

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
PEDIATRİK ONKOLOJİ BİLİM DALI

**TRALL BFM 2000 PROTOKOLÜ İLE TEDAVİ EDİLEN AKUT  
LENFOBLASTİK LÖSEMİ TANILI OLGULARDA  
METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GENİ C677T VE  
A1298C POLİMORFİZMLERİNİN TEDAVİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**PEDIATRİK ONKOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**YRD. DOÇ. DR. ZUHAL KESKİN YILDIRIM**

**TEZ DANIŞMANI**

**PROF. DR. MUSTAFA BÜYÜKAVCI**

**ERZURUM**

**AĞUSTOS 2012**

## İÇİNDEKİLER

|                                                 |      |
|-------------------------------------------------|------|
| İçindekiler                                     | i    |
| Onay                                            | iv   |
| Teşekkür                                        | v    |
| Türkçe Özet                                     | vi   |
| İngilizce Özet (Abstract)                       | vii  |
| Kısaltmalar                                     | viii |
| Şekiller dizini                                 | x    |
| Tablolar dizini                                 | xi   |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ                                | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER                               | 3    |
| 2.1. Akut lenfoblastik lösemi                   | 3    |
| 2.1.1. Tanımlama ve sınıflama                   | 3    |
| 2.1.2. Epidemiyoloji                            | 3    |
| 2.1.3. Etiyopatogenez                           | 4    |
| 2.1.3.1. Genetik faktörler                      | 4    |
| 2.1.3.2. Demografik ve çevresel risk faktörleri | 5    |
| 2.1.4. Sınıflandırma                            | 6    |
| 2.1.4.1. Morfolojik sınıflandırma               | 6    |
| 2.1.4.2. İmmünolojik sınıflama                  | 6    |
| 2.1.4.3. Sitogenetik ve moleküler özellikler    | 7    |
| 2.1.5. Klinik bulgular ve laboratuvar           | 8    |
| 2.1.6. Ayırıcı tanı                             | 9    |
| 2.1.7. Prognostik faktörler                     | 9    |

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.8. Tedavi ve ilaçlar                                                                            | 10 |
| 2.1.8.1. Akut lenfoblastik lösemide genel destek tedavisi                                           | 11 |
| 2.1.8.2. Tedavide kullanılan ilaçlar                                                                | 11 |
| 2.1.8.3. Remisyon indüksiyonu                                                                       | 13 |
| 2.1.8.4. İntensifikasyon/konsolidasyon                                                              | 13 |
| 2.1.8.5. Santral sinir sistemi tedavisi                                                             | 14 |
| 2.1.8.6. İdame tedavisi                                                                             | 14 |
| 2.1.8.7. Relaps                                                                                     | 14 |
| 2.1.8.8. Kök hücre nakli                                                                            | 14 |
| 2.1.9. Komplikasyonlar                                                                              | 15 |
| 2.1.9.1. Erken komplikasyonlar                                                                      | 15 |
| 2.1.9.2. Geç komplikasyonlar                                                                        | 15 |
| 2.2. Metilen tetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmleri                          | 15 |
| 2.2.1. Giriş                                                                                        | 15 |
| 2.2.2. Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin yapısı ve görevi                                   | 16 |
| 2.2.3. Metilentetrahidrofolat redüktaz geninin yapısı ve özellikleri                                | 17 |
| 2.2.4. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T polimorfizmi                                      | 18 |
| 2.2.5. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C polimorfizmi                                     | 19 |
| 2.2.6. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C ve C677T polimorfizmlerinin kombinasyonu         | 19 |
| 2.2.7. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C ve C677T polimorfizmleri ve ilişkili hastalıklar | 20 |
| 2.2.7.1. Serebrovasküler hastalıklar                                                                | 20 |
| 2.2.7.2. Venöz tromboz                                                                              | 20 |

|                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.7.3. Nöral tüp kusurları                                                                                                | 20 |
| 2.2.7.4. Diyabetes mellitus                                                                                                 | 21 |
| 2.2.7.5. Kanser                                                                                                             | 21 |
| 2.2.8. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C ve C677T polimorfizmleri<br>ve ilaç metabolizmaları arasındaki etkileşim | 22 |
| 2.2.8.1. Metotreksat                                                                                                        | 22 |
| 2.2.8.1.1. Farmakolojisi ve farmakokinetiği                                                                                 | 22 |
| 2.2.8.1.2. Metotreksat ve metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmleri<br>arasındaki ilişki                          | 22 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM                                                                                                          | 24 |
| 3.1. Araştırmanın türü                                                                                                      | 24 |
| 3.2. Çalışma grubunun seçilmesi                                                                                             | 24 |
| 3.3. Polimorfizmlerin çalışılması için örneklerin toplanması ve saklanması                                                  | 25 |
| 3.4. Polimorfizmlerin çalışılması                                                                                           | 25 |
| 3.5. Diğer laboratuvar incelemeleri                                                                                         | 25 |
| 3.6. Tedavideki gecikmenin değerlendirilmesi                                                                                | 25 |
| 3.7. İstatistiksel değerlendirme                                                                                            | 26 |
| 4. BULGULAR                                                                                                                 | 27 |
| 5. TARTIŞMA                                                                                                                 | 36 |
| 6. SONUÇLAR                                                                                                                 | 43 |
| 7. KAYNAKLAR                                                                                                                | 44 |

**ONAY**

Atatürk üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı 12.10.2011 tarihli ve 3 nolu Kürsü Kurulu kararı ile “TRALL BFM 2000 protokolü ile tedavi edilen akut lenfoblastik lösemi tanılı olgularda metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin tedavi üzerine etkilerinin araştırılması” isimli Pediatrik Onkoloji yan dal uzmanlık tezi konusu Yrd. Doç. Dr. Zuhal Keskin Yıldırım tarafından çalışılması uygun görülmüş, incelenmek üzere etik kurula gönderilmiştir. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun 14.01.2011 tarih “4” sayılı oturumunun ‘1’ sayılı kararı ile kabul edilerek Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu’na 08.11.2010 tarih ve 728 sayılı başvuru ile gönderilmiş ve sonrasında, Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu’nun 14.12.2010 tarih “5” nolu oturumunun “24” sayılı kararı ile Prof. Dr. Mustafa BÜYÜKAVCI denetiminde çalışılmak üzere kabul edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Yan dal uzmanlık eğitimim boyunca eğitimimde katkılarını esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Cahit Karakelleoğlu'na, eğitimime katkıları bulunan tüm diğer Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Çocukları onkoloji penceresinden seyretmek çok az kişinin sahip olduğu bir ayrıcalıktır... Benim bu ayrıcalığa sahip olmamda büyük emeği geçen, onkolojinin bütün alanlarında, gerek bilgileri gerekse hastaya yaklaşımları ile bu mesleği icra etmenin bir sanat olduğunu öğreten, şefkatle ve samimi gayretle beklentisiz çalışmayı, hekimlik zerafetiyle tüm çocukların problemleriyle ilgilenmeyi kendilerinden öğrendiğim çok değerli tez hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa Büyükavcı'ya teşekkürü bir borç biliyorum.

Yoğun çalışma temposu içinde zorlukları birlikte aştığımız, sevgi ve destekleri ile her zaman yanımda olan kliniğimizin değerli hemşirelerine,

Eğitim sürecimin her döneminde bana güç ve destek veren sevgili aileme teşekkür ederim.

Hala desteğini hissettiğim ve benimle gururlandığını bildiğim, eminim ki görseydi en çok mutlu olacak olan rahmetli babamı sevgi ve özlemle anıyorum.

Yrd. Doç. Dr. Zuhal Keskin Yıldırım

## ÖZET

Akut lösemiler, çocukluk çağının en sık görülen maliyn hastalığıdır. Lösemilerin %75-85'ini akut lenfoblastik lösemi (ALL) oluşturur.

Tedavi protokollerinde kullanılan, antimetabolit ve antifolat olan metotreksat (MTX), dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek folik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünü engeller. Tetrahidrofolatın azalması sonrasında gelişen olaylarla deoksiribonükleik asit ve ribonükleik asit sentezi inhibe olur. Bu metabolik yollar üzerindeki etkileşimleri ile MTX'in toksik etkileri ortaya çıkmaktadır. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi de aynı metabolik yolakta görev yapmakta olup herhangi bir mutasyon sebebiyle aktivitesinin azalması MTX'in neden olduğu toksisitenin artışından sorumlu tutulmaktadır.

Çalışmamızın amacı, ALL'li pediatrik olgularda MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin varlığında, tedaviyi etkileyecek hematolojik ve hepatik toksisite sıklığında artış olup olmadığını araştırmaktır.

Çalışmaya ALL tanısı konulmuş ve TRALL BFM 2000 protokolü ile tedavi edilen 39 olgu alındı. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmleri çalışılan olgular 6 ay süreli indüksiyon-konsolidasyon tedavisi ve bunu izleyen 3 aylık idame tedavisi süresince izlendi. Belirli aralıklarla National Cancer Institute (NCI) kriterlerine göre hepatotoksisite ve hematolojik toksisiteyle birlikte transfüzyon sayıları ve tedavideki gecikme süreleri saptandı.

Takip dönemlerinde ağır toksisite gelişen olguların oranı, tedavideki toplam gecikme günü, eritrosit ve trombosit süspansiyonu transfüzyon sayıları, C677T ve A1298C polimorfizmini taşıyan ve taşımayan gruplarda benzer bulundu. Ayrıca her iki polimorfizmi birlikte taşıyan olgularla herhangi bir mutasyonu bulunmayan ya da sadece bir polimorfizm taşıyan grup arasında da fark yoktu.

Sonuç olarak ALL'li olgularda, MTHFR geninde C677T ve A1298C polimorfizmlerinin varlığında, tedavi sırasında gözlenen hematolojik ve hepatik toksisitenin artmadığı ve tedavide aksama olmadığı kanaatine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Akut lenfoblastik lösemi, metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmleri, çocuk, toksisite.

## ABSTRACT

**The effects of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms on treatment in children treated by TRALL BFM 2000 protocol for acute lymphoblastic leukemia.**

Acute leukemia is the most common malignant disease of childhood. Acute lymphoblastic leukemia (ALL) consists of 75-85% of the leukemia.

Methotrexate (MTX), which is an antimetabolite and antifolate drug used for leukemia treatment, blocks the transformation of folic acid to tetrahydrofolate acid by inhibiting the dihydrofolate reductase enzyme. Deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid synthesis are inhibited depending on events after reduction of tetrahydrofolate. Toxic effects of MTX are also associated with interactions on these metabolic pathways. In case of any mutation in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene resulting to decreased activity of MTHFR enzyme which is working in the same pathway, might be responsible for increased toxicity of MTX.

This study aimed to investigate whether the MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms are associated with increased incidence of hematological and hepatic toxicities affecting the treatment in children with ALL.

Thirty-nine cases diagnosed with ALL and treated by TRALL BFM 2000 protocol were included in the study. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms were identified in these patients. The cases were observed during the Induction-consolidation therapy for 6 months and subsequent maintenance therapy for 3 months. At different time points, hepatotoxicity and hematologic toxicity described using National Cancer Institute criteria, the number of blood transfusions and delays in treatment were recorded.

The rates of patients who developed severe toxicity, duration of treatment delay and the number of red blood cell and platelet transfusions were similar in the groups with and without C677T or A1298C polymorphisms. In addition, there was no difference between the groups carrying both of the polymorphisms and not having any mutation or with only one type of the polymorphism.

In conclusion, this study suggests that MTHFR C677T or A1298C gene polymorphisms are not associated with increased hematological and hepatic toxicities during treatment and any treatment interruption in children with ALL.

**Key words:** acute lymphoblastic leukemia, methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms, child, toxicity.



### KISALTMALAR

|        |                                                            |
|--------|------------------------------------------------------------|
| ALL    | Akut lenfoblastik lösemi                                   |
| L-ASP  | L-asparaginaz                                              |
| BFM    | Berlin-Frankfurt-Münster                                   |
| CD     | Cluster of differentiation, diferansiyasyon kümeleri       |
| FAB    | Fransa-Amerika-Büyük Britanya                              |
| MTHFR  | Metilentetrahidrofolat redüktaz                            |
| MTX    | Metotreksat                                                |
| SSS    | Santral sinir sistemi                                      |
| AML    | Akut miyeloblastik lösemi                                  |
| Ig     | İmmunoglobulin                                             |
| TdT    | Terminal deoksinükleotidil transferaz                      |
| HLA-DR | Human leukocyte antigens (insan lökosit antijen)-DR        |
| L-ASN  | L-Asparagin                                                |
| cGy    | santiGray                                                  |
| THF    | Tetrahidrofolat                                            |
| kDA    | Kilodalton                                                 |
| SAM    | S-adenozil metiyonin                                       |
| GVHD   | Graft Versus Host Hastalığı                                |
| NCI    | National Cancer Institute                                  |
| EDTA   | Etilen diamin tetra asetik asit                            |
| PCR    | Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincirleme tepkimesi) |
| AST    | Aspartat transaminaz                                       |

|      |                                        |
|------|----------------------------------------|
| ALT  | Alanin transaminaz                     |
| LDH  | Laktat dehidrogenaz                    |
| BUN  | Kan üre azotu                          |
| BK   | Beyaz küre                             |
| MA   | Mutant allel                           |
| Hb   | Hemoglobin                             |
| g    | Gün                                    |
| C    | Sitozin                                |
| T    | Timin                                  |
| A    | Adenin                                 |
| 6-MP | 6-merkaptopürin                        |
| DFCI | Dana-Farber Cancer Institute           |
| SPSS | Scientific Package for Social Sciences |
| EFS  | Event Free Survival (Olaysız sağkalım) |

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

| No | Başlık                                                              | Sayfa |
|----|---------------------------------------------------------------------|-------|
| 1  | Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin iki döngü arasındaki rolü | 18    |
| 2  | TRALL BFM 2000 genel tedavi planı                                   | 24    |

## TABLolar DİZİNİ

| No | Başlık                                                                                                    | Sayfa |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1  | Akut lenfoblastik lösemi etiyolojisinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörler                         | 5     |
| 2  | Akut lenfoblastik lösemide morfolojik sınıflama (FAB sınıflaması)                                         | 6     |
| 3  | Akut lenfoblastik lösemide immünolojik sınıflama                                                          | 7     |
| 4  | Akut lenfoblastik lösemide sitogenetik anomalilerin sıklığı ve prognostik önemi                           | 8     |
| 5  | Akut lenfoblastik lösemide ayırıcı tanı                                                                   | 9     |
| 6  | Akut lenfoblastik lösemide iyi ve kötü prognoz kriterleri                                                 | 10    |
| 7  | Olguların C677T ve A1298C polimorfizmleri mutant allelik durumu                                           | 27    |
| 8  | A1298C Polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olguların tanıdaki laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması  | 28    |
| 9  | C677T Polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olguların tanıdaki laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması   | 29    |
| 10 | C677T Polimorfizmine sahip olan ve olmayan olgularda ağır toksisite görülme sıklığının değerlendirilmesi  | 30    |
| 11 | A1298C Polimorfizmine sahip olan ve olmayan olgularda ağır toksisite görülme sıklığının değerlendirilmesi | 31    |
| 12 | C677T, A1298C polimorfizmlerinin birlikteliğinde ağır toksisite varlığının değerlendirilmesi              | 33    |
| 13 | İzlem süresince yapılan transfüzyon sayılarının karşılaştırılması                                         | 34    |
| 14 | C677T, A1298C polimorfizmleri ile tedavideki gecikme gününün değerlendirilmesi                            | 35    |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut lösemiler, kemik iliği öncü hücrelerinin belli maturasyon basamaklarında duraklama göstererek, kontrolsüz şekilde çoğalmaları ile oluşan immatür hücrelerin, kemik iliği ve vücudu istila etmesi sonucu gelişen maliyn seyirli bir hastalıktır. İmmatür hücreler kemik iliğini infiltre ederek kemik iliği yetmezliğine neden olurken, bu durum çevre kanına anemi, trombositopeni, lökopeni veya lökositoz olarak yansır. Çevre kanındaki bu değişikliklerin klinik karşılığı ise olgularda solukluk, halsizlik, kanama, ateş ve ciddi enfeksiyonlardır (1).

Akut lösemiler, çocukluk çağıının en sık görülen maliyn hastalığıdır. Türkiye’de yıllık insidansı 1,5/100.000’dir (2). Lösemilerin %75-85’ini akut lenfoblastik lösemi (ALL) oluşturur. Çocukluk çağı ALL’lerinde gerek yeni antineoplastik ilaçların devreye girmesi, gerekse bakım imkânlarının artması ile iyileşme ve kür oranları %80'lere çıkmıştır (3).

