtın düşük olduğu gerçeğinden hareketle CYP1A1 İle462Val geni ile CYP1B1 Asn453Ser geni varyant alellerinin artan aktivitelerine bağlı olarak çoğalan karsinojenik metabolitlerin daha agresif ve kemoterapiye dirençli tümörlerin oluşmasına neden olarak hastaların kemoterapiye yanıtları ile sağ kalım sürelerine etkiyip etkimediklerini araştırmayı hedefledik. CYP1B1 Asn453Ser varyant genotipinin sağ kalım süresini, anlamlılığa oldukça yakın ($p=0.08$), önemli sayılacak oranda azaltarak ölüm riskini arttırdığını gösterdik. CYP1A1 İle462Val polimorfizminin bu yönde etkisi görülmedi. Bu polimorfizmlerle kemoterapiye yanıt arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

CYP1A1 polimorfizmleri ile KHDAK hastalarda sağ kalım süresi arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır (Goto ve ark., 1996; Pryzgodzki ve ark.'ları, 1998). Goto ve ark.'ları (1996) Msp1 mutasyonunun 3 yıllık takip sonrasında ileri evre (III ve IV) hastaların sağ kalım sürelerini anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir (ortanca yaklaşık 24 aya karşı 10 ay, HR=1,98: %95 G.A. 1,24- 3,17. $p=0.005$). Bu araştırmacılar başka bir çalışmada bu varyant allele sahip hastaların p53 gen mutasyonunun 4,5 kat daha yüksek olduğunu saptamışlardır (Kawajiri ve ark.'ları, 1996). Benzeri bulgu Pryzgodzki ve ark.'ları (1998) tarafından da bildirilmiştir. Bilindiği gibi özellikle sigara içimine bağlı olarak gelişen p53 gen mutasyonu genin inaktivasyonu ile gelişen hücre döngüsü regülasyonunun bozulmasına bağlı olarak sağ kalım süresinin azalmasına neden olabilmektedir (Eposito ve ark.'ları, 1997). Dolayısıyla sigara dumanındaki karsinojenlerin daha fazla aktivasyonuna neden olan bu CYP1A1 gen mutasyonu ile p53 gen mutasyonu arasında doğrudan bir ilişki bulunduğu bildirilmektedir (Goto ve ark., 1996; Pryzgodzki ve ark.'ları, 1998). Akciğer kanser riskinde bu polimorfizmler arasında ilişkiler de gösterilmiştir (Okada ve ark.'ları, 1994; Goto ve ark., 1996). Benzer ilişki bu CYP mutasyonu ile K-ras mutasyonlarında da görülmüştür (Kawajiri ve ark.'ları, 1996).

Akciğer kanseri ile ilişkilendirilen diğer CYP1A1 gen polimorfizmi CYP1A1 İle462Val polimorfizmidir. Bu CYP1A1 İle462Val gen polimorfizminin KHDAK hastalarda sağ kalım süresi üzerinde yapılan çalışmada farklı sonuca ulaşılmıştır. Przygodzki ve ark.'ları (1998) hastalısız yaklaşık 5 yıllık yaşam sürelerinin CYP1A1 İle462Val polimorfizminden etkilenmediğini saptamışlardır. Bu araştırma grubunda çalışılan hastaların ancak 1/3'ü ileri evre KHDAK hastalarından oluşmaktaydı. Goto ve ark.ları (1994) da ilk iki evre grubu hastalarda sağ kalım da bir değişiklik saptayamamışlardı. Bizim çalışmamızda ileri evreli hastalar yaklaşık 4 yıllık bir takip sonucunda değerlendirilmişlerdir. Bizim sonuçlarımız da Przygodzki ve ark.'larının (1998) sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Bu sonuçlar CYP1A1 İle462Val polimorfizminin KHDAK hastalarda sağ kalıma etki etmediğini ve bunun da hastalığın evresiyle değişmediğini göstermektedir.

