

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI



ONKOLOJİK FDG PET/BT'DE ELDE EDİLEN SUV MAX DEĞERLERİ İLE  
CELL FREE DNA MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatmanur ÇELİK

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN

Çanakkale 2017

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI

ONKOLOJİK FDG PET/BT'DE ELDE EDİLEN SUV MAX DEĞERLERİ İLE  
CELL FREE DNA MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatmanur ÇELİK

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN

Çanakkale 2017

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje No: TTU-2014-390

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

Nükleer Tıp Anabilim Dalı uzmanlık eğitimi  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Arş.Gör.Dr. Fatmanur ÇELİK'in Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12.06.2017

**TEZ KONU BAŞLIĞI**  
"ONKOLOJİK FDG PET/BT'DE ELDE EDİLEN SUV MAX DEĞERLERİ İLE CELL FREE  
DNA MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI"

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN

**Tez Jürisi Üyeleri:**

**Adı Soyadı**

Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN

Doç Dr. Semra ÖZDEMİR

Doç.Dr. Funda ÜSTÜN

İmzası

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki  
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim  
Kurulunun 16./06./2017 tarih ve : 29/2 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Yücel ACER  
Dekan V.

Dekan

## TEŞEKKÜR

Nükleer Tıp uzmanlık eğitimim süresince akademik katkı, öneri ve yardımlarıyla gelişimime katkıda bulunan, uzmanlık tezimin hazırlanmasında bilgisi ve sabrı ile her zaman yanımda olan tez danışmanım saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN'a ve eğitimim süresince deneyimleriyle bana daima rehber olan, ilgi, tecrübe ve anlayışı ile hep yanımda olan Anabilim Dalı Başkanımız kıymetli hocam Doç. Dr. Semra ÖZDEMİR'e emeklerinden dolayı saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bu tezin hazırlanmasında her aşamada yardımını, bilgisini ve sabrını esirgemeyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocamlarım Prof. Dr. Fatma SILAN'a ve Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e ayrıca teşekkür ederim.

Eğitimim süresince beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm Nükleer Tıp Anabilim Dalı personeline, Tıbbi Genetik Anabilim Dalında görev alan kıymetli meslektaşım Dr. Mine URFALI'ya ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı personeline, istatistiki anlamda tezime büyük katkıları bulunan arkadaşım Öznur HOROZOĞLU'na, anlayışlarından, destek ve paylaşımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, fedakarlıklarını, bana olan inanç, sevgi ve desteklerini her koşulda hissettiğim sevgili annem Zeliha TÜRKER ve babam Selahattin TÜRKER'e, bana duyduğu güven ve sevgi ile hep yanımda duran biricik eşim Beytullah ÇELİK'e, en zor anımda bile yüzümü güldüren, hayatımı anlamlandıran bir tanecik oğlum Selim Çınar'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Fatmanur ÇELİK

Haziran, 2017

## ÖZET

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Flor-18 fluorodeoksiglukoz (FDG) pozitron emisyon tomografisi/bilgisayarlı tomografi (PET/BT) onkolojik görüntüleme için çok yararlı bir metot olarak kabul edilmektedir. F18-FDG birikimi yoğunluğu standart uptake değeri (SUV) olarak ölçülebilir. Kanser hastalarının serum ve plazmalarında yüksek oranda cell free DNA (cfDNA) bulunduğu gösterilmiştir ve bunun kanser evre ve prognozuyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada amacımız cfDNA sonuçlarının SUV max değerleri ile uyumlu olup olmadığının araştırılıp, cfDNA'nın kanser tanısı ve takibinde noninvaziv etkin bir yöntem olup olmadığını araştırmaktır.

**YÖNTEM:** Çalışmaya dahil edilen 87'si kadın 97'si erkek 184 hastadan oluşan hasta grubuna rutin PET/BT görüntüleme protokolü uygulandı. Ayrıca hem hasta hem de 57'si kadın 35'i erkek 92 kişilik kontrol grubundan cfDNA eldesi için 10 ml kan alınarak cfDNA izolasyonu yapıldı. PET/BT'den elde edilen SUV max değerleri ile plazma cfDNA değerleri karşılaştırıldı.

**BULGULAR:** Çalışma grubunda yer alan hasta ve kontrol grupları arasında yapılan karşılaştırmada cfDNA miktarları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı. Metastatik karsinomalı hastalarda metastaz bulunmayan hastalara göre SUV max değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptandı. Ancak bu farklılık cfDNA ile korelasyon göstermedi. Benzer şekilde tümör boyutu ile SUV max değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanırken tümör boyutu ve cfDNA arasında istatistiksel olarak belirgin fark saptanmadı.

**TARTIŞMA VE SONUÇ:** Literatürde cfDNA miktarının kanser olgularında arttığını gösteren çalışmalar olduğu gibi kanser hastaları ile sağlıklı gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda cfDNA konsantrasyonları arasında farklılık bulunmayan çalışmalar da mevcuttur. Dolaşımdaki cfDNA'nın kanserin erken tanısında noninvaziv bir metot olarak kullanılabilmesi için bu konuda geniş hasta serilerini içeren prospektif çalışmaların yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** F18 FDG PET/BT, SUV max, cfDNA

## SUMMARY

**INTRODUCTION AND AIM:** Flor-18 fluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography/computerized tomography (PET/CT) is considered as an efficient method in imaging oncologic disease. Density of F18-FDG accumulation can be measured as standardised uptake value (SUV). High concentrations of cell free DNA (cfDNA) have been found in plasma or serum in patients who are suffering from different types of cancer and it was found that this was correlated with cancer stage and prognosis. The aim of this study is to investigate the consistency of cfDNA results with SUV max values obtained from PET/CT, as well as to investigate the efficiency of cfDNA as a noninvasive effective method for cancer diagnosis and follow-up.