Akut lenfoblastik lösemide tanı konulduktan sonra indüksiyon tedavisi ile hastanın remisyona girmesi, konsolidasyon ile tedavinin pekiştirilmesi, idame ile tedavinin devamlılığı sağlanır. Tedavi protokollerinde kortikosteroid, metotreksat (MTX), L-asparaginaz (L-ASP), antrasiklinler ve vinkristin gibi ilaçlar yer alır (4). Bir antimetabolit ve antifolat olan MTX, dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek folik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünü engeller. Tetrahidrofolatın azalması ile metiyoninin homosisteine remetilasyonu, timidilat, pürin ve pirimidinlerin sentezi azalır. Antifolat olan MTX ve onun aktif poliglutamat formları dihidrofolat redüktaz ve timidilat sentazın inhibisyonu ile hücrelerde DNA ve RNA sentezini inhibe eder. Bu metabolik yollar üzerinde yaptığı değişiklikler ile MTX’in hem tedavi edici etkileri hem de toksik etkileri ortaya çıkmaktadır (5).

Akut lenfoblastik lösemide kemoterapiye cevabı ve kullanılan kemoterapi ilaçlarının metabolizma ve toksisitelerinin değerlendirilmesinde tanımlanmış gen polimorfizmlerinin etkili olduğu bilinmektedir. Metilen tetrahidrofolat redüktaz folat/MTX metabolizmasında etkili olan en önemli enzimdir. Aktivitesinin düşüklüğünde yolak, timidilat sentaz yönüne kaymakta ve timidilat sentaz aktivitesini artırmaktadır. Bu etki tedavide kullanılan MTX’in neden olduğu hematolojik ve hepatotoksik yan etkilerden sorumlu tutulmaktadır (6).

Bu çalışmanın amacı ALL’li pediatrik olgularda, MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin varlığında tedavideki ilaç dozlarının azaltılmasını ya da kesilmesini gerektirecek hematolojik ve hepatotoksik etkileri araştırmak ve bu olumsuz etkileri tespit etmektir.

Sonuçların değeriendirilmesi ile ALL’li olgularda yoğun kemoterapi tedavisi süresince ilaç toksisiteleri önceden öngörülebiiecek ve gerekli önlemlerin alınması gündeme gelebilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Akut lenfoblastik lösemi

#### 2.1.1. Tanımlama ve sınıflama

Lösemiler, hematopoetik hücrelerdeki genetik bozukluğa bağlı olarak normal hematopoezin belirli bir basamakta duraksaması ve bu hücrelerin klonal proliferasyonunun neden olduğu bir grup malign hastalık olarak tanımlanmaktadır. Lösemik klon hücreleri, hem kemik iliğini baskılayarak ve onun yerini alarak hem de ekstrasmedüller bölgelerde hematojen yayılarak akut lösemilere özgü klinik tabloyu oluşturur. Akut lenfoblastik lösemi daha önceleri ölümcül bir hastalık olarak bilinirken, son yıllarda tanı ve tedavideki gelişmelerin yanı sıra destek tedavisindeki iyileştirmeler sayesinde olguların büyük çoğunluğu uzamış hastaliksız sağkalıma ulaşmış, hatta %70-80 olguda kür şansı yakalanmıştır (7).

Akut ve kronik olarak sınıflandırılan lösemiler, immatür blastik hücrelerin göreceli olarak hızlı veya yavaş çoğalmasını ifade eder. Çocukluk çağı kanserlerinin %25-30'unu lösemiler, lösemilerin %97'sini akut lösemiler, %3'ünü ise kronik lösemiler oluşturmaktadır. Akut lösemilerin %75'ini ALL, yaklaşık %20'sini ise akut miyeloblastik lösemi (AML) oluşturur. Akut indifferansiye lösemi ise çok nadirdir (<%0,5). Akut karışık hücreli (mixed lineage) lösemi iki grupta incelenmektedir; iki veya daha fazla miyeloid antijen pozitifliği gösteren ALL (My+ALL; tüm ALL olgularının %6'sı) ve iki veya daha fazla lenfoid antijen pozitifliği gösteren AML (Ly+AML; tüm AML olgularının %17'si). Kronik lösemiler ise Philadelphia kromozomu pozitif miyeloid lösemi ve juvenil miyelomonositik lösemi olmak üzere 2 grupta toplanmaktadır (8).

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Çocukluk çağı kanserlerinde tam iyileşme oranlarının yetişkinlerden çok daha yüksek ve beklenen yaşam süresinin uzun olması, çocukluk çağı kanserlerini önemli hale getirmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde çocukluk çağında ALL'nin yıllık insidansı 3-4/100.000 iken (8), ülkemizde bu oran 1,5/100.000'dir (2). Akut lenfoblastik lösemi erişkin yaşlar dahil her yaşta görülebilmekle birlikte en sık 2-5 yaş arasında görülür (8). Erkeklerde ve beyazlarda yüksek oranda görülür ve erkek cinsiyetteki bu üstünlük puberte döneminde daha belirgindir (1). Akut lenfoblastik lösemi öncelikle "de novo" hastalık olarak, nadiren de sekonder kanser olarak ortaya çıkar (9). Ülkemizde

çocukluk çağında ölüm nedenleri arasında 4. sırada yer alan kanser, birçok gelişmiş ülkede kazalardan sonra 2. sırayı almaktadır. Yapılan bir çalışmada ülkemizde, çocukluk çağı maliy nitelerinde ALL sıklığı %34,9 olarak bildirilmiş, bunu lenfoma ve santral sinir sistemi (SSS) tümörleri izlemiştir. Ülkemizde her yıl çocukluk yaş grubunda 2500-3000 yeni kanser olgusunun görülmesi beklenmektedir (10).

### **2.1.3. Etiyopatogenez**

Lösemilerin kesin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Akut lösemiler ile ilişkili birçok genetik ve çevresel faktör bildirilmektedir. Patogeneizde tek bir mutasyondan ziyade ardışık birkaç mutasyon sonrası oluşan mutant hücrelerin kontrolsüz çoğalması sorumlu tutulmaktadır. Böylece sonsuz çoğalma yeteneği olan hemopoetik kök hücrelerin diferansiyasyon göstermeden devamlı çoğalması sonucunda lösemi geliştiği düşünülmektedir. T lenfosit reseptörleri veya B hücre yüzeyel immünglobulinlerinin moleküler incelenmesi sonucunda saptanan maliynite özelliklerinin tüm blastlarda aynı olduğu belirlenmiş, böylece blastların tek bir hücreden geliştiği yani klonal olduğu gösterilmiştir (11).

#### **2.1.3.1. Genetik faktörler**

Çocukluk çağı lösemilerinin çoğunda kesin neden tam olarak bilinmese de kalıtsal genetik bozuklukların ve oluşan kromozom kırıklarının etkili olduğu anlaşılmıştır. Down sendromu, Ataksi Telenjiyektazi, Shwachman sendromu, Nörofibromatozis, Beckwith-Wiedemann hastalığı, Bloom sendromu, Fankoni anemisi, Nijmegen Breakage sendromu gibi hastalıklarda çocukluk çağı lösemisi gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir (1, 8).

Bunların dışında lösemili çocuklarda birçok edinsel kromozomal bozukluk tespit edilmiştir. En sık rastlanılan kromozomal bozuklukların süt çocuğunda infant ALL'de 11q23 kromozomundaki MLL geni, yine ALL'de t(9;22) ve t(1;19) olduğu gösterilmiştir (1).

Lösemili çocukların kardeşlerinde lösemi görülme riski topluma göre dört kat fazladır. Ancak tek yumurta ikizlerine bakıldığında eğer biri ilk 5 yaş içinde lösemi olursa diğ erinde de lösemi gelişme riski %20'dir. Bu iki durum löseminin etyolojisinde hem genetik hem de çevresel faktörlerin rol oynadığı fikrini desteklemektedir (Tablo 1) (8).



Tablo 1. Akut lenfoblastik lösemi etiyolojisinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörler.

| Genetik faktörler                   | Çevresel faktörler     |
|-------------------------------------|------------------------|
| Down sendromu (1/95)*               | İyonize radyasyon      |
| Fankoni anemisi (1/12)*             | Elektromanyetik alan   |
| Bloom sendromu (1/8)*               | İlaçlar                |
| Diamond Blackfan anemisi            | Alkilleyici ajanlar    |
| Schwachman sendromu                 | Kimyasal maddeler      |
| Klinefelter sendromu                | Benzene maruziyet      |
| Turner sendromu                     | İlerlemiş maternal yaş |
| Ataksi telanjiektazi                | Viral enfeksiyonlar    |
| Nörofibromatozis                    |                        |
| Li Fraumeni sendromu                |                        |
| Poland sendromu                     |                        |
| Ciddi kombine immün yetersizlik     |                        |
| Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri |                        |
| Wiskott Aldrich sendromu            |                        |
| Kostmann sendromu                   |                        |

\*Lösemi gelişme riskini göstermektedir.

### 2.1.3.2. Demografik ve çevresel risk faktörleri

Çevresel ve demografik özelliklerin lösemi riskini artırdığı bilinmektedir. Etiyolojiden sorumlu tutulan çevresel faktörler, iyonize ışınlar, kimyasal karsinojenler, benzen gibi solventler ve enfeksiyöz ajanlardır. Deoksiribonükleik asit polimorfizminin bireyler arası farklılık göstermesinden dolayı genotoksik ajanlardan etkilenim dereceleri değişiktir. Lösemi ile ilişkili genotoksik ajanlara kanser kemoterapötikleri (alkilleyici ajanlar, antrasiklinler), alkol, sigara ve pestisitler örnek verilebilir. Radyasyonun etyolojideki rolü, tanı ve tedavi amacı ile ışın alan ya da atom bombasının etkisinde kalan bireylerin incelenmesiyle ortaya konmuştur (1). En iyi çalışılan ve bilinen iyonize edici radyasyon ile ilgili risk faktörünün, özellikle çocukluk çağı ALL ve AML'nin görülme sıklığını artırdığı bilinen intrauterin dönemde tanısız amaçlı X-ray'e maruz kalma olduğu bildirilmektedir (12,13).

Mesleki olarak ya da ev içi kullanımla pestisitlere veya benzene maruziyet çocukluk çağı lösemisi ile ilişkili bulunmuştur. Akut miyeloblastik lösemi M4 ve AML M5 lösemisi olan olgularda bu ilişkinin özellikle daha güçlü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca insan

lösemi etyolojisinde birçok viral ajanın rol oynadığı gösterilmiştir. Özellikle Epstein-Barr virüsün B hücreli lenfoma ve lösemide yeri kanıtlanmıştır (14).

#### 2.1.4. Sınıflandırma

Sınıflandırma morfolojik, immünolojik ve sitogenetik özelliklerin bir arada değerlendirilmesi ile yapılmaktadır.

##### 2.1.4.1. Morfolojik sınıflandırma

Günümüzde ALL'nin morfolojik ayırımında en sık kullanılan ve lenfoblastları hücre boyutu, çekirdek ve sitoplazma görünümü gibi morfolojik özelliklere göre L1, L2 ve L3 alt gruplarına ayıran sınıflama Fransa, Amerika ve Büyük Britanyanın baş harflerini taşıyan FAB sınıflamasıdır (Tablo 2) (1). Akut lenfoblastik lösemiler içinde %85 oranı ile en sık görülen L1 morfolojisi, L2 (%14) ve L3 (%1) morfolojisine göre prognozu en iyi olandır (15).

Tablo 2. Akut lenfoblastik lösemide morfolojik sınıflama (FAB sınıflaması).

| Lenfoblast          | L1          | L2                 | L3       |
|---------------------|-------------|--------------------|----------|
| Büyüklik            | Küçük       | İri, değişken      | Büyük    |
| Kromatin            | Yoğun       | Değişken           | İnce     |
| Çekirdek            | Düzensiz    | Düzensiz, çentikli | Düzensiz |
| Çekirdekçik         | Yok, küçük  | Büyük, belirgin    | Belirgin |
| Sitoplazma          | Çok dar     | Daha geniş         | Geniş    |
| Stoplazmik bazofili | Hafif, orta | Değişken           | Koyu     |
| Stoplazmik vakuol   | Değişken    | Değişken           | Belirgin |

##### 2.1.4.2. İmmünolojik sınıflama

Lenfositlerin gelişim aşamalarında yüzeylerinde beliren ve kaybolan farklı antijenik yüzey işaretçilerine diferansiyasyon kümeleri (Cluster of differentiation, CD) denir. Bunlar adeta bir etiket gibi o hücrenin hangi gelişim aşamasında olduğu hakkında bilgi verir (16). Akım sitometrisi ile yapılmakta olan immünfenotipleme, blastın hangi aşamada olduğunu gösteren tekniktir. Çocukluk çağı ALL'lerinin %84'ü B-hücre

prekürsörlerinin monoklonal proliferasyonundan gelişir. B hücrelilerin sadece %3'ü yüzey immunoglobulini (lg) eksprese eder ve bunlar olgun B hücreli ALL olarak sınıflandırılır. Daha çok adölesanlarda görülen, yüksek beyaz küre değerleri, mediastinal genişleme ve SSS tutulumu ile seyreden T hücreli ALL, tüm ALL'lerin %13'ünü oluşturur ve prognozu daha kötüdür (Tablo 3) (17).

Tablo 3. Akut lenfoblastik lösemide immünolojik sınıflama.

| Tip               | Antijen ekspresyonu                             |
|-------------------|-------------------------------------------------|
| B hücre prekürsör | CD19+, CD22+, CD79a+, clg±, slgμ-, HLA-DR+      |
| Pre-pre B         | CD10-                                           |
| Early Pre-B       | CD10+                                           |
| Pre-B             | CD10±, clg+                                     |
| B hücre           | CD19+, CD22+, CD79a+, clg+, slgμ+, slgκ+, slgλ+ |
| T prekürsör       | CD7+, cCD3+                                     |
| T hücre           | CD2+, CD1±, CD4±, CD8±, HLA-DR-, TdT±           |
| Pre-T             | CD2-, CD1-, CD4-, CD8-, HLA-DR±, TdT+           |

clg: Sitoplazmik immünglobulin, slg: Yüzey immünglobulin, cCD3: Sitoplazmik CD3, TdT: Terminal deoksinükleotidil transferaz, HLA-DR: Human leukocyte antigens (insan lökosit antijen)

#### 2.1.4.3. Sitogenetik ve moleküler özellikler

Akut lenfoblastik lösemilerde gözlenen sitogenetik özellikler biyolojik ve prognostik anlama sahiptir. Çocukluk çağı lösemilerinin %75'inde kromozomal translokasyonlar gözlenir. Lösemi sitogenetiğinin biyolojik öneminin anlaşılması lösemi gelişme mekanizmalarının ortaya konmasında moleküler metodların kullanımına yöneltmiştir (Tablo 4) (1, 8).

Tablo 4. Akut lenfoblastik lösemide sitogenetik anomalilerin sıklığı ve prognostik önemi.

| Kromozomal anomaliler    | 5 yıllık olaysız sağkalım         |
|--------------------------|-----------------------------------|
| Normal karyotip, (=46)   | %80                               |
| Hipodiploidi, (<46)      | %71                               |
| Psödodiploidi            | %73                               |
| Near triploidi (66-73)   | Bilinmiyor, muhtemelen iyi        |
| Near tetraploidi (82-94) | Bilinmiyor, muhtemelen %60'tan az |
| Hiperdiploidi            |                                   |
| >50 kromozom             | %80                               |
| >47-50 kromozom          | %90                               |
| t(1;19)                  | %53                               |
| t(4;11)                  | %45                               |
| t(9;22)                  | %14                               |

#### 2.1.5. Klinik bulgular ve laboratuvar

Akut lenfoblastik lösemili bir olguda semptomlar teşhisten önceki birkaç gün ila birkaç ay arasında bir zaman diliminde başlar. Bazen asemptomatik bir olgu rutin kan sayımında ortaya çıkabilirken bazen yaşamı tehdit edici kanama, enfeksiyon ya da solunum sıkıntısı ile gelebilir. Anemi, nötropeni, trombositopeni gibi kemik iliğinin infiltrasyonu ya da lenfadenopati, hepatosplenomegali gibi lenfoid sistemin tutulması sonucu gelişen bulgular olabilir. Tanı anında %25 oranında kemik ve eklem bulguları, %10-23 oranında testis tutulumu, kanama veya tiflit ile karakterize gastrointestinal sistem bulguları, SSS tutulumu (%5'ten az), sıklıkla yeni doğan lösemilerinde görülen deri tutulumu ve otopsilerde 1/3-2/3 oranında saptansa da %5'den az olguda görülen kalp tutulumu ve yine çok nadir akciğer tutulumu gibi ekstramedüller sistem bulguları saptanabilir (8). Akut lenfoblastik lösemi tanısı ilk konulduğu zaman laboratuvar incelemeleri çoğu kez normokrom normositer anemi, lökositoz, lökopeni veya trombositopeni ve periferik yaymada blast varlığını ortaya koyar. Kemik iliğinde %25 ve üzeri blast olması ile tanı konulur. Akut lenfoblastik lösemide lenfoblastların parçalanması ile ortaya çıkan pürinlerin yıkılması sonucu kanda ürik asit değeri genellikle yüksektir. Kandaki ürik asit düzeyi böbrek tübülüslerine oturarak akut böbrek yetmezliği ile sonuçlanan ürik asit nefropatisine yol açabilir. Ayrıca yine lenfoblastlardan açığa çıkan fosfatlar kalsiyumu bağlayarak kanda kalsiyum düzeyinin düşmesine yol açabilir. Akut lenfoblastik lösemide radyolojik incelemelerde olguların

%5-10'unda mediastinal kitle ve kemiklerde medüller kanalda genişleme, metafizde transvers çizgiler, patolojik kırıklar gibi bulgular izlenebilir (1).