PAH'ların aktivasyonunda CY1A1'den daha etkili olan ve ayrıca PAH gibi dış kaynaklı kimyasallara gereksinim olmadan ekspresyonu aril hidrokarbon reseptörü (AhR) dışında farklı mekanizmalarla artarak serbest oksijen radikalleri üretebilen CYP1 alt ailesinin diğer formu CYP1B1'dir. CYP1B1'in önemli fonksiyonel polimorfizmlerinin de CY1A1 polimorfizmlerinde görüldüğü gibi varyant alelleri enzim aktivitelerini arttırabilmektedir.(Shimada ve ark.'ları, 1999; Akllillu ve ark.'ları, 2002; Chang ve ark.'ları, 2007). Bunun sonucunda daha fazla karsinogenik metabolit oluşmaktadır. Nitekim bu çalışmada da CYP1B1 polimorfizminin sağ kalım üzerine etkisi daha açık görülmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada CYP1B1 Asn453Ser polimorfizminin varyant alelinin ileri evredeki KHDAK hastalarında ölüm riskini, CYP1A1 İle462Val polimorfizminin varyant aleline kıyasla, önemli oranda (sağ kalım ortanca 18 aydan 13 aya inmekte) arttırmış olması yukarıda sözü edilen nedene bağlanabilir. Bu sonuç bu varyant allelin ölüm riskini arttırıcı yönde bir gösterge olarak dikkate alınarak bu genotipteki hastalara daha agresif tedavi uygulaması yapılmasının gerektiği izlenimini vermektedir.

Bu çalışma ile ilk kez her iki CYP polimorfizmi ile kemoterapiye yanıt arasında bir ilişki olmadığı ileri evre KHDAK hastalarında gösterilmektedir. Ayrıca gerek platin ve etoposid gerekse platin ve diğer kemoterapitikleri alan hastalarda da genotip ile kemoterapiye yanıt arasında bir ilişki görülmemiştir. CYP1B1 Asn453Ser polimorfizminin sağ kalım üzerine önemli ölçüde olumsuz etkisi gözönüne alındığında böyle bir ilişkiye yatkınlık beklenebilirdi. Ancak farklı kanserlerde bazı gen polimorfizmleri ile sağ kalım arasında görülen ilişki hasta genotipi ile kemoterapiye karşı alınan yanıt arasında da görülmemektedir. Örneğin KHDAK hastalarda GSTP1 exon 6 polimorfizminde sağ kalım ile gen polimorfizmleri arasında pozitif ilişki saptanmış olmasına karşın gen polimorfizmi ile genel ve farklı kemoterapi rejimine karşı alınan yanıtlar arasında ilişki gözlenmemiştir (Hançer F, 2006). Benzeri durum yumurtalık kanserinde de bildirilmektedir (Beeghly ve ark.'ları, 2006). Bu sonuçlar CYP1A1 Ile462Val ve CYP1B1 Asn453Ser polimorfizmlerinin uygulanan bu platin bazlı kemoterapi rejimlerine karşı alınan yanıtın öngörülmesinde gösterge olarak kullanılamayacağını ortaya koymaktadır.

Son yıllardaki çalışmalar birden fazla gen polimorfizmlerinin analizinin tek gen polimorfizm çalışmalarına oranla klinik sonuçlarla daha iyi ilişkilendirilebileceğini göstermektedir. Bunun nedenleri arasında örtüşen substrat seçiciliği göstermeleri ve substratlara karşı aktivitelerinin artması veya azalması olarak gösterilmektedir. Nitekim bu çalışmada ele alınan CYP'lerin her ikisi de PAH'ların aktivasyonunda görev almakta ve reaktif ara ürünlerin artmasına neden olmaktadır. Mutasyonları ise aktivitelerini arttırabilmektedir. Dolayısıyla her iki CYP'in varyant alellerini taşıyan hastaların yabancı tip aleli taşıyanlara oranla daha duyarlı olacakları ve bunun da yanıt ve sağ kalıma olumsuz etkiyeceği düşünülebilir. Nitekim bazı çalışmalar birden fazla genin varyant alellerinin yumurtalık ve beyin kanseri hastalarının sağ kalımlarını değiştirdiğini göstermiştir (Okcu ve ark.ları, 2004; Beeghly ve ark.'ları, 2006). Bu çalışmada kemoterapiye yanıtta böyle bir ilişkiye rastlanmamıştır. Ancak sağ kalımla olan veriler biraz daha farklıdır. Her iki varyant aleli taşıyan hastalarda sağ kalım anlamlı olmasa da önemli ölçüde (18 aya karşın 11 ay) azalmıştır.