**METHODS:** Routine PET/CT imaging protocol was applied to 184 patients of which 87 were woman and 97 were men. In addition, cfDNA isolation was performed by taking 10 ml blood from the patient group and the control group consisting of 57 women and 35 men, in total 92 people. SUV max values obtained from PET/CT were compared to plasma cfDNA values .

**FINDINGS:** Statistically, there was no considerable difference between the amount of cfDNA of the patients and the control groups in the study group. On the other hand, statistically analysis showed that SUV max values of patients with metastatic carcinoma were significantly different than those without metastasis. However, this difference did not correlate with cfDNA. Similarly, there was no statistically significant difference between tumor size and cfDNA when there was a statistically significant correlation between tumor size and SUV max values.

**DISCUSSION AND CONCLUSION:** Studies have shown that the amount of circulating cfDNA increases in cancer cases in the literature, and there are also studies in which there is no difference in cfDNA concentrations between cancer patients and healthy groups. In order to use circulating cfDNA as a noninvasive method in early detection of cancer, prospective studies involving larger amount of patient groups are needed.

**Keywords:** F18 FDG PET/CT, SUV max, cfDNA



# İÇİNDEKİLER

|                                                                   |           |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|
| TEŞEKKÜR .....                                                    | iv        |
| ÖZET .....                                                        | v         |
| SUMMARY.....                                                      | vi        |
| İÇİNDEKİLER .....                                                 | viii      |
| KISALTMALAR ve SİMGELER.....                                      | x         |
| ŞEKİLLER .....                                                    | xii       |
| TABLolar .....                                                    | xiii      |
| GRAFİKLER .....                                                   | xiv       |
| <b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>                                     | <b>1</b>  |
| <b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>                                    | <b>2</b>  |
| 2.1. Kanser .....                                                 | 2         |
| 2.1.1. Kanser Biyolojisi .....                                    | 4         |
| 2.1.2. Tümör Belirteçleri.....                                    | 9         |
| 2.2. Cell Free DNA.....                                           | 11        |
| 2.2.1. Cell Free DNA Tarihçesi .....                              | 11        |
| 2.2.2. Cell Free DNA Kaynağı ve Oluşum Mekanizması .....          | 12        |
| 2.2.3. Cell Free DNA Ölçümü .....                                 | 15        |
| 2.2.4. Cell Free DNA Kullanım Alanları.....                       | 15        |
| 2.3. PET/BT .....                                                 | 20        |
| 2.3.1. PET/BT Tarihçesi.....                                      | 23        |
| 2.3.2. F18-FDG PET/BT'nin Uygulama Alanları .....                 | 24        |
| 2.3.3. F18-FDG'nin Hücrelerde Tutulum Mekanizması.....            | 25        |
| 2.3.4. Standardize Edilmiş Tutulum Değeri (SUV).....              | 27        |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                    | <b>29</b> |
| 3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi.....                           | 29        |
| 3.2. PET/BT Görüntüleme.....                                      | 30        |
| 3.3. Cell Free DNA Ölçümü .....                                   | 32        |
| 3.3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Plazmanın Ayrıştırılması..... | 32        |
| 3.3.2. DNA İzolasyonunda Kullanılan Malzemeler .....              | 32        |
| 3.3.3. Manuel DNA izolasyonu .....                                | 33        |



|                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.3.4. Otomatik DNA İzolasyonu .....                                                               | 34        |
| 3.4. İstatistiki Değerlendirme.....                                                                | 34        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                                           | <b>35</b> |
| 4.1. Hastaların Demografik Verileri .....                                                          | 35        |
| 4.2. Hastalıkların Onkolojik Alt Tiplere Göre Dağılım Özellikleri ve cfDNA Değerleri .....         | 37        |
| 4.3. Hastaların cfDNA Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırılmaları .....                         | 39        |
| 4.4. Onkolojik Hastalarda Tümör ve Metastaz Varlığı ile cfDNA Değerlerinin Karşılaştırılması ..... | 40        |
| 4.5. Onkolojik Hastalarda Tümör Boyutu, SUV max ve cfDNA Değerlerinin Karşılaştırılması .....      | 43        |
| 4.6 Onkolojik Hasta Grubunda SUV max değerleri ile cfDNA değerlerinin karşılaştırılması.....       | 44        |
| <b>5. TARTIŞMA.....</b>                                                                            | <b>45</b> |
| <b>6. SONUÇ .....</b>                                                                              | <b>51</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR .....</b>                                                                          | <b>54</b> |
| <b>8. EKLER.....</b>                                                                               | <b>70</b> |