#### 2.1.6. Ayırıcı tanı

Genellikle ALL tanısının konulmasında güçlükle karşılaşılmaz. Ancak bazı hastalıklar klinik ve laboratuvar bulguları ile ALL'yi taklit edebilirler (Tablo 5) (1).

Tablo 5. Akut lenfoblastik lösemide ayırıcı tanı.

---

##### **Maliyn olmayan durumlar**

Juvenil romatoid artrit  
İnfeksiyöz mononükleoz  
İdiyopatik trombositopenik purpura  
Boğmaca  
Aplastik anemi  
Akut infeksiyöz lenfositoz

##### **Maliyniteler**

Nöroblastom  
Retinoblastom  
Rabdomiyosarkom

---

#### 2.1.7. Prognostik faktörler

Akut lenfoblastik lösemide prognozu etkileyen çeşitli faktörler tedavi protokolünün belirlenmesinde büyük önem taşır. Amaç her risk grubu için mümkün olan en az toksik tedaviyi vermek ve daha yoğun tedaviyi yüksek risk gruplar için riskleri göze alarak kullanmaktır (Tablo 6) (18, 19).

Tablo 6. Akut lenfoblastik lösemide iyi ve kötü prognoz kriterleri.

| Risk Faktörü                                         | İyi Prognoz | Kötü Prognoz            |
|------------------------------------------------------|-------------|-------------------------|
| Yaş                                                  | 1–10 yaş    | <1 yaş, ≥10 yaş         |
| Beyaz küre                                           | <50.000/μL  | ≥50.000/μL              |
| DNA indeksi                                          | >1,16       | ≤1,16                   |
| Trizomi 4,10, 17                                     | Var         | Yok                     |
| İndüksiyon tedavisi sonunda kemik iliğinde <%5 blast | Evet        | Hayır                   |
| Sitogenetik                                          | t(12;21)    | t(9;22) t(4;11) t(1;19) |
| İmmünofenotip                                        | B-öncül     | T hücreli, olgun B      |
| Santral sinir sistemi tutulumu                       | Yok         | Var                     |
| Minimal rezidüel hastalık                            | Yok         | Var                     |

#### 2.1.8. Tedavi ve ilaçlar

Günümüzde yaşam şansı %80'lere ulaşan ALL tedavisinde %20-30 oranında görülebilen nüksleri engelleyecek, ancak geç yan etkilere olabildiğince az neden olacak, risk gruplarına, olgunun biyolojik ve sitogenetik özelliklerine göre yoğunlaştırılacak tedavi protokollerine ihtiyaç vardır (20). Lösemi tedavisinde farklı protokoller olmasına rağmen, temel hedef erken dönemde yoğun ve çok sayıda ilaçla en yüksek lösemik hücre ölümüdür. Tüm modern tedavi şemaları 5 ana bölüm içermektedir:

- ✓ Remisyon indüksiyonu (blastların hızla ortadan kaldırılması).
- ✓ Konsolidasyon (rezidüel lösemi ve SSS lösemisinin ortadan kaldırılması).
- ✓ Reindüksiyon (rezistan, rezidüel blastların ortadan kaldırılması, özellikle yüksek riskli olgularda).
- ✓ Remisyon idamesi (eradike edilmiş löseminin yinelenmesinin önlenmesi).
- ✓ Destekleyici tedavi (tümör lizis sendromu tedavisi, kan ürünleri transfüzyonu, nötroopenik ateş tanısı ve tedavisi).

Tedavi başlangıcında tüm olgular hastalık risk gruplarına göre standart, orta ve yüksek risk olarak sınıflandırılır. Tedavi yoğunluğu bu risk gruplarına göre düzenlenmektedir.

### 2.1.8.1. Akut lenfoblastik lösemide genel destek tedavisi

Bazen tanı anında, genelde tedavi sonrası yani lösemik hücreler yıkılmaya başladıktan sonra meydana gelen hiperürisemiye engellemek için hidrasyon, alkalizasyon ve allopurinol kullanılır. Ancak özellikle beyaz küre sayısı çok yüksek olan ve belirgin organomegali ve lenfadenomegalisi olan olgularda hiperfosfatemi, hipokalsemi, hiperkalemi ile karakterize tümör lizis sendromu görülebilir. Tedavide amaç elektrolit ve mineral dengesizliğini düzeltmek, alkalizasyon ve diüzezi sağlamaktır. Gereklik halinde diyaliz kullanılır. Kanama komplikasyonu varsa trombosit  $10.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde tutulmaya çalışılmalıdır. Anemisi olan olgulara eritrosit süspansiyonu verilmelidir. Beyaz küre sayısı  $100.000/\text{mm}^3$  üzerinde olan olgular viskozite nedeni ile komplikasyonlar açısından riskli olgulardır (8). Lökosit sayısının yüksek olduğu durumlarda hiperviskoziteyi tetikleyeceği için eritrosit süspansiyonu verilme endikasyonunda dikkat edilmelidir. Tüm kan ve kan ürünleri Graft Versus Host Hastalığı (GVHD)'nı önlemek için ışınlanmalıdır. Ayrıca *Pneumocystis carini* enfeksiyonu için profilaksi ve fungal enfeksiyonlardan korunmak için antifungal ilaçlar kullanılır (17).

### 2.1.8.2. Tedavide kullanılan ilaçlar

Bir sitotoksik ilacın lösemide remisyon oluşturmaları ilk kez 1948'de bildirilmiş ve bu tarihten sonra çok daha etkili ajanlar keşfedilmiştir (21). Akut lenfoblastik lösemi tedavisinde tek ilaçla kür sağlanması mümkün olmayacağından kullanılan ilaçların her birinin etkisi ile ilgili bilgilerin ışığında en uygun kombinasyonu ve tedavi stratejilerini belirlemek gerekir.

**Steroidler:** Akut lenfoblastik lösemisinin remisyon indüksiyon tedavisinde kullanılan bütün güncel ilaçlar içerisinde en önemlisidir. Steroidlerin etki mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, glukokortikoid reseptörlerine intrasellüler bağlanarak apoptoz ile hücre ölümüne sebep olabilirler. Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) protokolünde  $60 \text{ mg/m}^2/\text{g}$  dozunda oral, prednizon analogu olan prednizolon şeklinde kullanılır (4).

**Vinka alkaloidleri:** Akut lenfoblastik lösemide olduğu gibi birçok çocukluk çağı malignitesinde kullanılmaktadır. Tedavide en sık kullanılan vinka alkaloidi vinkristindir. Kullanımında hafif miyelosüpresyon beklenebilir. Çeşitli kombinasyonlarda otonomik

tutulmuş, sensoriyal ve motor tutulumla karakterize periferik nöropati doz kısıtlayıcı nedenlerdir (22).

**L-Asparaginaz:** Akut lenfoblastik lösemi tedavisinde 35 yıldır kullanılmasına rağmen, bu yabancı proteinin en üst düzeyde etkisini sağlamanın ve alerjik reaksiyonları önlemenin ideal yolu bilinmemektedir. Antilösemik etkisini L-Asparagin'i (L-ASN) tüketerek ve apoptozisi artırarak gösterir. L-Asparagin'i aspartik asit ve amonyağa çevirir, kanda serbest asparagin tükenir. Normal hücrelerde, aspartik asit ve glutaminden L-ASN sentezleyen asparagin sentetaz bulunur. Lösemik hücrelerde bu enzim eksik olduğundan, hücre için gerekli bu esansiyel aminoasit üretilemez (23).

**Antrasiklinler:** Daunorubisin lösemide kullanılan ilk antrasiklin antibiyotiktir. Miyelosüpresif etkinliği belirgindir ve kardiyotoksik etkisi kümülatiftir. Lösemi tedavisinde kümülatif dozlar 300-400 mg/m<sup>2</sup>'yi geçmemelidir. Doksorubisin ALL'de daha az kullanılır fakat daha az toksisiteye sahiptir. Yeni antrasiklinlerden idarubisin daunorubisinden daha etkilidir fakat protokollerde henüz yerini almamıştır (24).

**Folik asit metabolitleri:** Folik asit antagonistleri çocukluk çağı ALL tedavisinde devrim başlatmışlardır. Metotreksat güncel olarak kullanılan tek bileşiktir ve 6-merkaptopürin (6-MP)'le birlikte ALL'de idame tedavisinin temelini oluşturur. İntratekal olarak verilen metotreksat, SSS'ne yönelik kemoterapinin anahtar parçasıdır. Yüksek doz metotreksat 1960'larda gündeme gelmiştir (21).

**Pürin antagonistleri:** 6-merkaptopürin çocukluk çağı ALL'de kullanılan klasik pürin antagonistidir. 6-merkaptopürin, çocukluk çağı ALL'de tüm idame kemoterapi protokollerinde metotreksatla birlikte en sık kullanılan ilaçtır. 6-merkaptopürinin oral olarak verilmesinden sonra biyoyararlanımının son derece değişken olduğu birçok farmakolojik çalışmalarla gösterilmiştir (24).

**Pirimidin antagonistleri:** Sitozin arabinozid çocukluk çağı ALL'de kullanılan tek pirimidin antagonistidir. İn vitro çalışmalar, T lenfoblastların sitarabine özellikle duyarlı olabileceğini göstermiştir. Yüksek doz sitarabin dirençli ve tekrarlayan ALL'de çocuk ve erişkinlerde remisyon sağlayıcı güçlü bir ilaçtır ve yüksek riskli olgular için kullanılan çoğu yeni protokolde yer almaktadır (25).

**Alkilleyici ajanlar:** Hematolojik malignansilerin tedavisinde tek ajan olarak ya da kombine tedavilerde önemli yeri olan ilaçlardır. Etkilerini spesifik olmayan hücre



döngüsü aşamasında hücre çekirdeğindeki DNA üzerine etki ederek gösterirler. Siklofosamid, çocukluk çağı ALL tedavisinde en sık kullanılan alkilleyici ilaçtır (26).

***Epipodofilotoksinler:*** Teniposid ve etoposid iki önemli epipodofilotoksindir. Bu bileşikler, enzim tarafından parçalandıktan sonra DNA'nın tekrar sertleşmesini önlemek için topoizomera- II ile etkileşir ve apoptozise yol açar. Etoposid, ALL'li olgularda protokollerin konsolidasyon fazında yer alır. Bu grup ilaçların kullanımında sekonder AML gelişimi hakkında bazı endişeler vardır; genellikle sadece kısa yoğun blokları içeren şemalarda kullanılır (22, 24).

#### **2.1.8.3. Remisyon indüksiyonu**

Tam remisyon, kemik iliğinde normal erken öncüller ve hematopoez varken blast sayısının %5'in altında olması, kan değerlerinin normale dönmesi, beyin omurilik sıvısının temiz olması, hastalığın tüm klinik bulgu ve belirtilerinin düzelmesidir (24). Tam remisyon oranları %97'den yeni kemoterapi protokolleri ile %99'a yükselmektedir. İndüksiyon rejimlerinde genellikle glukokortikoid (prednizolon, prednizon veya deksametazon), vinkristin ve L-ASP yer alır. Yüksek riskli hastalık protokollerinde antrasiklinler ya da siklofosamid yer almaktadır. Bu yoğun indüksiyon tedavisinde mortalite ve morbidite artış göstermektedir (20). Başlangıç kemoterapisine verilen yanıt ve total lösemik hücre yükünün azaltılması tedavinin başarısı açısından önemli faktörlerdir. İndüksiyon tedavisi yaklaşık 8 hafta sürer. Bu dönem olguların tedavi komplikasyonları ve enfeksiyon nedeni ile en çok kaybedildiği dönemdir (17, 24).

#### **2.1.8.4. İntensifikasyon/konsolidasyon**

Çoğu güncel kemoterapi protokollerinde, erken lösemik hücre ölümünü en üst düzeye çıkarmak için remisyon indüksiyon tedavisini konsolidasyon (reindüksiyon tedavisi) izler. Genellikle yüksek doz MTX, 6-MP ile ya da tek başına kullanılır. Tedavinin bu fazı düşük risk grubundaki olgularda bile sonuçlarda iyileşme göstermektedir. T hücre tipinde MTX genellikle 5 g/m<sup>2</sup>, B hücre prekürsörlerinde ise 1 g/m<sup>2</sup> dozunda verilmektedir. Çoğunlukla kullanılan bu ilaçların yanı sıra konsolidasyon tedavisinde sitarabin, siklofosamid ve L-ASP yer alır (17).

#### 2.1.8.5. Santral sinir sistemi tedavisi

Geçmişte farmakolojik tedavinin yanı sıra hem SSS tutulumu olanlarda hem de profilaksi amacı ile uygulanan 1800-2400 santiGray (cGy) yüksek doz radyoterapi tedavisi, hipotalomohipofizer aks bozuklukları, kemik gelişim bozuklukları, büyüme hız değişiklikleri, beyin kognitif özelliklerinde değişiklikler gibi geç yan etkilerinin gözlenmesi ve beklenen SSS nükslerinin %5 civarında görülmesi nedeni ile düşük risk gruplarından kaldırılmıştır. Profilaksi dozu 1200 cGy, SSS tutulumu olanlarda ise 1800 cGy'e düşürülmüştür. Ayrıca intratekal tedavide bazı protokollerde MTX dışında sitozin arabinozid ve kortikosteroidler kullanılmaktadır (27, 28).

#### 2.1.8.6. İdame tedavisi

Konsolidasyon tedavisinin ardından yaklaşık 1,5 yıl süren, remisyonun devamlılığını amaçlayan tedavi bölümüdür. Metotreksat ve 6-MP kombinasyonunun devamlı verilmesi şimdilerde çok yaygın olarak kullanılmaktadır ve neredeyse tüm idame protokollerinin iskeletinin en önemli kısmını oluşturur. Farmakolojik çalışmalar oral 6-MP ve oral MTX'in biyoyararlanımının son derece değişken olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte randomize olarak yapılan bir çalışma oral MTX ile idame tedavisinin intramüsküler MTX kadar etkili olduğunu göstermiştir. Çoğu protokollerde 6-MP ve MTX'in biyoyararlanımında kişiler arası farklılık nedeni ile, her iki ilacın dozu ölçülen lökosit sayısına göre ayarlayarak telafi edilmektedir (29).

#### 2.1.8.7. Relaps

Yoğun indüksiyon kemoterapisinin kullanılması ile tedavi kesildikten sonra relaps olan olgu oranı (%15-20) belirgin azalmıştır. Relapsların çoğu tedavi sırasında ya da ilk 2 yıl içinde görülür. En sık relaps bölgesi olan kemik iliğini sırası ile SSS, testis ve diğer nadir bölgeler takip eder. Çoğu ALL tedavi protokollerinde testiküler ve SSS relapsı %2'nin altındadır. Tedavi bittikten sonraki dördüncü yıldan sonra relapslar son derece nadirdir. Tedavinin ideal süresi kızlarda ve erkeklerde farklı olabilir. Halen devam eden İngiliz, Amerikan ve Alman protokollerinde standart riskli erkekler toplam 36 ay, kızlar ise 24 ay tedavi alırlar (17, 24).

#### 2.1.8.8. Kök hücre nakli

Akut lenfoblastik lösemi tedavisinde kök hücre nakli, t(9;22) veya t(4;11) translokasyonuna sahip olan, indüksiyon sonrasında kemik iliğinde blast oranı %25'in

üzerinde olan, steroide erken cevap vermeyen yüksek riskli olgularda ve erken nüks görülen olgularda yapılır (30, 31).

### **2.1.9. Komplikasyonlar**

#### **2.1.9.1. Erken komplikasyonlar**

Hiperürisemi ve tümör lizis sendromunda hidrasyon, alkalizasyon sağlanır ve allopürinol kullanılır (24). Mortalite oranları %2-10 arasında değişebilen febril nötropenik olgularda tüm kültürler alınarak geniş spektrumlu antibiyotikler başlanmalı ve klinik durumun uzaması halinde antifungal ilaçlar eklenmelidir (32).

#### **2.1.9.2. Geç komplikasyonlar**

Akut lenfoblastik lösemide sağ kalım oranlarının artması, hastalığa ve tedaviye bağlı nöropsikolojik bozukluklar, kardiyak, endokrin ve fertilité ile ilgili sorunlar ve ikincil tümörler gibi geç yan etkileri gündeme getirmiştir (33). Kız olgularda SSS'ye yönelik tedavi ve erkek olgularda testis ışınlamasını takiben gonadal disfonksiyonu görülebilir (24). Antrasiklinlerin kümülatif dozla ilişkili olarak kardiyotoksik etkileri uzun dönemde de takip edilmelerini gerektirmektedir (34). Lösemide SSS profilaktik tedavisinde dört patolojik etki tanımlanmıştır; lökoensefalopati, mineralize mikroanjiyopati, subakut nekrotizan lökomiyelopati ve sekonder maliyn neoplazmlar (beyin tümörleri) (35). Profilaktik radyoterapinin ALL tedavisinden sonra normalin altındaki büyümede en önemli faktör olduğu ve kısa vadede değil de uzun süreli izlem gerektiği vurgulanmaktadır (36). Kanseri tedavisinin nadir ancak önemli bir geç yan etkisi de ikincil maliynitelerdir. Kanserden sağkalanlarda en önemli ölüm nedeni ikincil kanserlerdir. Kanserden sağkalan çocukların ikincil kanser riski, sağlıklı çocuklarda kanser gelişmesi riskine göre 2-3 kat fazladır (37).