İstatistiksel olarak anlamlılığın görülmemesi bu grup hasta sayısının oldukça düşük olmasına bağlanabilir. Bu sonuç ile uyumluluk, anlamlı olmasa da, artan ölüm riski oranında (HR: 2,66) da görülmektedir. Daha yüksek hasta sayısı ile yapılacak çalışmalar bu konuya açıklık getirebilir.

Bu polimorfizlerin (tek başlarına veya birlikte) sağ kalıma etkilerinin farklı ilaç kombinasyonları ile tedavi edilen hastalarda değişmemesi bu ilaç rejimlerinin genotipe bağlı etkisinin olmadığını göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen en önemli bulgu CYP1B1 Asn453Ser polimorfizminin ileri evre KHDAK hastalarında kemoterapiye karşı alınan yanıtta bağımsız olarak ölüm riskini önemli ölçüde artırma eğiliminde olduğunun gösterilmesi olarak belirmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma ileri evreli (III ve IV) küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda

a- CYP1A1 Ile462Val ve/veya CYP1B1 Asn453Ser polimorfizmlerinin platinyum bazlı kemoterapiye yanıtı değiştirmediğini,

b- Genotiplerin kemoterapiye karşı verdikleri yanıtın yaş, cinsiyet, sigara içme durumları, uygulanan farklı ilaç rejimi, hastalığın evresi ve tümör histolojisi ile etkilenmediğini,

c- CYP1A1 Ile462Val polimorfizminin sağ kalım üzerine etkisinin olmadiğını; CYP1B1 Asn453Ser varyant alelinin ise ölüm riskini önemli ölçüde arttırdiğını,

d- Her iki genin varyant alelininin birliktede ölüm riskini arttırma eğiliminde olduğunu,

e- Kemoterapiye yanıtla sağ kalım arasında bir ilişkinin bulunmadiğını,

f- Polimorfizmlerin (gerek tek başlarına veya birlikte) sağ kalım üzerine etkilerinin farklı ilaç kombinasyonları ile tedavi edilen hastalarda değişmediğini ortaya koymaktadır.

Öneriler:

Hasta sayısını arttırılması özellikle CYP1B1 mutant geni içerenler ve her iki CYP'in mutant genini içeren hastaların artmasını sağlayabileceğinden genotip, kemoterapiye yanıt ve sağ kalım arasındaki ilişkinin daha sağlıklı ortaya konması açısından yararlı olabilir. İlaveten CYP1A1 ile CYP1B1 genlerinin diğer önemli polimorfizmlerinin bu hastalarda irdelenmesi artan PAH ve reaktif oksijen türleri ile oluşabilecek daha agresif tümörlerin kemoterapiye yanıt ve sağ kalım üzerine olumsuz etkilerinin olup olmadıklarının ortaya konması açısından da yararlı olacaktır. Ayrıca p53 gen mutasyonunun da bu hastalarda çalışılması aradaki ilişkilerin ortaya konması açısından son derece önemlidir.