## KISALTMALAR ve SİMGELER

FDG: Fluorodeoksiglukoz

PET/BT: Pozitron emisyon tomografisi/bilgisayarlı tomografi

cfDNA: cell free DNA

SUV: Standardize uptake değeri

CDK: Siklin bağımlı protein kinaz

PDGF: Trombosit kökenli büyüme faktörü

EGF: Epidermal büyüme faktörü

TGF-alfa: Transforme edici büyüme faktörü- alfa

CSF: Koloni uyarıcı faktör

IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1

IGF-2: İnsülin benzeri büyüme faktörü-

EGFR: Epidermal büyüme faktör reseptörü

RIA: Radyoimmunoassay

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

DNAaz: Deoksiribonükleaz

bp: Baz çifti

HPV: İnsan papilloma virüs

EBV: Epstein barr virüs

keV: Kilo elektron volt

F18: Flor-18

O15: Oksijen-15

N13: Azot-13

C11: Karbon-11

$\beta^+$ : pozitron

MeV: Mega elektron volt

Ci: Curie

Nal (TI): Talyum aktifleyici ile sodyum iyodid

PMT: Foton çoğaltıcı tüp

LSO: Lutesyum Ortosilikat

BGO: Bizmut Germanat Ortosilikat

GSO: Gadolinyum Ortosilikat

GLUT: Glukoz taşıyıcı protein

HIF-1: Hipoksi İndüksiyon Faktörü-1

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

FDG-6-P: FDG-6-fosfat

ROI: İlgi alanı (region of interest)

rpm: Dakikadaki dönüş sayısı

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

$\mu$ l: mikrolitre

nm: nanometre

SPSS: Statistical Package for Social Science

## ŞEKİLLER

**Şekil 2.1.** Kanser hastalarında kan dolaşımındaki cfDNA'nın farklı hücresel kaynakları

**Şekil 2.2.** cfDNA kaynakları ve genetik değişiklikleri

**Şekil 3.1.** PET/BT Koronal Görüntüler(A,B,C)

**Şekil 3.2.** Nanodrop cihazı ölçüm ekranı

**Şekil 4.1.** 66 yaşında, sol akciğerde üst lob anterior segmentte yerleşimli,30x40 mm boyutlarında kitle lezyon saptanan erkeğe ait PET/BT imajları.

## TABLULAR

**Tablo 2.1.** Bazı önemli siklotron ürünü PET radyonüklükleri ve fiziksel özellikleri

**Tablo 2.2.** PET görüntülemeye kullanılan bazı radyofarmasötikler ve metabolik özellikleri

**Tablo 4.1.** Hasta özelliklerinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması

**Tablo 4.2.** Hasta ve kontrol grubu demografik verilerinin cfDNA miktarları ile karşılaştırılması

**Tablo 4.3.** Onkolojik alt tiplere göre cfDNA miktarı karşılaştırılması

**Tablo 4.4.** Olguların cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

**Tablo 4.5.** Onkolojik hastalarda tümör ve metastaz varlığı ile cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

**Tablo 4.6.** Onkolojik hastalarda tümör ve metastaz varlığı ile SUV max değerlerinin karşılaştırılması

**Tablo 4.7.** Onkolojik hastalarda tümör boyutu, SUV max ve cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

**Tablo 4.8.** Onkolojik hasta grubunda SUV max değerleri ile cfDNA değerlerinin korelasyonu

## GRAFİKLER

**Grafik 4.1.** Gruplar arasındaki cfDNA değerlerinin karşılaştırılması.  
Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

**Grafik 4.2.** Lezyon SUV max ve cfDNA miktarlarının karşılaştırılması.



# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, yüzyıllardır aramızdaki varlığını sürdürmekte ve insanları geçmişte olduğundan daha fazla tehdit etmektedir. Tıp tarihi boyunca hiçbir hastalığın kanser kadar araştırmalara konu olmadığını söylemek yanlış olmaz [1]. Kanser dünya genelinde sebebi bilinen ölümler sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölüme yol açan ikinci en sık sebep olarak gösterilmesi açısından önemli bir toplum sağlığı problemidir. Önümüzdeki yıllarda sıklığının anlamlı ölçüde artacağı öngörülmektedir [2]. Kansere bağlı sağkalım, tanı anında tümör evresi, tedavi şekli, hastanın genel durumu, tümörün morfolojik ve moleküler özellikleri gibi etkenlere bağlıdır. Bu nedenle kanserin erken tanısı kansere bağlı mortalite ve morbiditenin önlenmesinde büyük önem arz etmektedir. Bazı kanser tiplerinin tanı ve tedavisindeki ilerlemelere karşın, kanserin erken tanı ve tedavisi halen büyük bir sorun olmaya devam etmektedir.

Günümüzde serumda bulunan ve kanserin bazı tiplerine spesifik bazı tümör belirteçleri onkolojik hastalıkların erken teşhisi için rutin olarak kullanılsa da sınırlı özgüllük ve duyarlılıkları nedeniyle özellikle erken tanıda istenilen sonuca ulaştıramamaktadır [3]. İnsan dolaşımında serbest nükleik asitler ilk olarak 1948 yılında Mandel ve Metais tarafından tespit edilirken [4], 1970'li yıllarda kanserli hastaların dolaşımında sağlıklı insanlara oranla daha yüksek miktarda DNA olduğu gösterilmiştir [5]. Bunun bir neticesi olarak da bu parametre kanser hastalarında biyolojik bir tümör belirteci olarak kullanılmaya başlamıştır.