## **2.2. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmleri**

### **2.2.1 Giriş**

Metilentetrahidrofolat redüktaz homosistein metabolizmasında anahtar enzimdir. İnsan MTHFR geni, kromozom 1p36.3'de lokalize olmuştur ve 656 aminoasitten oluşan MTHFR enzimini kodlar (38, 39). Metilentetrahidrofolat redüktaz, 5,10-metilentetrahidrofolatı (5,10-metilen THF) irreversibl olarak 5-metiltetrahidrofolata (5-metil THF) dönüştürür. 5-metiltetrahidrofolat; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi

için metil grubu sağlar. 5,10-metilentetrahidrofolat ise deoksiüridilatin timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'a okside olmaktadır (40, 41). Metilentetrahidrofolat redüktaz geninde meydana gelen bir mutasyon (en yaygın olanı C677T polimorfizmi) enzim aktivitesini azaltmaktadır (39, 40). Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5-metil THF düzeyi azalmakta, 5,10- metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır (41-43). Hiperhomosisteinemi ve homosisteinürinin ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferik nöropati, gelişme geriliği, hipotoni, strok ve tromboz gibi patolojiler görülür. Metilentetrahidrofolat redüktaz eksikliğinin hafif olduğu durumlara nüfus genelinde oldukça sık rastlanmakta olup, özellikle arteriyel hastalıkların oluşumunda bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (44-46). Metilentetrahidrofolat redüktaz geninde görülen bazı mutasyonlar, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur (40-43, 47).

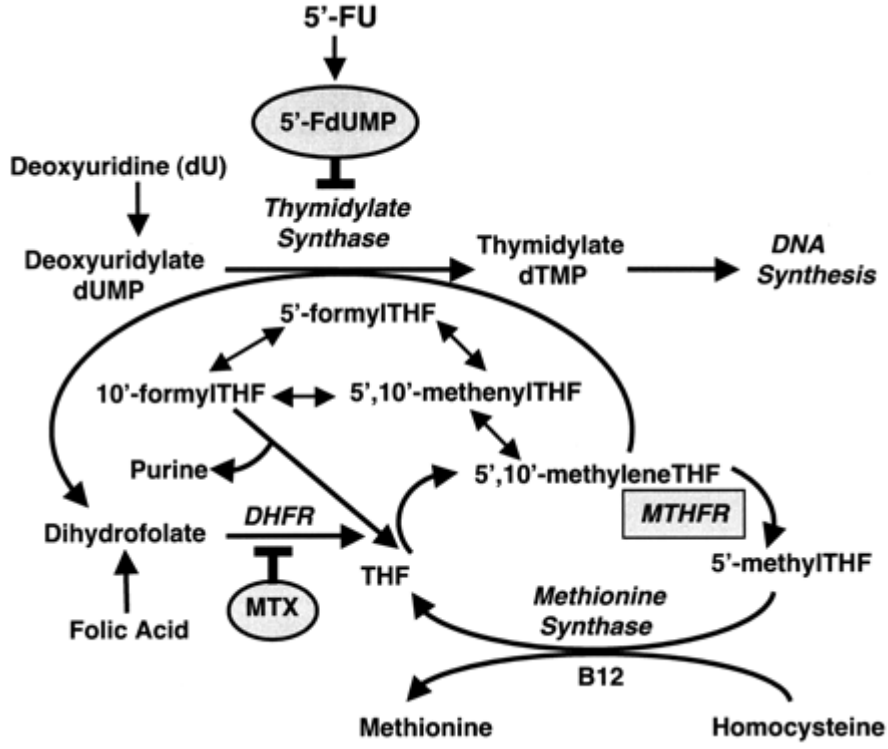
### **2.2.2. Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin yapısı ve görevi**

5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi, bir flavoprotein olup MTHFR ailesinin (EC 1.5.2.20) bir üyesidir. Memelilerde MTHFR'nin yapısı hakkındaki ilk bilgiler, domuz karaciğer enziminin saflaştırılması ile elde edilmiştir. Enzim sitoplazmik bir protein olup, iki alt birimden oluşan homodimer yapıdadır. İnsanlarda yapılan Western analizler sonucu 2 izoformunun olduğu açıklanmıştır. Bu izoformlar dokulara has olup, 70 kilodalton (kDa)'luk küçük alt birimlere sahip izoform karaciğerden, 77 kDa'luk büyük alt birimlere sahip izoform ise diğer dokulardan purifiye edilmiştir. Enzim, tripsinle proteolizise uğratıldığında, 77 kDa'luk altbirim 40 kDa ve 37 kDa'luk kısımlara ayrılır. Bu ayrılma sonucunda S-adenozil metiyonin (SAM) inhibisyonu ortadan kalkar, ancak enzimin katalitik aktivitesi değişmez. Yapılan çalışmalar sonucunda katalitik bölge olan 40 kDa'luk N-uç bölgenin substrat ve koenzim bağlama kısımlarına sahip olduğu, regülatör bölge olan 37 kDa'luk C-uç bölgesinin ise, SAM bağlama kısmına sahip olduğu gösterilmiştir. Memeli enzimi kendisine nonkovalent olarak bağlı flavin adenin dinükleotit koenzimi içerir. Bu koenzim, nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın metilentetrahidrofolata transferini sağlar. Metilentetrahidrofolat redüktaz, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir ve 656 aminoasitten oluşur. Metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi, homosisteinin remetilasyon döngüsünde (homosistein, transsülfürasyon ve remetilasyon yollarını kullanarak metabolize olur) görev yapar. Metilentetrahidrofolat redüktaz, 5,10-metilen THF'ı geri dönüşümsüz olarak 5-metil THF'a dönüştürür (Şekil 1). 5-metil tetrahidrofolat; DNA metilasyonu ve

metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. Bunun için 5-metil THF, metil grubunu vererek homosisteinin dönüşümünde rol oynar. 5,10- metilen tetrahidrofolat ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'a okside olmaktadır. Metilentetrahidrofolat redüktaz geninde meydana gelen bir mutasyon enzim aktivitesini azaltmaktadır. Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5- metil THF düzeyi azalmakta, 5,10-metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır. Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği bildirilmektedir (48).

### **2.2.3. Metilentetrahidrofolat redüktaz geninin yapısı ve özellikleri**

Metilentetrahidrofolat redüktaz geninde görülen bazı mutasyonlar, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur (40). Yapılan DNA çalışmalarıyla insan ve fare MTHFR geninin yapısı araştırılmıştır. Her iki gen de 11 ekzon içermekte olup, ekzon uzunluğu ve ekzonintron sınırları benzer özellik göstermektedir. İnsan MTHFR geni kromozom 1p36.3'de yer alır ve bu genin N-terminal ucunun yapısı tamamen açıklanamamıştır. İnsan genomik klonunun (17 kb), 2.2 kb uzunluğundaki MTHFR cDNA sekansının tamamını içerdiği belirlenmiştir (49). İnsan ve fare MTHFR geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda MTHFR geninde 15 farklı mutasyon belirlenmiştir (44). Bu mutasyonlardan, vasküler hastalık, nöral tüp defektleri ve kolon kanseri ile yakından ilişkili olduğu açıklanan C677T polimorfizmi, enzimin katalitik bölgesinde, özellikle nöral tüp defektlerinde etkili olan A1298C polimorfizmi ise enzimin regülatör bölgesinde ortaya çıkmaktadır (50, 51).



Şekil 1. Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin iki döngü arasındaki rolü.

#### 2.2.4. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T polimorfizmi

C677T polimorfizmi, MTHFR proteinin N terminal katalitik bölgesini etkileyen 4. ekzonda meydana gelir. Metilentetrahidrofolat redüktaz C677T polimorfizminde, MTHFR enzimini kodlayan gende 222. nükleotid olan C (Sitozin)'in →T (Timin)'e değişimi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonu vardır. Bu mutasyon, genin ürünü olan proteinin 429. pozisyonunda Alanin'in yerine Valin'in geçmesine neden olarak MTHFR aktivitesini azaltır (52). Azalan MTHFR aktivitesi, 5-metil THF seviyesinde azalmaya ve sonuçta homosisteinin metiyonine dönüşememesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artmaya neden olur. Metilentetrahidrofolat redüktazın C677T polimorfizminde, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T polimorfizminin, kardiyovasküler hastalıklar, nöral tüp kusurları, stroke, Down sendromu, meme ve endometrial kanser gibi hastalıklarda bir risk faktörü olduğu açıklanmıştır (48). 677TT allelinin akciğer kanseri, lösemi ve kolon kanserine karşı koruyucu bir potansiyeli olduğu açıklanmasına rağmen, aynı durumun endometrial ve ovarial kanser gibi diğer kanser tipleri için geçerli olmadığı açıklanmıştır.

(53, 54). C677T mutasyonunda MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir. Metilentetrahidrofolat redüktaz enzim eksikliğinde, homosisteinden metiyonin oluşumundaki bozukluk, organizmayı hem metiyonin azalmasına hem de homosistein birikiminin neden olduğu toksik etkilere maruz bırakır (48).

#### **2.2.5. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C polimorfizmi**

Metilentetrahidrofolat redüktaz geninde belirlenen başka bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan A (Adenin)'in→C (Sitozin)'e değişimi sonucu, MTHFR proteinindeki Glutamin'in→Alanin'e değişimine neden olan nokta mutasyonudur ve enzimin C-uç regülatör bölgesinde etkilidir. Bu mutasyonun varlığında da MTHFR aktivitesi azalır. A1298C polimorfizminin, plazma homosistein konsantrasyonundaki artışı MTHFR C677T polimorfizmi kadar etkilemediği ileri sürülse de, bu polimorfizmin önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır (50, 55). Nöral tüp defektli çocuklarda, bu mutasyonun görülme sıklığının yüksek olduğu açıklanmıştır (56). Homosistein'in kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde öneminin yanında 1298A→C mutasyonunun da kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (57).

#### **2.2.6. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C ve C677T polimorfizmlerinin kombinasyonu**

A1298C ve C677T polimorfizmlerinin sıklığı popülasyonlara göre ve yaşla birlikte önemli farklılık göstermektedir. A1298C ve C677T polimorfizmlerinin birlikte heterozigot olduğu durumda MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır. Bu aktivite, C677T polimorfizminin heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür. Metilentetrahidrofolat redüktaz 677T/1298C heterozigot durumunun birlikte bulunduğu bireylerde, nöral tüp defektlerinde önemli bir artış olduğu ileri sürülmüştür (56). Buna karşılık 677CC/1298AA homozigot normal bireylerde ALL gelişimi fazla iken, 677CT/1298AC heterozigot bireylerde, akut lösemi gelişiminin daha az görüldüğü bildirilmiştir (53). A1298C mutasyonu, MTHFR enziminin C-uç regülatör bölgesinde meydana gelmesine karşılık, C677T mutasyonu genin N-uç katalitik bölgesinde meydana gelmektedir. Bu nedenle de C677T mutasyonuna sahip bireylerde MTHFR enzim aktivitesi, A1298C mutasyonlu bireylerden daha düşüktür (56, 58, 59). Daha

önceki çalışmalarda da C677T polimorfizminin MTHFR aktivitesinde önemli bir etkiye sahip olduğu açıklanmıştır. 677TT genotipi, termolabil MTHFR enzim özelliğine sahiptir. A1298C polimorfizminde azalan enzim aktivitesine rağmen ısı inkübasyonundan sonra A1298C genotipleri arasında artan aktivasyon yüzdesinde önemli bir farklılık görülmediği için, bu polimorfizmin enzimin termostabilitesini etkilemediği bildirilmiştir. A1298C polimorfizminde MTHFR aktivitesinde önemli etkiler görülmesine rağmen ne 1298AC, ne de 1298CC genotipinde artan homosistein düzeylerine rastlanmamıştır. 677CC/1298AC ve 677CC/1298CC genotiplerinde MTHFR aktiviteleri, 677CC/1298AA genotip enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında sırasıyla %60-92 ve %52-66 olarak bulunmuştur. Heterozigot (677CT/1298AC) genotip durumunda MTHFR aktivitesi ise 677CC/1298AA genotipi ile karşılaştırıldığında, %36-62 olarak bulunmuştur (57).

#### **2.2.7. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C ve C677T polimorfizmleri ve ilişkili hastalıklar**

**2.2.7.1. Serebrovasküler hastalıklar:** Strok'lu olguların yaklaşık %20-50'sinde orta şiddette hiperhomosisteinemi ortaya çıkabilir. Strok'lu 900 olguyu içeren ve 1994'ten beri 24 çalışmanın yer aldığı bir meta-analiz çalışmasında, kontrollere göre strok'lu olguların, artan homosistein düzeylerine sahip olduğu belirlenmiştir (56). Morita ve ark.'nın (60) 256 stroklu olguda yaptığı bir çalışmada, TT genotipi ile strok arasında önemli derecede ilişki olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada plazma homosistein seviyelerinin, CC veya CT genotipli olgulara göre, TT genotipli olgularda daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

**2.2.7.2. Venöz tromboz:** Homosisteinin sülfidril grubunun, etkisi nedeniyle damar endotelinde zararlı etkilere neden olduğu bilinmektedir (56). Homosisteinin, damarlarda oluşturduğu bu hasar nedeni ile trombosit tüketimini arttırdığı, sonuçta da tromboza neden olduğu belirtilmiştir (61). Transsülfürasyon enzimi olan sistatyonin beta-sentetazın, homozigot eksikliği gibi diğer bir risk faktörü taşıyan bireyler arasında, MTHFR C677T'nin mutasyonu tromboembolizm için önemli bir risk faktörü olabilir (56). Yine konjenital trombolitik olgularda, faktör II 20210G\*A veya faktör V 1691G\*A mutasyonunun MTHFR C677T mutasyonu ile birlikte bulunmasının venöz tromboz riskini önemli derecede arttırdığı rapor edilmiştir (56, 61).

**2.2.7.3. Nöral tüp kusurları:** Mutant T allelinin, nöral tüp defektleri için risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir. Yine nöral tüp defektlerinde kan folat seviyesinin düşük



olması da önemli bir risk faktörüdür. Yapılan çalışmalar, MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri ile birlikte oluşan folat eksikliğinin, nöronal gelişimi etkilediği ve nöral tüp kusuru oluşumunu arttırdığını göstermiştir (40, 56, 62).

**2.2.7.4. Diyabetes mellitus:** Diyabetik nefropati, diabetes mellitusun yaygın bir durumudur. A1298C ve C677T insan MTHFR gen mutasyonlarının diyabetik nefropati ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu her iki mutasyonun diyabetik popülasyonlarda sıklığı yüksektir. Yapılan bir çalışmada, her iki polimorfizm açısından diyabetik nefropatisi olan ya da olmayan olgularda, allel sıklığı ile genotip dağılımı açısından önemli bir farklılık bulunamamıştır. Ancak serum folat düzeyi 15,4 nmol/l'den küçük olan olgularda diyabetik nefropati insidansı oldukça yüksek bulunmuştur (55).

**2.2.7.5. Kanser:** Metilentetrahidrofolat redüktaz polimorfizminden kaynaklanan azalmış enzim aktivitesi, tümör süpressör genlerin stabilitesini ve hipometilasyonunu etkiler. Akciğer kanserli olgu örnekleri ile yapılan çalışmalarda, C677T allelinin, bir tümör süpressör gen olan p16'nın ekspresyonunun artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (53, 56). C677T allelinin, muhtemelen, yeterli folat alımı ile bireylerde timin ve pürin sentezi için artan 5,10 metilen THF düzeyi oluşturarak, kolorektal kanser riskini azalttığı ileri sürülmüştür (39, 63). Servikal intraepitelial kanserli olgular ile yapılan bir çalışmada da 677TT ve CT genotip sıklığının yüksek olduğu bildirilmiştir (54). Yang ve ark. (64) tarafından 231 çocuk ve 130 erişkin ALL tanılı olguda yapılan çalışmada folat ile ilişkili polimorfizmler (C677T ve A1298C) ile ALL gelişme riski araştırılmış, bu polimorfizmlerin erişkin ALL gelişmesinde risk oluşturduğu, çocukluk çağı ALL'de bu yönde veri elde edilemediği tespit edilmiştir. Yirmi bir yayının incelendiği, Yan ve ark.'nın (52) yaptığı bir metaanaliz çalışmasında; MTHFR geni C677T polimorfizmi ile çocukluk çağı ALL riskinde azalma tespit edilirken A1298C polimorfizmi ile ilişki gösterilememiştir. Bu çalışmada; C677T genotipleri arasında serum ya da plazma folat konsantrasyonunda bulunan önemli farklılıkların A1298C'de olmadığı, bunun da C677T genotipi taşıyanlarda MTHFR aktivitesindeki azalmanın A1298C genotipli olanlara göre neden daha fazla olduğunu açıklayabileceği ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, ALL riskine karşı C677T polimorfizmindeki T allelin koruyucu olduğu vurgulanmıştır. Olgu ve kontrol grupları arasında MTHFR geni C677T polimorfizmi sıklığı açısından fark bulunmayan 52 kronik miyeloid lösemili olgu grubunda yapılan çalışmada, polimorfizm ile kronik miyeloid lösemi arasında ilişki tespit edilmemiştir (65).