ÖZET

AKCİĞER KANSERİNDE METABOLİK (CYP1) POLİMORFİZMİNİN İLAÇ REZİSTANSINDAKİ ROLÜ

Akciğer kanseri özellikle erkeklerde ve dünya çapında artış gösteren bir sağlık problemidir. Akciğer kanserinden ölümler, toplam kanser ölümlerinin %28 ini oluşturur. Akciğer kanserinin histolojik olarak küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki çeşidi vardır. Akciğer kanserlerinin %80i KHDAK dır ve bu hastalarda kemoterapiye yanıt oldukça düşüktür (%30-50). Dolayısıyla bu hastalarda tedavinin başarısız olmasının altında yatan nedenlerin araştırılması çok önemlidir. Akciğer kanseri hücrelerinin özellikle platin bileşiklerine direnç göstermesinin ardında çeşitli nedenler bulunmaktadır. Örneğin son yıllarda sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH) mutajenik ve karsinojenik metabolitlerine dönüştüren CYP1A1 enzimini kodlayan gen polimorfizmleri ile akciğer kanseri arasında ilişki rapor edilmiştir. İlaveten CYP1A1 genindeki mutasyonların KHDAK hastalarında p53 genini inaktive ederek agresif tümörlerin oluşması sonucu hayatta kalma sürelerinin kısalması ve kemoterapiye duyarlılığın değişmesine neden olduğu da bildirilmiştir. Ancak bu konu ile ilgili sadece iki çalışma yapılmış ve çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır. Ayrıca bu çalışmalar kemoterapiye yanıt ile ilgili bir bilgi sunmamaktadır. CYP ailesinin diğer bir üyesi olan ve PAHları CYP1A1 den daha etkin şekilde aktive eden CYP1B1 polimorfizmi konusunda elde edilmiş bir veri de yoktur. Dolayısıyla bu çalışmada platinyum bazlı tedavi gören 138 (126 erkek, 12 kadın) KHDAK hastaların CYP1A1 (İle462Val) ve CYP1B1 (Asn453Ser) gen polimorfizmlerinin, tedaviye yanıt ve sağ kalım süreleri üzerine etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Genetik polimorfizm analizleri lenfositlerden elde edilen DNA kullanılarak PCR/RFLP metodu ile gerçekleştirilmiştir. CYP1A1 (İle462Val) ve CYP1B1 (Asn453Ser) polimorfizmleri, platin bazlı kemoterapiye yanıtları anlamlı olarak etkilememiştir. Genotiplerin kemoterapiye verdikleri

yanıtlarla yaş, cinsiyet, sigara içimi, kemoterapi tedavi rejimi, tümör evresi ve histolojisi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. CYP1A1 genotiplerine sahip hastalarda sağ kalım süresi açısından bir anlamlılık saptanmamıştır. (yabanıl tip (İle/İle) genotipe sahip bireylerin sağ kalım süresi 18 ay, varyant (İle/Val, Val/Val) genotipe sahip bireylerin sağ kalım süresi 16 aydır; $p=0,523$). Ancak anlamlı olmamakla birlikte CYP1B1 geninin mutant alelini taşıyan hastaların yabanıl tip genotipe sahip hastalara göre dikkate değer şekilde daha kısa süre hayatta kaldıkları belirlenmiştir (yabanıl tip (Asn/Asn) genotipe sahip bireylerin hayatta kalma süresi 18 ay, varyant (Asn/Ser, Ser/Ser) genotipe sahip bireylerin hayatta kalma süresi 13 aydır; $p=0,08$). Yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojisi için düzeltilmiş çoklu regresyon analizi sonucunda CYP1A1 genotipleri ile ölümlerin hazard oranları (HR) arasında anlamlılık bulunmamıştır (HR, 1,46; %95GA, 0,69-3,08, $p=0,318$). Ancak CYP1B1 mutant alelini taşıyan hastaların ölüm riski %66 oranında ve anlamlılık sınırına çok yakın olarak artmıştır (HR, 1,66; %95GA, 0,93-2,96, $p=0,08$). Alt grup analizleri, farklı kemoterapötiklerle tedavi edilen hastalarda CYP1A1 ve CYP1B1 polimorfizmlerinin sağ kalıma etkilerinin değişmediğini göstermiştir. Bu sonuçlar, ileri evre KHDAK hastalarında CYP1B1 (Asn453Ser) polimorfizminin kemoterapiye yanıtta bağımsız olarak sağ kalım süresini kötüleştirdiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: CYP1A1 (İle462Val) polimorfizmi, CYP1B1 (Asn453Ser) polimorfizmi, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, platin bazlı kemoterapiye yanıt, sağkalım

SUMMARY

The role of metabolic polymorphism (CYP1A1 Ile462Val and CYP1B1 Asn453Ser) in drug resistance in lung