Kanser teşhisinde faydalanılan bir çok konvansiyonel görüntüleme yöntemiyle birlikte son yıllarda ileri nükleer tıp tetkiklerinden biri olan (Pozitron emisyon tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi) PET/BT'nin önemi de giderek artmaktadır. PET/BT organ ve dokuların fonksiyon ve metabolizmalarındaki değişiklikleri anatomik detaylarıyla birlikte gösteren, son yıllarda onkolojide tümörün saptanması, evrenmesi, tedaviye yanıtın değerlendirilmesi, nüks/metastaz şüphesi ve tümör belirteçlerinde yükselme durumunda yeniden evrelemesi, radyoterapi planlaması ve bazı durumlarda mevcut olan kitlenin iyi

ya da kötü huylu olup olmadığının tespit edilmesinde kullanılan nükleer tıbbın en ileri medikal görüntüleme tekniğidir.

Geçmişten günümüze kanser vakalarının ve buna bağlı ölüm oranlarının artış göstermesi sebebiyle onkolojik hastalıkların erken tanı, tedavi ve takibi, hastalık surveyi açısından gittikçe artan önem taşımaktadır. Bu yüzden doğru ve erken teşhis, uygun tedavi seçimi ve tedaviye yanıtın erken dönemde değerlendirilmesi tedavi sonuçlarını ciddi anlamda etkilemektedir.

Bizim bu tez çalışmasını düzenlemedeki amacımız; onkoloji hastalarında tüm vücut PET/BT görüntülemelerinden elde edilen kantitatif değerler ile hastaların plazmalarında ölçülen cell free DNA (cfDNA) miktarını karşılaştırarak, cfDNA'nın malignite varlığını erken dönemde saptamada anlamlı bir belirteç olup olmadığı araştırmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kanser**

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile karakterize edilen, sonucu bazı türler için ne yazık ki ölümlerle biten ve bu nedenle de tedavisi için en çok araştırma yapılan ve çok çeşitli yöntemler denenilen bir hastalıktır [6]

Kanser birçok farklı hastalık için kullanılan genel bir terimdir. Hücrelerin aşırı, kontrolsüz ve zamansız çoğalmalarına, immün sistemin gözetiminden kaçmalarına yol açan metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirdikleri çok basamaklı bir süreçtir [7].

Kanser gelişim süreci, regülasyonu bozulmuş, normal hücre büyümesini ve davranışını denetleyen kurallara uymayan hücrelerden oluşan bir kitlenin oluşumuna neden olur. Bu kitle uzun bir süre asemptomatik seyredebileceği gibi büyüyerek, kitlenin yerine ve büyüklüğüne bağlı olarak çok sayıda semptom ve kanser hücrelerinin organizma içinde yayılmasına yol açabilir. Bir hastalığa kanser diyebilmek için yalnızca hücrelerin kontrolsüz çoğalması



yeterli değildir. Hücrenin invazyon ve metastaz gibi diğer malign özellikleri de kazanması gerekmektedir [7].

Malign bir tümörü benign neoplazilerden ve sağlıklı dokudan ayıran kendine özgü nitelikleri bulunmaktadır. Bunlar; ayrışma kaybı, kontrolsüz büyüme, kontakt inhibisyon olmaması, yayılma kapasitesi, azalmış apoptoz ve anjiogenez indüksiyonu olarak sayılabilir. Kansere hücreleri in vitro koşullarda, normal dokuların gereksinim duyduğu büyüme faktörlerine ve hormonlara ihtiyaç duymadan yaşayabilir, ayrıca anjiogenez olarak isimlendirilen kendi kanlanmalarını kendilerinin oluşturabildiği bir maharete sahiptirler [8]. Sahip oldukları hem bu kendi kendine yeterlilik hali hem de çoğalma ve yayılma potansiyellerindeki sınırsızlık ile korkunç boyutta bir hastalık sürecini başlatmış olurlar.

GLOBOCAN verilerine göre 2012 yılında dünyada toplam 14 milyon yeni kanser vakası saptanırken, 8,2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur. Bugün dünyada kanser tanısına sahip yaklaşık 32,5 milyon kişi yaşamaktadır. Dünya'da en çok tanı konulan kanserler akciğer (%13,0), meme (%12) ve kolorektal (%9,7) kanserleridir. Kanserden ölümler ise en çok akciğer (%19), karaciğer (%9,1) ve mide (%8,8) kanserlerinden gerçekleşmektedir. Dünyada yaşa bağlı kanser insidansı erkeklerde yüz binde 205 iken kadınlarda yüz binde 165 ile erkeklerde kadınlara göre %25 daha fazladır. Erkeklerde en sık izlenen kanser tipleri akciğer, prostat, kolorektal kanserler iken kadınlarda meme, kolorektal ve akciğer kanserleridir [9].

Türkiye'de ise kanser sıklığı gelişmişlik düzeyi yüksek ülkelere göre daha düşük olup yılda 163.500 civarında yeni kanser vakası tanı almaktadır. Ancak bu düşüklüğün sebebi olarak, ülkemizde ölüm kayıtlarında gerçek ölüm nedenleri yerine, pnömoni ve kalp solunum yetmezliği gibi nedenlerin oldukça sık olarak belirtilmesi ve tedavi merkezlerinden uzakta olan hasta yakınlarının kesin tanı hakkındaki bilgilerinin yetersiz olması sonucu kanserden ölüm kayıtlarının gerçek sayıların altında kaldığı düşünülmektedir. Erkeklerde en sık akciğer ve prostat kanserleri görülürken, kadınlarda en sık görülen kanser

meme kanseridir. Her iki cinste üçüncü sıklıktaki kanser ise kolorektal kanserlerdir [10].