### **2.2.8. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni A1298C ve C677T polimorfizmleri ve ilaç metabolizmaları arasındaki etkileşim**

Birçok ilaç folat seviyesine etki ederek total homosistein seviyesini arttırabilmektedir. Bu ilaçlar arasında öncelikle klasik antifolat olan metotreksat, trimetoprim, sülfasalazin, fenitoin, karbamazepin ve valproik asit gibi ilaçlar bulunur.

#### **2.2.8.1. Metotreksat**

##### **2.2.8.1.1. Farmakolojisi ve farmakokinetiği**

Metotreksat bir folik asit anoloğudur. Diyetle alınan folinik asit, dihidrofolat redüktaz enzimi ile dihidrofolat ve THF'a indirgenir. Bu indirgenmiş folatlar, homosisteinin metionine dönüşümü, histidin metabolizması, pürin sentezi ve DNA sentezi için gerekli olan timidilat sentezinde rol alırlar (Şekil 1). Bir antimetabolit olan metotreksat, dihidrofolat redüktaza geriye dönüşümlü bağlanarak onu inaktive eder. Sonuç olarak, timidilat ve inosinik asit sentezinin yanı sıra, glisinin serine, homosisteinin de metionine dönüşümü engellenir ve böylece protein sentezi bozulur (66).

##### **2.2.8.1.2. Metotreksat ve metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmleri arasındaki ilişki**

Metotreksat'ın sitotoksik etkisini oluşturmada ana rol oynayan enzimlerden olan MTHFR enziminin düzeylerindeki kişisel farklılıkların hem ilaç etkinliğini hem de toksisitesini etkileyebileceği düşünülmüştür. Metilentetrahidrofolat redüktaz enzim aktivitesinin düşüklüğünde yolak, timidilat sentaz yönüne kaymakta ve timidilat sentaz aktivitesini artırmaktadır. Bu enzim metotreksatın hedef enzimlerindendir ve timidilat sentaz aktivitesinin artışı metotreksat direnci ile bu da metotreksat etkinliğinin azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalardan biri Costea ve ark. (67) tarafından yayımlanmıştır. Metilen tetrahidrofolat redüktaz ve metilen tetrahidrofolat dehidrogenaz (MTHFD1) polimorfizmlerinin tedavi cevabına etkileri 'Dana-Farber Cancer Institute (DFCI) protokolüne göre tedavi gören 186 ALL'li olguda araştırılmış, MTHFR 677T polimorfizminde olaysız sağkalım daha düşük bulunmuştur.

Her iki genetik değişikliğe de timidilat sentaz 3R polimorfizminin eşlik etmesi durumunda, artmış timidilat sentaz düzeyleri ile beraber, olaysız sağkalımda daha da yüksek derecede bir düşüş gözlenmiştir. Kantar ve ark.'nın (59) ALL ve non-Hodgkin lenfomalı 37 olguda yaptıkları çalışmada; MTHFR C677T ile MTX toksisitesi arasında ilişki bulunamazken, MTHFR A1298C polimorfizmi ile anemi, trombositopeni, febril nötropeni ve yüksek aspartat transaminaz (AST) değerleri arasında ilişki tespit edilmiştir.

Bu polimorfizmlerin toksisiteye etkisi de klinik çalışmalarla araştırılmıştır. Metilentetrahidrofolat redüktaz enzim aktivitesinde azalma ile 5-metil THF havuzu azalmakta ve daha az homosistein metilasyonuna ve daha az oranda DNA metilasyonuna neden olmaktadır. Bu mekanizmanın da MTX toksisitesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Metotreksat tedavisi sonrası serebrospinal sıvıda homosistein yüksekliği ve 5- metil THF seviyesindeki azalma çalışmalarla gösterilmiş olup, MTX'e bağlı gelişen nörotoksisitenin hiperhomosisteinemiye bağlı olduğu düşünülmüştür (6468). Bu polimorfizmin toksisiteye etkisi kemik iliğı transplantasyon olgularında GVHD'ı önlemek amacıyla kullanılan MTX için de değerlendirilmiştir. Akut ve kronik lösemi nedeniyle kemik iliğı transplantasyonu uygulanan olgulardan MTHFR C677T polimorfizmine sahip olanlarda engrafman süresinin anlamlı derecede uzadığı fakat GVHD sıklığı ya da toksisite üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (69).

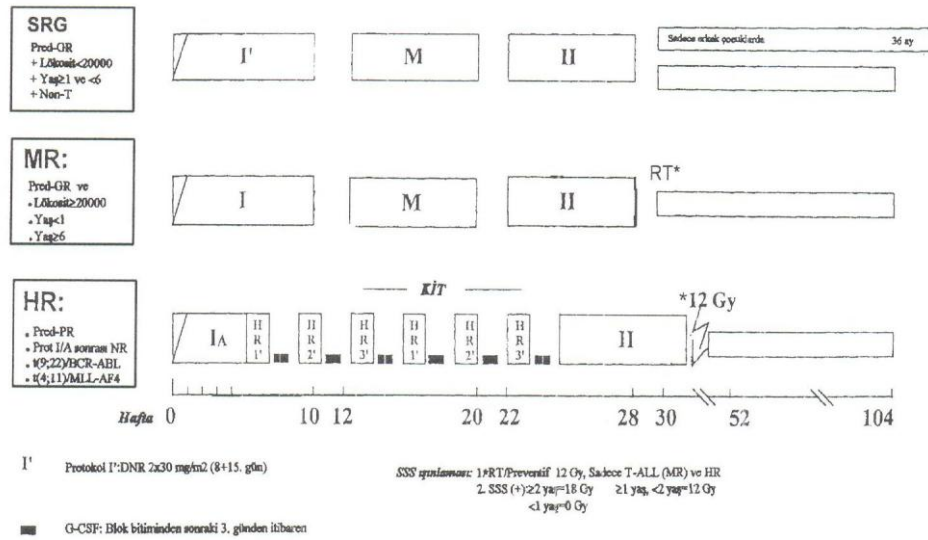
### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırmanın türü

Bu araştırma ALL tanısı almış olan olgularda MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin tedavi üzerine etkilerini araştıran, Atatürk Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalı Kliniği ve Polikliniği'nde yapılan geriye ve ileriye dönük bir çalışmadır.

#### 3.2. Çalışma grubunun seçilmesi

Çalışmaya Ocak 2011- Ekim 2011 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji Kliniği tarafından takip ve tedavisi yapılmakta olan ALL'li olgular dahil edildi. Çalışma grubuna ALL tanısı konulmuş ve TRALL BFM 2000 protokolü ile tedavi edilen 39 olgu alındı. Bu tedavi protokolü indüksiyon ve idame tedavisi olmak üzere 2 ana bölümden oluşmaktadır. İndüksiyon tedavisi ilk 6 aylık bölümü kapsamakta, sırası ile protokol 1, protokol M ve protokol 2 bölümlerinden oluşmaktadır. Protokol 1'de tedavide; prednizolon, vinkristin, daunorubisin, L-ASP, sitarabin, 6-MP, siklofosamid kullanılmakta, intratekal MTX verilmektedir. Protokol M; 6-MP, 4 kez verilen yüksek doz MTX (1 veya 5 gr/m<sup>2</sup>) ve intratekal MTX'ten oluşmaktadır. Protokol 2'de deksametazon, sitarabin, vinkristin, doksorubisin, L-ASP, siklofosamid, 6-tioguanin kullanılmaktadır. Tedavi, idame tedavisinde haftalık kullanılan MTX ve günlük kullanılan 6-MP ile 2 yıla tamamlanmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. TRALL BFM 2000 genel tedavi planı.

Tedavi protokolü başlandıktan sonra tedaviye ara vermeyi gerektirecek enfeksiyon, karaciğer ve böbrek yetmezliği, oluşan hematolojik toksisiteler ayrıntılı olarak incelenerek kayıt tutuldu ya da tedavisi biten olgularda hastane kayıtları ve dosyalar incelendi. Hematolojik ve hepatotoksik toksisite *NCI version 3.0* (<http://ctep.cancer.gov/reporting/ctcnew.html>) kriterlerine göre tanımlandı. Bu kriterlere göre; grade 0, toksisite olmayan; grade 1 ve grade 2 hafif toksisite; grade 3 ve grade 4 ağır toksisite olarak tanımlandı. Beyaz küre (BK) sayısı, AST ve alanin transaminaz (ALT) değerleri NCI kriterlerine göre değerlendirilirken, hematolojik toksisitenin hemoglobin (Hb) ve trombosit ile ilgili bölümü tedavi süresindeki transfüzyon sayıları ile değerlendirildi.

### **3.3. Polimorfizmlerin çalışılması için örneklerin toplanması ve saklanması**

Çalışma grubundaki olgulardan etilen diamin tetra asetik asitli tüpe 2 cc periferik kan alındı. Alınan bu kandan pipet ile 200 µL alınarak DNA izolasyonu için MagNA Pure Compact isimli S/N MPCB0658 seri nolu (Japonya) DNA izolasyon cihazına yerleştirildi ve konulan kanlardan DNA izole edildi. İzole edilen DNA örnekleri toplanarak 1 ay içinde çalışılacak ise + 4 °C’de, 1 aydan uzun sürede çalışılacak ise - 20 °C’de saklandı.

### **3.4. Polimorfizmlerin çalışılması**

C677T ve A1298C gen polimorfizmleri, alınan olgu kan örneklerinden elde edilen DNA örneklerinden özel kitler (NLM Diagnostici; nükleer laser medicine, İtalya) ile real time polimeraz zincirleme tepkimesi (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılarak tespit edildi.

### **3.5. Diğer laboratuvar incelemeleri**

Toksisite değerlendirmesine esas olan tüm karaciğer, böbrek fonksiyon testleri ve tam kan sayımı değerleri dosya kayıtlarından elde edildi.

### **3.6. Tedavideki gecikmenin değerlendirilmesi**

Olguların almış oldukları tedavideki protokol 1, protokol M, protokol 2 ve idame tedavilerinin her birinin bitimi ile diğerinin başlangıç günü arasında 15 günlük aralar bulunmaktadır. Olguların tedavilerindeki toplam gecikme günü hesaplanırken olağan verilen aralar hariç olan gecikme günleri hesaplanmıştır.

### 3.7. İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için veriler “Scientific Package for Social Sciences” (SPSS 15.0) programına yuklenerek çözümler bu program üzerinden yapıldı. Çalışma grubunun yaş ve cinsiyet özellikleri, ağır toksisite oranları Chi-Square testiyle; tanı sırasındaki hematolojik ve biyokimyasal değerlerle, tedavi gecikme süreleri ve transfüzyon sayıları Mann Withney U testiyle (Kolmogorov Smirnov testiyle dağılım normal olmadığı için) karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılığı yansıtan değer olarak  $p<0.05$  seçildi.

#### 4. BULGULAR

Ocak 2011-Ekim 2011 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji Kliniği tarafından ALL tanısı konulan ve TRALL BFM 2000 protokolü tedavisi almış ve almakta olan, yaşları 17-180 ay (ortanca: 47) arasında değişen, 21'i (%53,8) kız, 18'i (%46,2) erkek 39 olgu değerlendirildi.

Olgulardan ikisinin (%5,1) MTHFR geni C677T polimorfizmine, 5'inin de (%12,8) A1298C polimorfizmine homozigot sahip olduğu, 5 olgunun ise C677T veya A1298C polimorfizmlerini taşımadığı tespit edildi (Tablo 7).

Tablo 7. Olguların C677T ve A1298C polimorfizmleri mutant allellik durumu.

| Polimorfizm                | n (%)     |
|----------------------------|-----------|
| C677T                      |           |
| Mutant allel (MA) yok (CC) | 20 (51,3) |
| Tek MA (CT)                | 17 (43,6) |
| İki MA (TT)                | 2 (5,1)   |
| A1298C                     |           |
| MA yok (AA)                | 15 (38,5) |
| Tek MA (AC)                | 19 (48,7) |
| İki MA (CC)                | 5 (12,8)  |
| C677T veya A1298C          |           |
| MA yok                     | 5 (12,8)  |
| C677T+A1298C               | 9 (23,1)  |

A1298C polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olguların, tanı sırasındaki laboratuvar testlerinden BK ve trombosit sayısı, Hb düzeyi, AST, ALT, laktat dehidrogenaz (LDH), kan üre azotu (BUN), kreatinin, sedimentasyon, ferritin ve ürik asit değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 8).

Tablo 8. A1298C polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olguların tanıdaki laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması.

| A1298C polimorfizmi          |                                  |                                   |          |
|------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------|
|                              | Taşıyan olgular                  | Taşımayan olgular                 | <i>p</i> |
|                              | Ortalama±SD<br>(min-max)         | Ortalama±SD<br>(min-max)          |          |
| BK (mm <sup>3</sup> )        | 55575,0±98341,0<br>(1300-446000) | 22472,7±22355,7<br>(3500-83000)   | 0,874    |
| Hb (g/dL)                    | 8,3±2,8 (3,4-12,9)               | 8,3±3,4 (4,1-14,9)                | 0,817    |
| Trombosit (mm <sup>3</sup> ) | 94833,3±91153,3<br>(6000-306000) | 91466,7±76376,8<br>(11000-230000) | 0,965    |
| AST (U/L)                    | 56,0±53,0 (17-204)               | 101,3±243,3 (18-978)              | 0,862    |
| ALT (U/L)                    | 40,2±52,4 (8-215)                | 91,1±250,6 (10-994)               | 0,784    |
| LDH (IU/L)                   | 2362,0±4924,9<br>(204-20924)     | 745,0±362,3<br>(352-1561)         | 0,729    |
| BUN (mg/dL)                  | 14,1±7,3 (3,7-37,4)              | 13,8±2,9 (10,0-18,3)              | 0,488    |
| Kreatinin (%mg)              | 0,4±0,3 (0,2-1,6)                | 0,4±0,2 (0,2-0,8)                 | 0,668    |
| Sedimentasyon (mm/h)         | 71,8±41,6 (352-1561)             | 51,4±41,1 (2-140)                 | 0,126    |
| Ferritin (ng/mL)             | 1019,4±1252,1<br>(165-4580)      | 1046,1±1053,8<br>(103-3680)       | 0,829    |
| Ürik asit (mg/dL)            | 5,9±2,8 (2-11,8)                 | 6,0±2,0 (2,4-10,8)                | 0,554    |

Tanıdaki laboratuvar değerlerinin C677T polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olgular arasındaki karşılaştırılmasında da istatistiksel anlamlılık bulunamadı (Tablo 9).



Tablo 9. C677T polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olguların tanıdaki laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması.

| C677T polimorfizmi           |                                   |                                  |          |
|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------|
|                              | Taşıyan olgular                   | Taşımayan olgular                | <i>p</i> |
|                              | Ortalama±SD<br>(min-max)          | Ortalama±SD<br>(min-max)         |          |
| BK (mm <sup>3</sup> )        | 26073,2±49190,0<br>(1400-192000)  | 58775,0±98827,3<br>(1300-446000) | 0,136    |
| Hb (g/dL)                    | 7,8±3,2 (3,4-14,9)                | 8,8±2,8 (4,2-14)                 | 0,261    |
| Trombosit (mm <sup>3</sup> ) | 111000,0±85695,2<br>(7000-298000) | 76950,0±82524,3<br>(6000-306000) | 0,238    |
| AST (U/L)                    | 90,9±217,0 (17-978)               | 56,9±53,3 (17-204)               | 0,944    |
| ALT (U/L)                    | 77,3±222,8 (8-994)                | 43,2±57,0 (8-215)                | 0,583    |
| LDH (IU/L)                   | 1749,5±3277,1<br>(236-13499)      | 1731,8±4533,7<br>(204-20924)     | 0,536    |
| BUN (mg/dL)                  | 15,4±7,0 (6,5-37,4)               | 12,7±4,5 (3,7-24,0)              | 0,148    |
| Kreatinin (%mg)              | 0,5±0,3 (0,2-1,6)                 | 0,4±0,2 (0,2-0,8)                | 0,954    |
| Sedimentasyon (mm/h)         | 66,5±46,1 (9-140)                 | 61,5±38,9 (2-140)                | 0,899    |
| Ferritin (ng/mL)             | 990,5±875,6<br>(177-3150)         | 1066,0±1409,6<br>(103-4580)      | 0,319    |
| Ürik asit (mg/dL)            | 5,9±2,6 (2,4-11,8)                | 6,0±2,4 (2,0-10,5)               | 0,694    |

Olgular, tedavi sırasında gelişen hematolojik ve hepatik toksisite açısından protokol 1'in 8. ve 33. günü, protokol M 50. günü, protokol 2'nin sonu, idame tedavisinin 1, 2 ve 3. aylarının sonundaki laboratuvar değerlerine göre değerlendirildi. Beyaz küre, AST ve ALT değerlerinde NCI kriterlerine göre ağır toksisiteye sahip olgular, C677T ve A1298C polimorfizmlerini ayrı ayrı taşıyıp taşımamalarına göre değerlendirildiğinde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 10 ve Tablo 11).