Lung cancer is an increasing worldwide public health problem particularly in men. The 28 % of deaths arising from cancers are caused by lung cancer. Lung cancer has two histological types namely small cell lung carcinoma (SCLC) and non small cell lung carcinoma (NSCLC). Approximately 80% of lung carcinomas are NSCLC and response to chemotherapy is rather poor, only 30–50%, in these patients. Thus, the investigation of the reasons behind this failure of chemotherapy in these patients is very important. There are various factors playing role in the resistance of lung cancer cells especially to platinum compounds. For example, in recent years, the association between gene polymorphisms of CYP1A1 which bioactivities polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to mutagenic and carcinogenic metabolites in cigarette smoke and lung cancer has been reported. In addition, the mutations in CYP1A1 gene have been suggested to be responsible for decreasing of the survival rates of patients with NSCLC by forming aggressive tumors by P53 inactivation and thereby altering sensitivity to chemotherapy. However, only two studies exist in this regard and their results are contradictory. Moreover, these studies did not provide data with respect to their relation to response to therapy. Furthermore, although another CYP1 subfamily CYP1B1 activates PAHs more efficiently than CYP1A1, no data exist for the role of this gene polymorphism in this regard. In this study, the association between CYP1A1 (Ile462Val) and CYP1B1 (Asn453Ser) polymorphisms, and response to platinum based chemotherapy and survival in 138 (126 men and 12 women) NSCLC patients who are treated with platinum based drugs have been investigated. Genetic polymorphism analyses were determined by using the PCR/RFLP method by using lymphocyte DNA. The polymorphisms of CYP1A1 (Ile462Val) and CYP1B1 (Asn453Ser) did not significantly influence the responses to platinum based chemotherapy. No significant associations were noted between the

responses of genotypes to chemotherapy and age, sex, smoking status, chemotherapy treatment status, tumor stage and histology. Significant survival was not observed in patients with CYP1A1 genotypes (median survival of 18 months for wild type (Ile/Ile) genotype and 16 months for variant (Ile/Val or Val/Val) genotype; $p=0.523$). However, although not significant the mutant carriers of CYP1B1 gene survived remarkably shorter than the wild type carriers of the gene (median survival of 18 months for wild type (Asn/Asn) genotype and 13 months for variant (Asn/Ser or Ser/Ser) genotype; $p=0.08$). Multivariate analysis, (after adjustment for age, gender, tumor histology, disease stage, smoking status and response to chemotherapy) also revealed no significant hazard ratio (HR) of death associated with CYP1A1 genotypes (HR, 1.46; 95 % CI, 0.69-3.08, $p=0.318$). However, the death risk of mutant carriers of CYP1B1 gene increased 66 % with marginal significance (HR, 1.66; 95 % CI, 0.93-2.96, $p=0.08$). Subgroup analysis showed that the effects of CYP1A1 and CYP1B1 polymorphisms on survival were not different among the patients treated with distinct chemotherapeutics. These results show that the CYP1B1 (Asn453Ser) polymorphism is likely to pose a death risk in the clinical outcome (a worsening - or worsen the -survival outcome) independent of response to chemotherapy.in the patients with advanced NSCLC

Key Words: CYP1A1 (Ile462Val) polymorphism, CYP1B1 (Asn453Ser) polymorphism, non small cell lung carcinoma, response to platinum based chemotherapy, survival

KAYNAKLAR

- Bai F, Nakanishi Y, Kawasaki M, Takayama K, Yatsunami J, Pei Xh, Tsuruta N, Wakamatsu K, Hara N (1996) Immunohistochemical expression of glutathione S-transferase – Pi can predict chemotherapy response in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* **78**: 416-421.
- Bailey LR, Roodi N, Dupont WD, Parl FF (1998) Association of cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphism with steroid receptor status in breast cancer. *Cancer Res*, **568**: 5038-5041.
- Bartsch H, Castegnaro M, Rojas M, Camus AM, Alexandrov K, Lang M (1992) Expression of pulmonary cytochrome P4501A1 and carcinogen DNA adduct formation in high risk subjects for tobacco-related lung cancer. *Toxicol Lett*, **64-65**: 477-483.
- Bartsch H, Royas M, Alexandrov K, Camus AM, Castegnaro M, Malaveille C, Anttila S, Hirvonen K, Husgafvel-Pursiainen K, Heitanen E (1995) Metabolic polymorphism affecting DNA binding and excretion of carcinogens in humans., *Pharmacogenetics*, **5**:584-590.
- Clapper MI, Buller AI, Smith TM, Tew KD (1987) Glutathione S-transferase in alkylating agent resistant cells. In: *Glutathione S-transferases and carcinogenesis*, Eds Mantle TJ, Pickett CB, Hayes JD, Taylor and Francis, London, 213-224.
- Cascorbi I, Brockmoller J, Roots I (1996) A C4887A polymorphism in exon 7 of human
- CYP1A1: Population frequency, mutation linkages, and impact on lung cancer susceptibility. *Cancer Res*, **56**:4965-4969.
- Einolf HJ, Story WT, Marcus CB, Larsen MC, Jefcoate CR, Greenlee WF, Yagi H, Öerina DM, Amin S, Park SS, Gelboin H, Baird WH (1997) Role of cytochrome P450 enzyme induction in the metabolic activation of benzo(c) phenanthrene in human cell lines and mouse epidermis. *Chem Res Toxicol* **10**: 609-617.
- Eleni Aklillu, Mikael Oscarson, Mats Hildestrand, Brith Leidvik, Charlotta Otter, and Magnus Ingelman-Sundberg (2001) Functional Analysis of Six Different Polymorphic CYP1B1 Enzyme Variants Found in an Ethiopian Population. *Mol Pharmacol* **61**:586-594.