Bazı kanser türlerinin tanı ve tedavisindeki ilerlemelere karşın, kanserin erken tanı alması ve doğru tedavisi halen büyük bir sorun olarak önümüzde durmaktadır. Tümör dokusunun, cerrahi yöntemlerle tamamen çıkarılabilecek kadar küçük boyutta iken tanı konulmuş olması, tedavide en ideal olanıdır. Oysa kanser hastalarının birçoğunda kanser tanısı hastalığın ileri evrelerinde veya metastaz yapmasından sonra konmaktadır. İleri evrelerde de tedavi seçenekleri kısıtlanmakta veya tedavi başarısı düşmektedir. Bu da yüksek mortalite ile sonuçlanmaktadır. Bundan dolayı hastalığın erken evrelerde belirlenmesini sağlayacak gelişmeler kansere bağlı ölüm oranlarını düşürecektir [11].

### **2.1.1. Kanser Biyolojisi**

Her hücre, doğar, çoğalır, farklılaşır ve ölür. Bütün bu olaylar doğal bir denge halinde sürer gider. Yeniden yapım ve hücre ölümünün belirli bir denge içinde oluşu yani doku homeostazisi sağlıklı bir organizma için kaçınılmazdır. Karsinogenezis süresince apoptozisin baskılanmasının gelişimde ve bazı kanserlerin ilerlemesinde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir [12].

Kanser multifaktöryel bir hadise olup, kalıtsal ve çevresel birçok faktör kanser oluşumunda suçlanmaktadır. Yapılan epidemiyolojik araştırmalar DNA hasarının tüm kanserlerin yaklaşık %90'nına neden olduğunu ortaya çıkarmıştır [13]. İşlevini kaybeden bir gen, kritik bir proteinin çok az ya da çok fazla düzeylerde üretimine, işlev kazanmış ya da işlevini kaybetmiş bir protein üretimine, ya da bir proteinin hiç üretilmemesine sebep olabilir.

Kanser gelişim sürecinde ilk basamağı oluşturan genetik hasar kalıtsal olabileceği gibi çevresel etkenler nedeniyle sonradan edinilmiş de olabilir. Kansere yol açan maddelere karsinojen denir. Tümör gelişimi çok aşamalı bir süreç olduğundan bu sürece etki edebilecek pek çok etken karsinojen olabilir. Belli başlı bilinen karsinojenler içinde iyonize radyasyon, ultraviyole ışınlar, asbest, HPV, Hepatit B ve C virüsleri, tütün ürünleri

sayılabilir. Bunlar haricinde kanser gelişimindeki en önemli etyolojik faktörler arasında protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonları kapsayan genetik sebepler de önemli bir yer tutar [14].

Çoğu kanser sadece tek bir hücreden ya da az sayıda hücreden köken alır [15]. Bu hücrenin kanserli olması için onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerde hücrenin normal sınırların çok ötesinde çoğalmasını sağlayacak birkaç değişiklik geçirmelidir. Bu süreç asi hücrelerden oluşan bir klonun oluşumuna yol açar.

Kanser gelişimini sağlayan transformasyon, DNA replikasyonunun ve tamir mekanizmalarının düzgün çalışmaması sonucu hücrelerde oluşan mutasyonların sonucudur. Mutasyonlar, büyüme kontrolünün kaybı [16] ile sonuçlanarak, protoonkogenler, tümör baskılayıcı genler, tümör baskılayıcı genleri düzenleyici genler ve büyümeyi kontrol eden genlerde oluşur [17].

Kansere sebep olan etmen her ne olursa olsun, sonuçta hücrenin genetik materyalinde hasar meydana gelir. Tek bir gende oluşan mutasyondan ziyade, birkaç gende birden oluşan mutasyon kanser oluşumunda rol oynamaktadır.

Kanserde değişikliğe uğramış genler, normal hücre siklusu, apoptoz ve diferansiyasyon yollarını etkiler. Bir yolda oluşan aksama, bir diğerinde derin sonuçlara neden olabilir [18].

Kanser hücrelerinin malign özellikler kazanmasını sağlayan mutajenik etkilerin önemli bir kısmı, hücrenin mutasyonlara karşı hassas olduğu hücre siklusu esnasında gerçekleşir. Hücre siklusu, hücre büyümesi ve hücre çoğalması için programlanmıştır [19]. Hücre siklusu, DNA ve RNA sentezi, ve bu süreçte gerekli diğer proteinlerin üretimi için kullanılacak enzimlerin sentezlendiği G1 evresi, DNA sentezinin izlendiği S evresi, RNA sentezinin gerçekleştiği G2 evresi ve mitoz bölünmenin gerçekleştiği M evresi olmak üzere, başlıca 4 evrede gerçekleşir. Bu 4 evreye ek olarak vücuttaki hücrelerin büyük kısmı normalde bölünmeyip ancak uygun bir uyarı geldiğinde hücre döngüsüne girdikleri G0 olarak adlandırılan istirahat evresinde bulunurlar.