Tablo 10. C677T polimorfizmine sahip olan ve olmayan olgularda ağır toksisite görölme sıklığının değeriendirilmesi.

|                    | C677T polimorfizmi     |                          | <i>p</i> |
|--------------------|------------------------|--------------------------|----------|
|                    | Taşıyan olgular, n (%) | Taşımayan olgular, n (%) |          |
| 8. gün             |                        |                          |          |
| BK                 | 6/19 (31,6)            | 9/20 (45)                | 0,389    |
| AST                | 2/19 (10,5)            | 3/20 (15)                | 0,676    |
| ALT                | 5/19 (26,3)            | 2/20 (10)                | 0,184    |
| 33. gün            |                        |                          |          |
| BK                 | 6/19 (31,6)            | 6/20 (30)                | 0,915    |
| AST                | 1/19 (5,3)             | 1/20 (5)                 | 0,970    |
| ALT                | 1/19 (5,3)             | 4/20 (20)                | 0,169    |
| Protokol M 50. gün |                        |                          |          |
| BK                 | 5/19 (26,3)            | 6/20(30)                 | 0,798    |
| AST                | 1/19 (5,3)             | 0/20 (0)                 | 0,299    |
| ALT                | 2/19 (10,5)            | 0/20 (0)                 | 0,136    |
| Protokol 2 sonu    |                        |                          |          |
| BK                 | 15/19 (79)             | 16/20 (80)               | 0,935    |
| AST                | 0/19 (0)               | 1/20 (5)                 | 0,323    |
| ALT                | 1/19 (5,3)             | 4/20 (20)                | 0,169    |
| İdame 1. ay        |                        |                          |          |
| BK                 | 2/19 (10,5)            | 1/20 (5)                 | 0,517    |
| AST                | 0/19 (0)               | 0/20 (0)                 | -        |
| ALT                | 1/19 (5,3)             | 1/20 (5)                 | 0,970    |
| İdame 2. ay        |                        |                          |          |
| BK                 | 2/18 (11,1)            | 4/20 (20)                | 0,453    |
| AST                | 0/18 (0)               | 0/20 (0)                 | -        |
| ALT                | 0/18 (0)               | 3/20 (0)                 | 0,087    |
| İdame 3. ay        |                        |                          |          |
| BK                 | 1/17 (5,9)             | 2/20 (10)                | 0,647    |
| AST                | 0/17 (0)               | 1/20 (5)                 | 0,350    |
| ALT                | 1/17 (5,9)             | 2/20 (10)                | 0,647    |

Tablo 11. A1298C polimorfizmine sahip olan ve olmayan olgularda ağır toksisite görülme sıklığının değerlendirilmesi.

|                    | A1298C polimorfizmi |                  | <i>p</i> |
|--------------------|---------------------|------------------|----------|
|                    | Taşıyan, n (%)      | Taşımayan, n (%) |          |
| 8. gün             |                     |                  |          |
| BK                 | 10/24 (41,7)        | 5/15 (45)        | 0,603    |
| AST                | 2/24 (8,3)          | 3/15 (20)        | 0,289    |
| ALT                | 3/24 (12,5)         | 4/15 (26,7)      | 0,262    |
| 33. gün            |                     |                  |          |
| BK                 | 6/24 (25)           | 6/15 (40)        | 0,323    |
| AST                | 1/24 (4,2)          | 1/15 (6,7)       | 0,731    |
| ALT                | 2/24 (8,3)          | 3/15 (20)        | 0,289    |
| Protokol M 50. gün |                     |                  |          |
| BK                 | 6/24 (25)           | 5/15(33,3)       | 0,574    |
| AST                | 1/24 (4,2)          | 0/15 (0)         | 0,423    |
| ALT                | 1/24 (4,2)          | 1/15 (6,7)       | 0,731    |
| Protokol 2 sonu    |                     |                  |          |
| BK                 | 19/24 (79,2)        | 12/15 (80)       | 0,950    |
| AST                | 0/24 (0)            | 1/15 (6,7)       | 0,200    |
| ALT                | 4/24 (16,7)         | 1/15 (6,7)       | 0,363    |
| İdame 1. ay        |                     |                  |          |
| BK                 | 2/24 (8,3)          | 1/15 (6,7)       | 0,849    |
| AST                | 0/24 (0)            | 0/15 (0)         | -        |
| ALT                | 1/24 (4,2)          | 1/15 (6,7)       | 0,731    |
| İdame 2. ay        |                     |                  |          |
| BK                 | 4/24 (16,7)         | 2/14 (14,3)      | 0,846    |
| AST                | 0/24 (0)            | 0/14 (0)         | -        |
| ALT                | 2/24 (8,3)          | 1/14 (7,1)       | 0,896    |
| İdame 3. ay        |                     |                  |          |
| BK                 | 2/23 (8,7)          | 1/14 (7,1)       | 0,867    |
| AST                | 1/23 (4,3)          | 0/14 (0)         | 0,429    |
| ALT                | 3/23 (13,0)         | 0/14 (0)         | 0,159    |

Metilentetrahidrofolat redüktaz geninde her iki polimorfizmin birlikte bulunmasının tedaviye bağı toksisiteyi etkileyip etkilemediği de araştırıldı. Tedavinin yukarıda belirtilen dönemlerinde ağır toksisite gelişen olguların oranı, C677T ve A1298C polimorfizmlerinin her ikisini de birlikte taşıyan olgularda, bunlardan sadece birini taşıyan ya da hiç birine sahip olmayan olgulardan farklı değildi (Tablo 12).

Tablo 12. C677T ve A1298C polimorfizmlerinin birlikteliğinde ağır toksisite varlığının değerlendirilmesi.

| C677T ve A1298C polimorfizmlerinin birlikteliği |                    |                            |          |
|-------------------------------------------------|--------------------|----------------------------|----------|
|                                                 | MA birlikte, n (%) | Tek MA ya da MA yok, n (%) | <i>p</i> |
| 8. gün                                          |                    |                            |          |
| BK                                              | 2/9 (22,2)         | 13/30 (43,3)               | 0,254    |
| AST                                             | 0/9 (0)            | 5/30 (16,7)                | 0,190    |
| ALT                                             | 1/9 (11,1)         | 6/30 (20)                  | 0,542    |
| 33. gün                                         |                    |                            |          |
| BK                                              | 3/9 (33,3)         | 9/30 (30)                  | 0,849    |
| AST                                             | 0/9 (0)            | 2/30 (6,7)                 | 0,426    |
| ALT                                             | 0/9 (0)            | 5/30 (16,7)                | 0,190    |
| Protokol M 50. gün                              |                    |                            |          |
| BK                                              | 2/9 (22,2)         | 9/21(42,9)                 | 0,649    |
| AST                                             | 1/9 (11,1)         | 0/30 (0)                   | 0,064    |
| ALT                                             | 1/9 (11,1)         | 1/29 (3,4)                 | 0,426    |
| Protokol 2 sonu                                 |                    |                            |          |
| BK                                              | 0/9 (0)            | 1/29 (3,4)                 | 0,354    |
| AST                                             | 8/9 (88,9)         | 23/30 (76,7)               | 0,579    |
| ALT                                             | 1/9 (11,1)         | 4/30 (13,3)                | 0,861    |
| İdame 1. ay                                     |                    |                            |          |
| BK                                              | 1/9 (11,1)         | 2/30 (6,7)                 | 0,661    |
| AST                                             | 0/9 (0)            | 0/30 (0)                   | -        |
| ALT                                             | 0/9 (0)            | 2/30 (6,7)                 | 0,426    |
| İdame 2. ay                                     |                    |                            |          |
| BK                                              | 1/9 (11,1)         | 5/29 (17,2)                | 0,660    |
| AST                                             | 0/9 (0)            | 0/29 (0)                   | -        |
| ALT                                             | 0/9 (0)            | 3/29 (10,3)                | 0,315    |
| İdame 3. ay                                     |                    |                            |          |
| BK                                              | 1/8 (12,5)         | 2/29 (6,9)                 | 0,607    |
| AST                                             | 0/8 (0)            | 1/29 (3,4)                 | 0,594    |
| ALT                                             | 1/8 (12,5)         | 2/29 (6,9)                 | 0,607    |

Olguların izlem süresince almış oldukları eritrosit ve trombosit süspansiyonu transfüzyon sayılarının gruplar arasında farklı olup olmadığı araştırıldı. Ancak hem C677T hem de A1298C polimorfizmi taşıyan olgulardaki transfüzyon ihtiyacı, polimorfizmi taşımayanlardan farklı değildi. Her iki polimorfizmi birlikte taşıyan grubun transfüzyon sayıları da, herhangi bir mutasyonu bulunmayan ya da sadece bir polimorfizm taşıyan grupla benzerdi (Tablo 13).

Tablo 13. İzlem süresince yapılan transfüzyon sayılarının karşılaştırılması.

|                         | Taşıyan olgular                | Taşımayan olgular              |          |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------|
|                         | Ortalama $\pm$ SD<br>(min-max) | Ortalama $\pm$ SD<br>(min-max) | <i>p</i> |
| A1298C polimorfizmi (n) | 24                             | 15                             |          |
| Eritrosit süsp.         | 8,5 $\pm$ 3,0<br>(4-18)        | 9,6 $\pm$ 4,1<br>(5-19)        | 0,749    |
| Trombosit süsp.         | 7,5 $\pm$ 2,8<br>(3-14)        | 8,4 $\pm$ 3,1<br>(4-16)        | 0,321    |
| C677T polimorfizmi (n)  | 19                             | 20                             |          |
| Eritrosit süsp.         | 8,2 $\pm$ 2,9<br>(4-14)        | 9,6 $\pm$ 3,9<br>(5-19)        | 0,218    |
| Trombosit süsp.         | 7,8 $\pm$ 2,9<br>(4-14)        | 7,9 $\pm$ 3,0<br>(3-16)        | 0,996    |
| A1298C + C677T (n)      | 9                              | 30                             |          |
| Eritrosit süsp.         | 7,4 $\pm$ 2,4<br>(4-12)        | 9,4 $\pm$ 3,6<br>(5-19)        | 0,173    |
| Trombosit süsp.         | 7,5 $\pm$ 3,4<br>(4-14)        | 8,0 $\pm$ 2,8<br>(3-16)        | 0,522    |

Olguların incelendiği yaklaşık 1 yıllık dönemde tedavideki toplam gecikme 46,7 $\pm$ 33,3 (min-max: 0-145) gün idi. C677T ve A1298C polimorfizmlerine sahip olguların tedavisindeki ortalama gecikme süresi sırası ile 47,8 $\pm$ 34,2 gün, 43,3 $\pm$ 36,4 gün olarak bulundu. C677T ve A1298C polimorfizmlerine ayrı ayrı sahip olan ve olmayan olgular karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamadı. Her iki polimorfizm birlikte değerlendirildiğinde; her iki polimorfizme sahip olan ve tek MA taşıyan ya da taşımayan olgular karşılaştırıldığında tedavideki toplam gecikme süresinde anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 14).

Tablo 14. C677T, A1298C polimorfizmleri ile tedavideki gecikme gününün değerlendirilmesi.

|                           | Taşıyan olgular          | Taşımayan olgular        |          |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|----------|
|                           | Ortalama±SD<br>(min-max) | Ortalama±SD<br>(min-max) | <i>p</i> |
| C677T polimorfizmi        | 47,8±34,2 (0-124)        | 45,6±33,2 (12-145)       | 0,736    |
| A1298C polimorfizmi       | 43,3±36,4 (0-145)        | 52,1±27,9 (10-99)        | 0,175    |
| C677T+A1298C polimorfizmi | 44,8±41,8 (0-124)        | 47,3±31,0 (10-145)       | 0,537    |

## 5. TARTIŞMA

Bireylerin genetik yapılarındaki farklılık antineoplastik kemoterapiye verdikleri cevabı ve bu tedaviyle görülen yan etkileri önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bu genetik farklılık nedeniyle antineoplastik kemoterapide tedavinin bireyselleştirilmesi ve maliyniteli olgularda farmakogenetik çalışmalar yapılması gündeme gelmiştir. Farmakogenetik araştırmalarla, hastalıklarla ilişkilendirilen özgül gen ve gen ürünlerinin tanımlanması, ilaca verilen yanıtı etkileyen genlerin ve allellik varyantlarının tanımlanması ve bu tanımlamalardan elde edilen bilgilerle en uygun ilaç ve doz seçiminin yapılması ve bireye özgü tedavilerin geliştirilmesi hedeflenmektedir (70).

Çocukluk çağıının en sık görülen maliynitesi olan ALL'de, tedavi başarı şansı %80 gibi çok yüksek rakamlara ulaşmış olmasına rağmen tedavi sırasında meydana gelen çeşitli yan etkiler önemli morbitide ve mortaliteye neden olabilmektedir (3). Metotreksat, ALL tedavisinde hem yüksek doz uygulamaları hem de idame tedavisinde haftalık doz uygulamaları ile tedavideki önemini korumaktadır (67).

Farmakogenetik çalışmalarla MTX' in metabolik yolağında yer alan enzimlerde meydana gelebilecek genetik farklılıklar gibi etmenlerin MTX kullanımına bağlı olarak gelişebilen hematolojik, hepatotoksik ve gastrointestinal komplikasyonların oluşmasında risk faktörleri arasında olduğu rapor edilmiştir (71-73).

Yapılan araştırmalarla, MTX' in etki ve toksisite oluşturma özelliği üzerinde genetik faktörlere bağlı olan farklılıkların nedenleri tam olarak belirlenememesine rağmen, folat metabolizmasında yer alan enzimlerde meydana gelebilecek polimorfizmlerin bu farklılığın ortaya çıkmasına neden olabileceği rapor edilmektedir (74). Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin folat metabolizmasında yer alması ve homosisteinin metiyonine remetilasyonunu sağlayan enzimlerden bir tanesi olması nedeniyle MTX' in etkilerinin düzenlenmesinde güçlü bir aday olduğu belirtilmektedir (75). Akut lenfoblastik lösemili olgularda, MTHFR geninde en sık görülen C677T ve A1298C polimorfizmlerinin toksisite gelişmesi üzerine olan etkilerinin araştırılması amacıyla birçok çalışma yapılmış ancak farklı sonuçlar elde edilmiştir (6, 59, 66, 67, 71, 76).

Çalışmamızdaki olgular protokole göre indüksiyonun 2 aylık döneminde yüksek doz, idame tedavisinde düşük doz MTX almaktadırlar. Düşük doz MTX ile gelişen toksik etkiler ile MTHFR C677T gen polimorfizmi arasındaki ilişki çelişkilidir. Costea ve ark.'ları (67) tarafından DFCl'da 3 ayrı protokole göre tedavi alan 186 ALL tanılı çocuk olguda folik asit ile ilişkili gen mutasyonları ve tedavi toksisiteleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Her 3 protokolde de çalışmada incelenen konsolidasyon ve idame



tedavilerinde MTX'in 30 mg/m<sup>2</sup> dozunda, haftada bir verildiği, toksisitenin değerlendirilmesi için 1 hafta sonra tetkiklerin alınarak çalışıldığı ifade edilmiştir. Metilen tetrahidrofolat redüktaz C677T polimorfizmi ve siklin D1 (MTHFD1) polimorfizmlerinin birlikteliği ile hematolojik ve hematolojik olmayan toksisite gelişim riskinin yüksek olduğu, olaysız sağkalımın düşük olduğu bulunmuştur. Her iki genetik değişikliğe de timidilat sentaz 3R polimorfizminin eşlik etmesi durumunda, artmış timidilat sentaz düzeyleri ile beraber, olaysız sağkalımda daha fazla düşüş gözlenmiştir. Erişkin 82 ALL olgusunda yapılan bir çalışmada, idame tedavisinde haftalık uygulanan düşük doz MTX ile gelişen hematolojik ve hepatotoksik etkiler, relapssız ve olaysız sağkalım ile MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. A1298C polimorfizmine sahip olgularda tedavi ile ilişkili toksisite ve sağkalıma etkisinin olmadığı, 677TT genotipine sahip olgularda ise sağkalım oranında azalma ve yine aynı grupta tedavi ilişkili toksisite görüldüğü ifade edilmiştir (77). D'Angelo ve ark. (66) tarafından aynı etnik kökene sahip 151 ALL tanılı çocuk olguda yapılan çalışmada; MTHFR C677T ve A1298C allelleri ile yüksek doz MTX'in neden olduğu erken hematolojik veya non hematolojik toksisite arasındaki ilişki araştırılmış. Standart/orta ve yüksek risk olarak ayrılan olgular AIEOP ALL 91', '95 ve '00' protokolüne göre MTX'i 2 gr/m<sup>2</sup> ve 5 gr/m<sup>2</sup> olarak almışlar. Yapılan değerlendirmede 103 olguda NCI'ya göre hematolojik, hematolojik olmayan (çoğunlukla hepatik) ve kombine grade 3-4 toksisite tespit edilmiş. İki MTX tedavi grubunda MTHFR C677T ve global toksisite analiz edildiğinde, homozigot 677TT'ye sahip olgular arasında toksisite riski önemli derecede artmış bulunmuştur. Ayrıca relaps riskinin yüksek olduğu vurgulanmış, toksisite riski ile MTHFR A1298C varyantı arasında anlamlılık tespit edilmemiştir. Bizim çalışmamızda 677TT sadece 2 olguda olduğundan değerlendirme yapmak zor, ancak A1298C polimorfizmi taşıyanlarda fark saptamadık.