- Giovini GA (2002) Epidemiology of tobacco use in the United States. *Oncogene* **21**:7326-7340.
- Goto I, Yoneda S, Yamamoto M, Kawajiri K (1996) Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res* **56**: 3725-3730.
- Hançer F, (2006) Akciğer Kanserinde GSTP1 Gen Poliformizminin İlaç Rezistansındaki Rolü, Ankara Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K (1991) Genetic linkage of lung cancer-associated Msp 1 polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P4501A1 gene. *J Biochem*, **110**: 407-411.
- Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V, Boffetta P, Hashibe M, Zaridze D, Mukeria A, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Bencko V, Foretova L, Janout V, Chen C, Goodman G, Field JK, Liloglou T, Xinarianos G, Cassidy A, McLaughlin J, Liu G, Narod S, Krokan HE, Skorpén F, Elvestad MB, Hveem K, Vatten L, Linseisen J, Clavel-Chapelon F, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Lund E, Martínez C, Bingham S, Rasmuson T, Hainaut P, Riboli E, Ahrens W, Benhamou S, Lagiou P, Trichopoulos D, Holcátová I, Merletti F, Kjaerheim K, Agudo A, Macfarlane G, Talamini R, Simonato L, Lowry R, Conway DI, Znaor A, Healy C, Zelenika D, Boland A, Delepine M, Foglio M, Lechner D, Matsuda F, Blanche H, Gut I, Heath S, Lathrop M, Brennan P. *Nature*. 2008; **452(7187)**: 633-7. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25.
- Jinghua Tsai Chang, Han Chang, Po-Hung Chen, Shong-Ling Lin, and Pinpin Lin (2007), Requirement of Aryl Hydrocarbon Receptor Overexpression for CYP1B1 Up-Regulation and Cell Growth in Human Lung Adenocarcinomas, *Clin Cancer Res* **13**.
- Kayaalp, S.Oğuz. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (2000) 9. Baskı, Antineoplastikler.
- Kawajiri, K., Eguchi, H., Nakachi, K., Sekiya, T., and Yamamoto, (1996) Association of CYP1A1 germ line polymorphisms with mutations of the p53 gene in lung cancer. *Cancer Res.*, **56**: 72-76.
- Kellermann G, Shaw CR, Luyten-Kellermann M (1973) Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *N Engl J Med* **289**: 937-937.
- Kim JH, Stansbury KH, Walker NJ, Tursh MA, Strickland PT, Sutter TR (1998) Metabolism of benzo(a)pyrene and benzo(a)pyrene-7,8-diol by human cytochrome P450 1B1. *Carcinogenesis* **19**:1847-1853.