Hücre siklus regülasyonunda üç önemli hücre içi protein grubu tanımlanmıştır; siklin bağımlı protein kinazlar (CDK), siklinler ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri. Bu protein kompleksleri hücre siklusunu birçok noktada kontrol altında tutarlar. Bu kontrol noktaları G1, G2 evrelerinde ve M evresinin son aşamalarında bulunmaktadır ve hücre döngüsünün bir sonraki evreye geçmeden önceki evrelerin bir çeşit denetimi olarak da düşünülebilir. Bu noktalar hücre siklusunun ilerlemesini durdurabildiği gibi, gerekli olan durumlarda apoptozisi de aktive edebilir. Hücre siklusunu kontrol noktalarında gelişen değişimler kanser oluşumuna neden olabilir.

Siklin proteinleri arasında, siklin A, B, C, D bulunmaktadır. CDK'lar ise hücrenin metabolik aktivitelerini ve hücre bölünmesini düzenleyen, hücre siklusunu evrelerini kontrol eden yapılardır. CDK proteinleri arasında, CDK 1, 2, 3, 4, 5, 6 bulunmaktadır. Değişik siklinler bu CDK moleküllerine hücre döngüsünün farklı aşamalarında bağlanarak inaktif durumdan aktif hale geçmelerine sebep olurlar. G1 evresinin orta ve son dönemlerinde Siklin D-CDK 4 ile Siklin D-CDK 6, geç dönemlerinde Siklin E-CDK 2 ve S evresinde Siklin A-CDK 2 ile işlev görmektedir. Bu komplekslerin çoğu onkogenlerin aktive edici ve tümör baskılayıcıların inhibe edici etkilerine hedeftir.

Hücre siklusunda aktive halde bulunan spesifik Siklin-CDK komplekslerine etki eden CDK etkisini sona erdiren CDK inhibitörleri de hücre büyümesi ve bölünmesini etkileyen önemli faktörlerdendir. Bu proteinler siklin-CDK kompleksi oluşumunu ve DNA replikasyonunu inhibe eder. Bunlar p16, p15, p18, p19'dan oluşan grup ve p21, p27, p57 olarak bilinen gruptur. Hücre döngüsü sırasında sentezlenen DNA hasarlı ise döngü M evresine girmeden G2 evresinde durdurulur. G1 evresinde, saptanan DNA hasarı orta derecede ise p53 tarafından p21 proteininin sentezlenmesi sağlanarak Siklin-CDK kompleksi inhibe edilir. Böylece döngü G1 veya G2 evresinde durdurulur veya askıya alınır. Eğer DNA hasarı tamir edilemeyecek kadar büyük ise, p53 hücrenin apoptoza girmesine sebep olur [20]. İnsan kanserlerinde mutasyonun en sık görüldüğü genlerden biridir p53 genidir [21]. Tüm CDK inhibitörleri,

hücrede fazla sentezlendiklerinde ve CDK moleküllerini etkisizleştirdiklerinde hücre döngüsünü G1 evresinde durdururlar [22].

Hücre bölünmesini kontrol eden mekanizmalarda bir bozukluk meydana geldiği takdirde, kontrolsüz hücre proliferasyonu ve aşırı hücre çoğalması gerçekleşir. Hücre bölünme ve büyümesini yöneten biyokimyasal mekanizmalar, hücre çekirdeğinde bulunur. Bu mekanizma ekstrasellüler düzenleyici moleküller tarafından yönlendirilir. Hücre büyümesini uyaran moleküller, büyüme faktörleri ve sitokinlerdir.

Büyüme için gerekli olan sinyal iletim sistemi hücreden büyüme faktörlerinin salınımı ile başlar. Bunlardan başlıcaları trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü- alfa (TGF-alfa), koloni uyarıcı faktör (CSF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve insülin benzeri büyüme faktörü-2 (IGF-2)'dir. Polipeptid yapıda olan büyüme faktörleri hücre zarında özgün reseptörlere bağlanır ve sinyaller sitoplazma proteinlerine iletilir. Bu sinyaller çekirdekte transkripsiyon faktörlerinin salınımına ve hücrenin hücre siklusuna girmesine neden olur. Büyüme faktörlerini ve reseptörlerini kodlayan genlerin mutasyonu, büyüme faktörlerini onkogenik hale getirmektedir. Değişmiş büyüme sinyalinin sonucu sıklıkla kanserdir [23] [24]. EGF ve TGF-alfa hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunu uyaran mitojenik etkileri gösterilmiş peptidlerdir. Pek çok çalışmada aşırı epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) sinyalizasyonu ve regülasyon bozukluğunun tümör gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yüksek düzeyde EGFR ekspresyonu ileri evre hastalık, metastaz gelişimi, sağ kalımda azalma ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur [25].

Sitokinler, hemotopoetik hücrelerin inflamatuvar ve immun yanıtının gelişimi ve düzenlenmesinde aracılık eden, peptid veya glikoprotein yapıda kimyasal ileti molekülleridir. Sitokinler hücre döngüsü ve büyümesindeki kontrol mekanizmasında etkili olmakta veya bu fonksiyonları üstlenen diğer moleküllerin üretimini uyarmaktadır. Mitoz, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında düzenleyicidirler.