Kantar ve ark.'nın (59) çalışmasında non-Hodgkin lenfoma ve ALL tanılı 37 olguda yüksek doz MTX infüzyonu sonrası hepatotoksisite, kemik iliği toksisitesi, renal toksisite ve MTX düzeyi ile MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, C677T polimorfizmine sahip olguların 48. saatte bakılan MTX düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olmasına rağmen toksisite görülmediği fakat A1298C polimorfizmine sahip olguların MTX düzeyleri anlamlı derecede yüksek ve grade 3-4 anemi, trombositopeni, AST yüksekliği ve febril nötropeni sıklığında artış tespit edilmiştir. Biz olgularımızda MTX düzeyi ile MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmedik. Ancak Kantar ve ark.'nın A1298C polimorfizm ile bizim de değerlendirmiş olduğumuz toksisiteler arasında bulmuş

oldukları ilişkiyi bulamadık. Olgu sayılarımız benzer olmasına rağmen, Kantar ve ark.'nın çalışmasındaki olguların hepsinin almış oldukları MTX'in 5 gr/m<sup>2</sup>'den, bizim olgularımızın biri hariç hepsinin 1 gr/m<sup>2</sup>'den almış olması toksisite görmememizin bir nedeni olabilir.

Erişkin 82 ALL tanılı olguda MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin ALL oluşmasındaki duyarlılığı, idame tedavisi sırasındaki MTX toksisitesi, hastalık relapsı ve sağkalıma etkisi araştırılmıştır. Bu 82 olgu yaklaşık 2 yıllık tedavinin idame tedavisi sürecinde MTX'i 15-30 mg/m<sup>2</sup> arasında değişen dozlarda haftalık almıştı. Her iki polimorfizm ile ALL oluşma sıklığında bir artış olmadığı, ayrıca hastalık relapsı ve mortalite riskinde artış ile de ilişkilendirilmediği ifade edilmiştir. Ancak MTHFR geni 677TT polimorfizmine sahip grupta MTX tedavisi ile ilişkili toksisitenin daha fazla olduğu ve sağkalımın olumsuz etkilendiği ifade edilmiştir (6). Olgularımız bu çalışma ile karşılaştırıldığında çalışma grubunun yaşları dışında da bazı farklılıklar içermektedir. Bizim olgularımız indüksiyon tedavisi sırasında yüksek doz MTX almışken onların olguları sadece idame tedavisi aldıkları sırada değerlendirilmişlerdi. Ayrıca biz çalışmamızda her iki polimorfizmin sağkalıma etkisini araştırmadık. Yukarıda bahsedilen 677TT polimorfizmine sahip olgularımızda da, her ne kadar sayı az da olsa MTX'la ilişkili artmış toksisite izlenimi edinmedik.

Aplenc ve ark.'nın (78) çalışmasında; 520 ALL'li çocuk olgunun erkeklerde 38 ay, kızlarda 24 ay olan tedavinin idame döneminde 20 mg/m<sup>2</sup>'den aldıkları MTX'in neden olduğu tedavi ile ilişkili toksisite ve enfeksiyon ile MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki incelenmiş, ayrıca relapsın önceden tahmin edilmesinde etkili olup olmadıkları araştırılmıştır. A1298C polimorfizminin toksisite, enfeksiyon ve relaps ile ilişkisi bulunmazken, C677T polimorfizminin relapsın önceden tahmininde diğer belirteçlerden daha fazla öneme sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda her iki polimorfizmin relaps ile ilişkisini değerlendirmedik fakat MTX'i Aplenc ve ark.'nın çalışmasındakinden daha yüksek dozda vermemize rağmen toksisite ile ilişki tespit etmedik.

Bizim çalışmamızın konusu olmamasına karşın, MTHFR gen polimorfizmlerinin lösemi sıklığı ve prognozu üzerine etkisini araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin ALL gelişmesinde risk faktörü olup olmadığının incelendiği bir meta-analiz çalışmasında 21 makale incelenmiş olup 4706 kişiden oluşan olgu ve 7414 kontrol olgu değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede C677T polimorfizminin T allelinin ALL gelişim riskini azalttığı, MTHFR A1298C polimorfizminin böyle bir etkiye sahip olmadığı

bulunmuştur. Daha önceki meta-analizlerde C677T polimorfizmi ile böyle bir ilişki bulunamamasının; etnik olarak farklı allellerin sıklığı, farklı yaşam stillerinden kaynaklanan gen-çevre ve gen-gen etkileşimlerinden kaynaklandığı düşünülmüş fakat bu meta-analizde etnik farklılığın bulunmadığı ifade edilmiştir (52). Tong ve ark. (79) tarafından 4240 ALL tanılı olgu ve 9289 sağlıklı kontrol grubundan oluşan 28 çalışma incelenmiş, bu çalışmada; tüm popülasyonda 677CC genotipi ile karşılaştırıldığında 677TT genotipine sahip olgularda ALL gelişme riskinin azaldığı, bu azalmanın Kafkas popülasyonunda belirgin olduğu, Asya toplumunda azalma görülmediği ifade edilmiştir. İncelenen çalışmalarda MTHFR A1298C polimorfizmi ile ALL gelişme riski arasında bir ilişki bulunamamış olsa bile 1298CA genotipi AA genotipi ile kıyaslandığında AA genotipine sahip bireylerde ALL gelişim riskinin istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu bulunmuştur. Bu farklılıkların farklı etnik gruplar, gen-çevre etkileşimi, olgu seçimindeki önyargılar ve tutarsızlıkla ilgili olabileceği vurgulanmaktadır. Yayımlanan bu son meta-analiz çalışmasından önce yapılan çalışmalarda MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerinin ALL gelişme riskini artırdığının gösterildiği çalışmalar vardır. Slovenya toplumunda 140 ALL'li çocuk olgu ile yapılan kontrollü çalışmada, relapsız ALL ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında relaps ALL olgularında, düşük aktiviteli MTHFR genotiplerinin oranının daha az olduğu tespit edilmiştir (80). İki yüz otuz biri çocuk, 130'u erişkin olguda folat metabolizmasıyla ilgili polimorfizmler ile (C677T ve A1298C polimorfizmleri dahil) ALL gelişim riskinin araştırıldığı Çin toplumunda yapılan kontrollü bir çalışmada; erişkin olgularda riskin belirgin şekilde artmış olduğu fakat çocukluk yaş grubunda riskin bulunamadığı ifade edilmiştir (64). Kuzey Hindistan'da erişkin 275 lösemili olguda MTHFR C677T polimorfizmi ile lösemi insidansında artış incelenmiş, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da C677T polimorfizmine sahip olgularda lösemi insidansının yüksek olduğu tespit edilmiştir (81). Alcasabas ve ark.'nın (82) çalışmasında ALL'li 191 olgu MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerinin ALL oluşumunda artmış risk ile ilişkisi incelenmiş. Çoğu çalışmanın aksine C677T polimorfizmi ile artmış risk bulunamazken A1298C polimorfizmi ile artmış risk tespit edilmiştir. Bunun Filipinler'deki yüksek oranda görülen folat eksikliğinden ya da lösemi biyolojisinden kaynaklanmış olabileceği ifade edilmekte ve lökomogenezisde gen ve çevresel faktörlerin rolü yinelenmektedir.

Polonya'da 11 yerel bölgede ALL IC BFM 2002 protokolüne göre tedavi edilen 403 çocuk olguda, tedavide prognostik öneme sahip kemoteropatik ilaçların metabolizmasını etkileyen seçilmiş gen polimorfizmlerinin rolü değerlendirilmiştir. Çalışılan diğer polimorfizmlerin yanısıra MTHFR C677T polimorfizmi ile olguların ölüm

riskleri arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Ölen olguların yaklaşık %26'sı (ölen 31 olgunun 8'i) homozigot 677TT genotipine sahipken, yaşayan olguların sadece %8'inde bu genotipin pozitif olduğu ifade edilmektedir. Bu nedenle, C677T polimorfizmi için homozigot olan olgularda antilösemik tedavinin modifikasyonu önerilmektedir (83).

Kim ve ark. (74) allojeneik kök hücre nakli yapılan 72 çocuk olguda GVHD'yi önlemek için 1. gün 15 mg/m<sup>2</sup>, 3, 6 ve 11. günlerde 10 mg/m<sup>2</sup> dozunda verilen MTX'in neden olduğu hepatotoksisite, renal toksisite, granülosit ve trombosit iyileşme sürelerinin MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri ile ilişkisini araştırmışlardır. Olguların değerlendirildiği 30 günlük periyotta bilirubin seviyeleri ve AST değerlerinin 677TT genotipi taşıyanlarda daha yüksek olduğu bulunmuş, aynı ilişki A1298C polimorfizmi ile gösterilememiştir. Trombosit iyileşme sürecinin 677TT genotipi ile daha yavaş olduğu, granülosit iyileşme sürecinde etkili olmadığı, A1298C polimorfizminin hem granülosit hem de trombosit iyileşme sürecinde etkili olmadığı bulunmuştur. Her iki polimorfizmin renal toksisite ile ilişkisi gösterilememiştir. Her ne kadar bu çalışmada belirtilen C677T ve A1298C polimorfizmlerinin görülme sıklığının (sırası ile %40 ve %20,5) Asya toplumu ile benzerlik gösterdiği ifade edilse de bizim çalışmamızda A1298C polimorfizminin sıklığı 48,7 ile daha yüksekti. Ayrıca çalışmada değerlendirilen olgular allojeneik kök hücre nakli yapılan özel bir grubu kapsamakta ve nakilden sonraki ilk 30 gün gibi kısa bir süreyi içermekteydi. Dolayısıyla oluşan toksisitede nakil sonrası erken dönemde gelişebilecek diğer komplikasyonların da rolü olabileceği düşünülmelidir. Çünkü bizim olgularımız hem çok daha yüksek MTX dozlarına maruz kalmış hem de daha uzun süre izlenmiş olmalarına rağmen herhangi bir fark saptanmadı.

Çocukluk çağı maliyn lenfoması ve ALL tanılı olgularda MTX farmakokinetiği ve toksisitesi ile folat metabolizmasında yer alan gen polimorfizmlerinin ilişkisi araştırılmıştır. Aynı etnik kökenli yüksek doz MTX (5 gr/m<sup>2</sup>) alan 64 olgu (toplam 252 kür) değerlendirilmiştir. Çalışılan genetik polimorfizmler ile relaps ya da ölüm arasında ilişki bulunamazken, MTHFR 1298CC taşıyan olgularda lökopeni insidansında azalma, ayrıca MTHFR 677TT genotipine sahip olguların MTX klerensinde azalma olduğu, mukozit oranında da artış olduğu saptanmıştır. Tartışmada bu çalışmanın, farklı sonuçlar bildiren önceki çalışmalara göre çok geniş kapsamlı ve geniş bir seriye sahip olduğu vurgulanmaktadır (84). Bu çalışmayı destekleyen başka bir çalışma Imanishi ve ark. (73) tarafından yapılmış, yüksek doz MTX verilen ALL ve maliyn lenfomalı olgularda MTHFR 677TT genotipine sahip çocuk olguların 48. saatteki serum MTX düzeylerinin yüksek olduğu vurgulanmıştır. Çalışmamızda MTX düzeyleri ile

polimorfizmler arasındaki ilişkiye bakmadık fakat gelişen hematolojik ve hepatik toksisiteler ile polimorfizmler arasında da istatistiksel anlamlılık tespit etmedik.

Yüksek doz MTX ile alakalı toksisitenin sıklıkla tahmin edilemeyen klinik bir problem olduğunu vurgulayan Erculj ve ark. (72) tarafından yapılan, 167 çocuk olgunun değerlendirildiği çalışmada; MRHFR C677T polimorfizminin tek başına değil de TYMS 2R>3R ve MRHFR C677T-MTHFD1 1958G>A birlikteliği halinde hepatotoksisite, lökopeni ve trombositopeni gelişme oranlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu bulunmuştur. Biz yukarıdaki çalışmada bahsedilen polimorfizmleri değerlendirmedik fakat incelediğimiz MRHFR C677T ve A1298C birlikteliğinde toksisite oranında artış tespit etmedik.

St Jude Total IIIB protokolü ile tedavi edilen yeni tanı ALL'li 240 çocuk olgunun antilösemik ilaç toksisitesi yönü ile değerlendirildiği çalışma indüksiyon, konsolidasyon ve idame olarak 3 bölüme ayrılarak bu bölümlerde ağırlıklı olarak kullanılan ilaç toksisiteleri (gastrointestinal, infeksiyon, hiperbilirubinemi, nörotoksisite) ile genlerdeki C677T ve A1298C polimorfizmlerini de içeren 16 yaygın polimorfizm incelenmiştir. Tedavide görülen toksisiteler değerlendirildiğinde; bazı polimorfizmlere sahip olgularda belirli toksisitelerin daha sık gözlemlendiği ifade edilmesine rağmen, MTHFR gen polimorfizmleriyle toksisiteler arasında bir ilişki gösterilememiştir (85). Bizim çalışmamız hem olgu hem de çalışılan polimorfizmler yönü ile bu çalışmada olduğu gibi geniş kapsamlı değildi. Fakat bu çalışmada olduğu gibi, protokol uygulanırken gördüğümüz tedavi ile alakalı toksisitelerin hiç birisinin MTHFR gen polimorfizmleri ile ilişkisini tespit edemedik. Ayrıca bu çalışmada tedavi ile ilişkili toksisitelerin görülmesi ile tedavi değişikliği ya da kesilmesinin söz konusu olmadığı da vurgulanmaktadır. Çalışmamızda tedavi ile ilişkili toksisite nedeni ile tedaviye ara verdiğimiz durumları değerlendirdiğimizde bunu polimorfizmler ile ilişkilendiremedik.

Liu ve ark.'nın (76) kapsamlı çalışmasında, 181 yeni tanı ALL'li çocuk olgu standart, orta ve yüksek risk gruplarına ayrılarak MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri ile tedavi toksisitesi arasındaki ilişkisi incelenmiştir. Bu çalışmada hematolojik ve hematolojik olmayan toksisiteler (nörotoksisite, cilt toksisitesi, oral mukozit, renal ve hepatotoksisite) NCI kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Olguların hiçbirisinin toksisiteden kaybedilmediği bu çalışmada toksisitenin görülmediği standart ve orta risk grubu olgular birlikte analiz edilmiş ve her iki polimorfizmle de ilişkisi bulunamamıştır. Plazma MTX düzeyleriyle tedaviye bağlı toksisite incelendiğinde, 48. saatte yüksek bulunan MTX düzeylerinin anemi ve trombositopeni ile ilişkili olduğu fakat C677T ve A1298C polimorfizmleri ile ilişkilendirilmediği ifade edilmiştir. Tek

başına incelenen yüksek risk grubunda da her iki polimorfizm ile toksisite ve MTX düzeyi arasında ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada olduğu gibi bizim olgularımız da benzer tedavileri benzer dozlarda aldı. Çalışmamızda hem hematolojik hem de hematolojik olmayan toksisiteler değerlendirilmiş olup, bu toksisitelerin C677T ve A1298C polimorfizmleri ile ilişkisi incelenmiştir. Yine bu çalışmada olduğu gibi, bizim çalışmamızda da tedaviyle ilişkili toksisite görmüş olmamıza rağmen bunun C677T ve A1298C polimorfizmleri ile ilişkisini tespit edemedik.

Yapılan çok merkezli bir çalışmada BFM-95 protokolüne göre MTX'in 5 gr/m<sup>2</sup>'den, 4 saat ve 24 saat infüzyon olarak randomize edilerek uygulandığı non-Hodgkin lenfomalı 484 olguda MTHFR geni C677T polimorfizmi ile ateş, diyare, infeksiyon ve mukozit gibi toksisiteler arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu çalışmada MTHFR geni C677T polimorfizminin 5 yıllık olaysız sağkalıma (EFS), relaps ya da progresyona etkili olmadığı bulunmuştur. Ayrıca, MTX'in 4 ya da 24 saat verilmesi ile oluşabilecek toksisite ile MTHFR C677T gen polimorfizmi ilişkisi tespit edilememiştir. Toksisite bildirilen çalışmalar göz önüne alındığında, bu çalışmaların değerlendirme yapabilmek için olgu sayısının az ve heterojen olduğu, ayrıca kemik iliği transplantasyonu sonrası GVHD profilaksisi ve romatoid artrit tedavisi için düşük doz MTX alan olgularda olmasının da çelişkili olduğu bu çalışmada ifade edilmektedir (86). Biz çalışmamızda farklı toksisite kriterlerini kullanmamıza rağmen, hem yüksek doz MTX (1 gr/m<sup>2</sup>) infüzyonunun verildiği konsolidasyon döneminde, hem de düşük doz verildiği idame tedavisi sırasında tedaviye bağlı toksisite sıklığında gruplar arasında bir fark gözlemlenemedik.