- Nelson DR, Kotymans L, Kamataki T (1996) P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* **6**: 1-42.
- Oguri T, Fujiwara Y, Katoh O, Daga H, Ishikawa N, Fujitaka K, Yamasaki M, Yokozaki M, Isobe T, Ishioka A1, Yamakido M (2000) Glutathione S-transferase- Pi gene expression and platinum drug exposure in human lung cancer. *Cancer Lett* **156**: 93-99.
- Okcu MF, Selvan M, Wang LE, Stout L, Erana R, Airewele G, Adatto P, Hess K, Ali-Osman F, Groves M et al.: Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in primary malignant glioma. *Clin Cancer Res* 2004, **10**:2618-2625.
- Parkin D.M., Laara E., Muir C.S., Estimates of the worldwide requeryency of sixteen major cancers in 1980. *Int. J. Cancer*41, 184-197, 1988.
- PrzygodzkĀ RM, Bennett WP, Guinee DG JR, Khan MA, Freedman A, Shields PG, Travis WD, Jett JR, Tazelaar H, Pairolero P, Trastek V, Liotta LA, Harris CC, Caporaso NE (1998) p53 mutation spectrum in relation to GSTM1, CYP1A1 and CYP1E1 in surgically treated patients with non-small cell lung cancer. *Pharmacogenetics* **8**:503-511.
- Rannug A, Alexandrie AK, Persson I, Ingelman Sundberg M (1995) Genetic polymorphism of cytochromes P4501A1, 2D6 and 2E1. Regulation and toxicological significance. *J Occup Environ Med* **37**: 25-36.
- Rosell R, Felip E, Garcia-Campelo R, Balafia C (2004) The biology of non-small-cell lung cancer: identifying new targets for rational therapy. *Lung Cancer* **46**: 133-148.
- Schoket B, Papp G, Levay K, Mrackova G, Kadlubar FF, Vincze I (2001) Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat. Res* **482**:57-69.
- Shopland Dr, Eyre Hj, Pechacek TF. (1991). Smoking-attiributable cancer mortality in 1991: is lung cancer now the leading cause of death among smokers in the United States? *J Natl Cancer Inst* **83**: 1142-1148.
- Siemiatycki J, Krewski D, Franco E et al., (1995) Association between cigarette smoking and each of 21 types of cancer: a multi-site case-control study. *Int J Epidemiol* **24**: 504-514.
- Spivack SD, Fasco MJ, Walker VE, Kaminsky LS (1997) The molecular epidemiology of lung cancer. *Crit Rev Toxicol*, **27(4)**: 319-365.

- Stoilov I, Akarsu AN, Alozie I, Child A, Barsoum-Homsy M, Turaçlı ME, Or M, Lewis RA; Ozdemir N, Brice G, Aktan SG, Chevrette L, Coca-Prados M, Sarfarazi M (1998) Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *Am J Hum Genet* **62**: 573-584.
- Sweeney C, Nazar-Stewart V, Stapleton PL, Eaton DL, Vaughan TL (2003) Glutathione S-transferase M1, T1. P1 polymorphisms and survival among lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* **12**: 527-533.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri; 1999.
- Tsutomu Shimada, Junko Watanabe, Kaname Kawajiri, Thomas R. Suttur, F.Peter Guengerich, Elizabeth M.J. Gillam and Kiyoshi Inoue (1999) Catalytic properties of polymorphic human cytochrome P450 1B1 variants, 1607-1613.
- Wolf CR, Lewis AS, Carmichael J, Ansell J, Adams DJ, Hickson IJ, (1987) Glutathione S-transferase expression in normal and tumour cells resistant to cytotoxic drugs. In: *Glutathione S-transferases and carcinogenesis*, Eds Mantle TJ, Pickeet CB, Hayes JD, Taylor and Francis, London, 199-212.
- World Health Organization (1979) WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva; World Health Organization, 1999.
- Wu MF, Wu Wj, Chang GC, Chen CY, Hu SW, Tsai WT, Lee H, Lin P (2004) Increased expression of cytochrome P4501B1 in peripheral leukocytes from lung cancer patients. *Toxicol. Lett.* **150**: 211-219.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı	Serdar
Soyadı	Bilgen
Doğum yeri ve tarihi	İzmir / 1979
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu	Bekar
Askerlik durumu	Tamamlanmadı
İletişim adresi ve telefonu	Çınar Sok. 79/1 Yenimahalle / Ankara Tel: 0505 493 20 43

II- Eğitimi

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü 2004
Silifke Lisesi 1997

III- Verdiği Seminer

Akciğer Kanserinde CYP1 Gen Polimorfizminin İlaç Rezistansındaki Rolü,
Mayıs 2008.

IV- Sempozyum

Tehlikeli Atıklar: İnsan ve Çevre Sağlığı, Türk Toksikoloji Derneği, 2006.

V- Ünvanı

2004 Kimyager