Sitokinler, sitokin ağı denilen daha büyük birbiriyle ilişkili proteinler sisteminin ve sinyal iletiminin bir parçası olarak işlev görür. Sitokin, hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır, bu sitokin reseptör kompleksi reseptör ile ilişkili olan JAK proteinlerini aktive eder. Aktive JAK proteinleri reseptörü de fosforile ederek sitoplazmadaki inaktif STAT proteinlerinin reseptör ile etkileşmesine olanak sağlar. STAT proteinleri daha sonra reseptörden ayrılarak hücre çekirdeğine gelirler ve DNA üzerinde hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar. STAT aracılı sinyal iletimi ile uyarılan hedef genlerin hücre döngüsünün kontrolünü sağlayarak veya apoptozisi önleyerek karsinogenez sürecinde etkili oldukları öne sürülmektedir. Kontrolsüz STAT aktivitelerinin malign transformasyonda rol oynamaktadır [26].

Protoonkogenler hücrelerin büyüme ve farklılaşmasında rol alan büyüme faktörleri ile bu büyüme faktörlerinin sinyal iletiminde yer alan proteinleri kodlayan genlerdir. Normal koşullarda transformasyon oluşturmayan protoonkogenler; delesyonlar, eklentiler, gen amplifikasyonları, nokta mutasyonları, DNA yeniden düzenlenmeleri ve translokasyonlar gibi genetik değişimlerle aktive olarak, onkogen haline dönüşmektedirler. En bilinen onkogenler ErbB2, ras, myc, sis, src olarak sayılabilir. Ras ailesi H-ras, K-ras ve N-ras'tan oluşmakta olup nokta mutasyonlar şeklinde ortaya çıkarak kanser gelişiminde rol oynamaktadır. Mutasyonlar sebebiyle GTPaz aktivitesinde değişiklik olmakta ve bu değişim sürekli bir sinyal aktivitesine yol açmaktadır. Sonuçta sinyal kaskatındaki bu mitojenik uyarılar malign transformasyona neden olmaktadır. Myc genleri DNA'ya bağlanan üç nükleer fosfoproteini kodlar. Bu proteinler hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunda etkili olup, DNA sentezinin başlamasında rol alır. C-myc, L-myc, N-myc'ten oluşan myc genlerinden C-myc tümör büyüme hızında artış ve sağ kalımda kısalma ile ilişkili olarak bildirilmektedir [27].

Onkogenler hücrenin malign transformasyonuna yol açan çeşitli proteinlerin sentezinden sorumludur. Onkogenlerin ürünleri olan onkoproteinler hücrede sürekli olarak etkin kalmakta, inaktive olamamaktadır. Protoonkogenlerin onkogenlere dönüşümü sonucunda büyüme faktörlerinin

üretiminde artış, hücre bölünmesi üzerindeki kontrolün kaybı, hücre membranında büyüme faktörü uyarısıyla başlayıp, çekirdeğe ulaşan sinyal ileti sisteminde kontrolsüz uyarılma, çekirdekte transkripsiyon faktörlerinin sentezinde artış ve kontrolsüz hücre çoğalması devam etmektedir. İnsan tümörlerinde en sık gözlenen onkogen anomalisi, ras geni mutasyonudur.

Hücre çoğalmasında negatif yönde rol oynayan genler tümör baskılayıcı genler olarak adlandırılır. Hücre çoğalmasını baskılayan bu genler etkilerini iki farklı şekilde gerçekleştirirler. Hücre siklusunu kontrol altında tutan ve bekçi adı verilen APC ve VHL gibi genler bu etkilerini hücre proliferasyonunu direk baskılayarak gösterirler. Hücre proliferasyonu üzerine indirek etki gösteren ve bakıcı olarak adlandırılan BRCA1, BRCA2, MLH1 ve MSH2 gibi genler ise DNA tamirinden sorumlu olup mutasyon oluşumuna engel olarak genomun kararlı kalmasında etkin rol oynarlar [28]. BRCA1, BRCA2, Rb geni ve p53 genlerini içeren 30'a yakın tümör baskılayıcı gen tanımlanmıştır. Tüm kanser vakalarının yaklaşık % 50'sinde p53 geni ya yoktur ya da hasarlıdır [29].

Onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, hücrenin kontrolsüz çoğalması, kontak inhibisyonun kaybolması, invazyon ve metastaz yeteneği kazanması gibi malign özellikler kazanmasına yol açar.

Özetle onkogenezi süreci tüm bu tanımlanan genetik değişiklikleri içeren, genetik açıdan çok aşamalı bir süreçtir. Kanser moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması beraberinde kanserin erken tanısına yeni olanaklar sağlayacak, doğru tanı konması ve sonunda daha etkili tedavi protokollerinin ve yeni antitümöral stratejilerin gelişimine yol açabilecektir.

### **2.1.2. Tümör Belirteçleri**

Tümör belirteçleri ile ilgili çalışmalar yüz elli yıldan fazladır devam etmektedir. Tümör belirteçlerinin klinik kullanımındaki ilk adımı 1847 yılında multipl myelomalı bir hastanın idrarında, Sir Henry Bence Jones'un kendi adı ile anılan proteini gözlemlemiş olmasıdır [30].

Kanser hücreleri birçok farklı biyokimyasal moleküller sentezlerler. Tümör belirteçleri, ilgili tümör tarafından üretilen immunokimyasal ve biyokimyasal

yöntemlerle hastanın kan, doku ve diğer vücut sıvılarından kantitatif olarak ölçülebilen hormon, enzim, metabolit, immunoglobulin, protein, tümörle ilişkili antijen, onkojen ve onkojen ürünleri içeren maddelerdir.