Çalışmamızı yaptığımız tarihe kadarki literatür bilgilerinde MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin tedavi ile ilişkili toksisiteler nedeni ile oluşan gecikmelerle ilişkisi araştırılmamıştı. Olgularımızı takip ettiğimiz yaklaşık 1 yıllık dönemde, protokole göre tedavi aralarında verilen 15 günlük aralar haricinde tedavi ile ilişkili toplam gecikmelerin C677T ve A1298C polimorfizmleri ile ilişkisini tespit edemedik.

## 6. SONUÇLAR

1. Akut lenfoblastik lösemi tanısıyla tedavi edilen 39 çocuk olguda MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleriyle toksisite ilişkisini araştırdığımız çalışmamızda; olgulardan ikisinin homozigot C677T, 5'inin homozigot A1298C, 17'sinin heterozigot C677T ve 19'unun heterozigot A1298C polimorfizmine sahip olduğu, 5 olgunun ise C677T veya A1298C polimorfizmlerini taşımadığı tespit edildi.
2. A1298C polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olguların, tanı sırasındaki laboratuvar test değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.
3. Tanıdaki laboratuvar değerlerinin C677T polimorfizmini taşıyan ve taşımayan olgular arasındaki karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlılık bulunamadı.
4. C677T ve A1298C polimorfizmlerine ayrı ayrı sahip olan ve olmayan olgular arasında, protokolün takip edilen 1 yıllık döneminde, beyaz küre, AST ve ALT değerlerinde görülen ağır toksisite oranlarında bir fark tespit edilmedi.
5. Takip dönemlerinde ağır toksisite gelişen olguların oranı, C677T ve A1298C polimorfizmlerinin her ikisini de birlikte taşıyan olgularda, bunlardan sadece birini taşıyan ya da hiç birine sahip olmayan olgulardan farklı bulunmadı.
6. İzlem süresindeki eritrosit ve trombosit süspansiyonu transfüzyon sayıları, C677T ve A1298C polimorfizmini ayrı ayrı taşıyan ve taşımayan olgularda ayrıca her iki polimorfizmi birlikte taşıyanla herhangi bir mutasyonu bulunmayan ya da sadece bir polimorfizm taşıyan grupla benzer bulundu.
7. Tedavideki toplam gecikme günü C677T ve A1298C polimorfizmlerini ayrı ayrı taşıyan ve taşımayan olgularda ayrıca her iki polimorfizmi birlikte taşıyan ve herhangi bir mutasyonu bulunmayan ya da sadece bir polimorfizm taşıyan grupla benzer bulundu.
8. Sonuç olarak; ALL'li olgularda, MTHFR geninde C677T ve A1298C polimorfizmlerinin varlığında, tedavi sırasında gözlenen hematolojik ve hepatik toksisitenin artmadığı ve tedavide aksama olmadığı kanaatine varıldı.

## 7. KAYNAKLAR

1. Margolin JF, Rabin KR, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic Leukemia: In Pizzo AP, Poplack DG (eds). Principles and Practice of Pediatric Oncology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2011: 518-566.
2. Celkan T. Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisi. Klinik Gelişim Dergisi 2007; 20: 14-25.
3. Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, et al. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. J Nutr 2000; 130: 2493-2497.
4. Ronghe M, Burke GA, Lowis SP, Estlin EJ. Remission induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: clinical and cellular pharmacology of vincristine, corticosteroids, L-asparaginase and anthracyclines. Cancer Treat Rev 2001; 27: 327-337.
5. de Jonge R, Hooijberg JH, van Zelst BD, et al. Effect of polymorphisms in folate-related genes on in vitro methotrexate sensitivity in pediatric acute lymphoblastic leukemia. Blood 2005; 106: 717-720.
6. Chiusolo P, Reddicono G, Farina G, et al. MTHFR polymorphisms' influence on outcome and toxicity in acute lymphoblastic leukemia patients. Leuk Res 2007; 31: 1669-1674.
7. Niemeyer CM, Sallan SE. Acute lymphoblastic leukemia: In Nathan DG, Oski FA (eds). Hematology of Infancy and Childhood. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993; 1249-1287.
8. Redner A. Leukemias: In Lanzkowsky P (ed). Manual of Pediatric Hematology and Oncology. San Diego: Elsevier Academic Press, 2011; 518-566.
9. Shivakumar R, Tan W, Wilding GE, et al. Biologic features and treatment outcome of secondary acute lymphoblastic leukemia—a review of 101 cases. Ann Oncol 2008; 19: 1634–1638.
10. Kutluk T. Çocukluk çağı kanserlerin epidemiolojisi. Klinik Gelişim 2007; 20: 5-12.



11. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia: In Pui CH (ed). *Childhood Leukemias*. New York: Cambridge University Press, 2007; 439-472.
12. Doll R, Wakeford R. Risk of childhood cancer from fetal irradiation. *Br J Radiol* 1997; 70: 130-139.
13. Bithell JF and Stewart AM. Pre-natal irradiation and childhood malignancy: A review of British data from the Oxford survey. *Br J Cancer* 1975; 31: 271-287.
14. Donald Pinkel. Historical perspective: In Pui CH (ed). *Childhood Leukemias*. New York: Cambridge University Press, 2007: 3-20.
15. Lilleyman JS, Hann IM, Stevens RF, et al. Cytomorphology of childhood lymphoblastic leukaemia: a prospective study of 2000 patients. United Kingdom Medical Research Council's Working Party on Childhood Leukaemia. *Br J Haematol* 1992; 81: 52-57 (abstract).
16. Campana D, Behm FG. Immunophenotyping of leukemia. *J Immunol Methods* 2000; 243: 59-75.
17. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia: In Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT (eds). *Williams Hematology*. United States of America: The McGraw-Hill Companies, 2006; 1321-1342.
18. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996;14: 18-24 (abstrac).
19. Schultz KR, Pullen DJ, Sather HN, et al. Risk and response based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG). *Blood* 2007; 109: 926-935.
20. Pui CH. Recent research advances in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Formos Med Assoc* 2010; 109: 777-787.
21. Farber S, Diamond LK. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4- aminopteroyl-glutamic acid. *NEJM* 1948; 238: 787–793.

22. Egbelakin A, Ferguson MJ, MacGill EA, et al. Increased risk of vincristine neurotoxicity associated with low CYP3A5 expression genotype in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 361-367.
23. Holcenberg J. Optimal asparaginase therapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 273-274.
24. Ritter J and Schrappe M. Clinical features and therapy of lymphoblastic leukemia: In John Lilleyman J, Hann I, Blanchette V (eds). *Pediatric Hematology*. Churchill Livingstone, 2000; 537-563.
25. Chabner BA, Wilson W, Supko J. Pharmacology and Toxicity of Antineoplastic Drugs: In Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT (eds). *Williams Hematology*. United States of America: The McGraw-Hill Companies, 2006; 249-274.
26. Estlin EJ, Yule SM, Lowis SP. Consolidation therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: clinical and cellular pharmacology of cytosine arabinoside, epipodophyllotoxins and cyclophosphamide. *Cancer Treat Rev* 2001; 27: 339-350.
27. Pui CH. Central nervous system disease in acute lymphoblastic leukemia: prophylaxis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006; 142-146.
28. Kamps WA, Bokkerink JP, Hakvoort-Cammel FG, et al. BFM-oriented treatment for children with acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation and treatment reduction for standard risk patients: results of DCLSG protocol ALL-8 (1991-1996). *Leukemia* 2002; 16: 1099-1111.
29. Tucci F and Arico M. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2008; 93: 1124-1128.
30. Harker-Murray PD, Thomas AJ, Wagner JE, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia isolated to the central nervous system. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 685-692.

31. Mehta PA and Davies SM. Allogeneic transplantation for childhood ALL. Bone Marrow Transplant 2008; 41: 133-139.
32. Orudjev E and Lange BJ. Evolving concepts of management of febrile neutropenia in children with cancer. Med Pediatr Oncol 2002; 39: 77-85.
33. Pui CH, Cheng C, Leung W, et al. Extended follow-up of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. NEJM 2003; 349: 640-649.
34. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Mone SM et al. Female sex and higher drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. NEJM 1995; 332: 1738-1743.
35. Redner A. Evaluation, Investigations, and Management of Late Effects of Childhood Cancer: In Lanzkowsky P (ed). Manual of Pediatric Hematology and Oncology. San Diego: Elsevier Academic Press, 2011; 921-951.
36. Moell C, Marky L, Hovi L et al. Cerebral irradiation causes blunted pubertal growth in girls treated for acute leukemia. Med Pediatr Oncol 1994; 22: 375–379 (Abstract).
37. Kebudi R. Çocukluk çağı kanser sağ kalanlarında ikincil kanserler. Türk Pediatri Arşivi 2011; 46: 270-274.
38. Homberger A, Linnebank M, Winter C, et al. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. Eur J Hum Genet 2000; 8: 725-729.
39. Kim YI. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. Nutr Rev 2000; 58: 205-209.
40. Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. Mol Genet Metab 1998; 64: 169-172.
41. Daly SF, Molloy AM, Mills JL, et al. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. Brit J Obstet Gynaec 1999; 106: 1214-1218 (abstract).

42. Stern LL, Bagley PJ, Rosenberg IH, et al. Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr* 2000; 130: 2238-2242.
43. Nakamizo T, Nagayama M. Stroke and the genetics of hyperhomocysteinemia. *Brain Nerve* 2008; 60: 1295-1306 (abstract).
44. Goyette P, Pai A, Milos R, et al. Gene structure of human Mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome* 1998; 9: 652-656.
45. Özmen F, Özmen MM, Özalp N et al. The prevalence of factor V (G1691A), MTHFR (C677T) and PT (G20210A) gene mutations in arterial thrombosis. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2009; 15: 113-119.
46. Khandanpour N, Willis G, Meyer FJ et al. Peripheral arterial disease and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutations: A case-control study and meta-analysis. *J Vasc Surg* 2009; 49: 711-718.
47. İlhan N, Küçüksu M, Kaman D, İlhan N, Özbay Y. The 677 C/T MTHFR polymorphism is associated with essential hypertension, coronary artery disease, and higher homocysteine levels. *Arch Med Res* 2008; 39: 125-130.
48. Dikmen M. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enziminin moleküler biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004; 5 : 9-16.
49. Robien K and Ulrich CM. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol* 2003; 157: 571-582.
50. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 862-877.
51. Bagley PJ and Selhub J. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13217-13220.

52. Yan J, Yin M, Dreyer ZE, et al. A meta-analysis of MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and risk of acute lymphoblastic leukemia in children. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58: 513-518.
53. Skibola CF, Smith MT, Kane E, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Med Sci* 1996; 96: 12810-12815.
54. Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res* 2000; 20: 1751-1757 (abstract).
55. Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, et al. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. *J Nutr* 2000; 130: 2493-2497.
56. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol* 2000; 13: 20-33 (abstract).
57. Lievers KJ, Boers GH, Verhoef P, et al. A second common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine, and cardiovascular disease risk. *J Mol Med (Berl)* 2001; 79: 522-528.
58. Sibani S, Christensen B, O'ferrall E, et al. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Hum Mutat* 2000; 15: 280-287.
59. Kantar M, Kosova B, Çetingül N, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms and therapy-related toxicity in children treated for acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009; 50: 912-917.
60. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1465-1469.

61. Donnelly JG and Rock GA. Genetic determinants of heritable venous thrombosis: genotyping methods for factor V (Leiden) A1691G, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, prothrombin G20210A mutation, and algorithms for venous thrombosis investigations. *Clin Biochem* 1999; 32: 223-228.
62. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EMB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1044-1051.
63. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. Folate intake, MTHFR polymorphisms, and risk of esophageal, gastric, and pancreatic cancer: A Meta-analysis. *Gastroenterology* 2006; 131: 1271-1283.
64. Yang L, Liu L, Wang J, et al. Polymorphisms in folate-related genes: impact on risk of adult acute lymphoblastic leukemia rather than pediatric in Han Chinese. *Leukemia & Lymphoma* 2011; 52: 1770–1776.
65. Jakovljevic K, Malisic E, Cavic M, Radulovic S, Jankovic R. Association between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T and risk of chronic myeloid leukemia in Serbian population. *Leukemia & Lymphoma*, Month 2012; Early Online, 1–4.
66. D'Angelo V, Ramaglia M, Iannotta A, et al. Methotrexate toxicity and efficacy during the consolidation phase in paediatric acute lymphoblastic leukaemia and MTHFR polymorphisms as pharmacogenetic determinants. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 1339–1346.
67. Costea I, Moghrabi A, Laverdiere C, Graziani A, Krajcinovic M. Folate cycle gene variants and chemotherapy toxicity in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2006; 91: 1113-1116.
68. Kamdar KY, Krull KR, El-Zein RA, et al. Folate pathway polymorphisms predict deficits in attention and processing speed after childhood leukemia therapy. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 57: 454-460.
69. Soydan E, Topçuoğlu P, Dalva K, Arat M. The impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism on transplant-related variables after allogeneic hematopoietic cell transplantation in

patients receiving MTX as GVHD prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 429-430.

70. Karakurt Ö ve Melli M. Antineoplastik kemoterapinin bireyselleştirilmesi ve farmakogenetik. *UHOD* 2005; 15: 157-164.
71. Horinouchi M, Yagi M, Imanishi H, et al. Association of genetic polymorphisms with hepatotoxicity in patients with childhood acute lymphoblastic leukemia or lymphoma. *Pediatr Hematol Oncol* 2010; 27: 344-354.
72. Erčulj N, Kotnik BF, Debeljak M, Jazbec J, Dolžan V. Influence of folate pathway polymorphisms on high-dose methotrexate-related toxicity and survival in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2012; 53: 1096-1104.
73. Imanishi H, Okamura N, Yagi M, et al. Genetic polymorphisms associated with adverse events and elimination of methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia and malignant lymphoma. *J Hum Genet* 2007; 52: 166-171.
74. Kim I, Lee KH, Kim JH, et al. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and clinical outcomes in HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2007; 86: 41-48.
75. Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 183-190.
76. Liu SG, Li ZG, Cui L, Gao C, Li WJ, Zhao XX. Effects of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms on toxicities during consolidation therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *Leuk Lymphoma* 2011; 52: 1030-1040.
77. Chiusolo P, Reddiconto G, Farina G, et al. MTHFR polymorphisms' influence on outcome and toxicity in acute lymphoblastic leukemia patients. *Leuk Res* 2007; 31: 1669-1674.

78. Aplenc R, Thompson J, Han P, La M, Zhao H, Lange B, Rebbeck T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and therapy response in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 2005; 65: 2482-2487.
79. Tong N, Sheng X, Wang M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and acute lymphoblastic leukemia risk: a meta-analysis based on 28 case-control studies. *Leuk Lymphoma* 2011; 52: 1949-1960.
80. Karas Kuzelicki N, Milek M, Jazbec J, Mlinaric-Rascan I. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) low activity genotypes reduce the risk of relapse-related acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Leuk Res* 2009; 33:1344-1348.
81. Hussain SR, Naqvi H, Raza ST, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genetic polymorphisms and risk of leukaemia among the North Indian population. *Cancer Epidemiol* 2012; 36: 227-231.
82. Alcasabas P, Ravindranath Y, Goyette G, et al. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and the risk of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in Filipino children. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51: 178-182.
83. Pietrzyk JJ, Bik-Multanowski M, Balwierz W, et al. Additional genetic risk factor for death in children with acute lymphoblastic leukemia: a common polymorphism of the MTHFR gene. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52: 364-368.
84. Faganel Kotnik B, Grabnar I, Bohanec Grabar P, Dolžan V, Jazbec J. Association of genetic polymorphism in the folate metabolic pathway with methotrexate pharmacokinetics and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukaemia and malignant lymphoma. *Eur J Clin Pharmacol* 2011; 67: 993-1006.
85. Kishi S, Cheng C, French D, et al. Ancestry and pharmacogenetics of antileukemic drug toxicity. *Blood* 2007; 109: 4151-4157.
86. Seidemann K, Book M, Zimmermann M, et al. MTHFR 677 (C-->T) polymorphism is not relevant for prognosis or therapy-associated toxicity in pediatric NHL: results from 484 patients of multicenter trial NHL-BFM 95. *Ann Hematol* 2006; 85: 291-300.



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TRALL BFM 2000 protokolü ile tedavi edilen akut lenfoblastik lösemi tanılı olgularda metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin tedavi üzerine etkilerinin araştırılması

Yrd. Doç. Dr. Zuhâl KESKİN YILDIRIM

Yandal Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi: 04.02.2009

Yandal Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 01.08.2012

Yandal Uzmanlık Sınavı Tarihi : 01.08.2012

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Mustafa BÜYÜKAVCI

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Cahit KARAKELLEOĞLU

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Handan ALP

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zerrin ORBAK

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Hüseyin TAN

Prof. Dr. Cahit KARAKELLEOĞLU  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim  
Dalı Başkanı

AĞUSTOS 2012  
ERZURUM