Kanserin belli tiplerine özgü proteinlerin serumdan eser miktarda saptanması ile tümör belirteçleri kanser tanı ve tedavi takibinde rutin olarak kullanılmaktadır.

Tümör belirteçleri, kanser riskini belirlemede, kanser tanısında, taramasında, sınıflamasında, prognozun belirlenmesinde, tedavinin takibinde, relapsları erken belirlemede, metastaz takibinde, tümör markerlerine karşı radyoaktif işaretli antikolar kullanarak metastaz bölgelerinin belirlenmesinde kullanılırlar [31].

İdeal bir tümör belirleyicisi sadece ilgili tümör tarafından üretilmeli ve normal doku ve benign durumlarda üretilmemeli, ait olduğu doku veya organa özgü olmalı, yalancı pozitif veya negatif sonuç vermemeli, tümör oluşumunun erken evresinde tespit edilip erken kür sağlayabilmelidir. Bunun yanı sıra maliyeti de düşük olmalıdır. Tümör belirteçleri klinik kullanımda birçok avantaj sağlamanın yanında, birçok belirtecin sınırlı spesifite ve sensitiviteye sahip olmaları dezavantajlarıdır [32]. Çünkü bu belirteçlerin çoğu normal hücrelerin de ürünleridir ve normal kişilerin serumlarında da düşük düzeyde saptanabilirler. Bazı belirteçler ise selim tümörlerde, neoplastik olmayan ve inflamatuvar hastalıklarda da artabilirler.

Günümüzde bilinen pek çok tümör belirteci, hem tek tür için özgül değil, hem de taramalarda istenildiği kadar duyarlı değildir. Son yıllarda geliştirilen kanser hastalarının serum ve plazmalarındaki tümöre özgü moleküler değişiklikleri tespit eden yeni teknikler ile kanserin moleküler hedeflerini belirlemeye yönelik yeni imkanlar sunulmaktadır.

Potansiyel bir belirteç olarak önem kazanmaya başlayan dolaşımdaki hücre dışı serbest nükleik asitler, hızla yeni araştırmaların gelişimini sağlamaktadır. Klinik durumların noninvaziv tanısı için serbest nükleik asitlerin saptanması oldukça önem taşımaktadır [33].



## 2.2. Cell Free DNA

Dolaşımdaki cfDNA, kanda tespit edilen hücre bağımsız, çıplak, çift sarmal yapılı DNA olarak tanımlanır. Kan sıvıları olan plazmadan da serumdan da cfDNA elde edilebileceği idrar, sinovial sıvı, pankreatik kanal sekresyonları ve tükürük gibi farklı vücut sıvılarında da saptanabilir [34]. Birçok hastalıkta plazmada ve kan hücrelerinin yüzeylerinde cfDNA varlığı tespit edilebildiği gibi sağlıklı olgularda da cfDNA tespiti mümkündür [35] [36]. Çünkü doku ve hücre hasarı hem patolojik hem de normal koşullar altında gerçekleşir. Buna bağlı olarak da DNA gibi intrasellüler materyallerin dolaşıma salınması beklenen bir sonuçtur.

Ancak bir çok çalışma cfDNA seviyelerinin gebelikte, belli başlı patolojik durumlarda, özellikle inflamatuvar koşullarda, travma sonrasında ve kanser hastalarında daha yüksek olduğunu göstermiştir [37].

Dolaşımda bulunan DNA'nın analizi çeşitli kanser formlarının tanımlanmasında önemli olmaktadır. Çeşitli kanser tiplerinde, metastaz ve rekürrenste tümör orijinli cfDNA yüksek oranlarda saptanmaktadır [38] . Günümüzde yapılan çalışmalar cfDNA seviyesinin, kanserde yeni bir tanı belirteci olacağını göstermektedir [39] [40]

### 2.2.1. Cell Free DNA Tarihçesi

Dolaşımda cfDNA ilk olarak Mandel ve Metais tarafından 1948 yılında gösterilmesine karşın, ilk kez 1893 yılında Alman araştırmacı Schmorl tarafından eklampside plasental orijinli ve çok nukleuslu hücrelerin varlığı ile kayıtlarda yer almıştır [4] [35].

1966 senesinde Tan ve ark. sistemik lupus eritematozus hastalarının serum ve plazmalarında cfDNA ve DNA antikoru tespit etmiş olsa da [41], 1977 yılında radyoimmunoassay (RIA) metoduyla kanser hastalarının dolaşımında sağlıklı insanlara oranla daha yüksek miktarda cfDNA varlığı gösterilene kadar bu parametrenin onkoloji alanında kullanımının önemi fark edilmemiştir [5]. Bu çalışmada sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kanser hastalarının %50'sinde serum cfDNA seviyelerinin daha yüksek olduğu

gösterilmiştir. Plazmadaki cfDNA'nın tümör kaynaklı olduğunu destekleyen ilk çalışma ise 1989'da yapılmıştır [42].

Dolaşımda cfDNA belirlenmesinin üzerinden neredeyse 70 yıl geçmiş olmasına rağmen bu konudaki araştırmalar, duyarlı ve özgül analitik metotların eksikliği ve laboratuvar sınırlılıkları nedeniyle oldukça gecikmiştir. Son 20 yılda geliştirilen cfDNA'nın duyarlı saptama ve verimli izolasyon prosedürleri ile yeni, spesifik floresan boyalar ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri bu alanda etkin çalışmaların geliştirilmesi sağlanmıştır [37]. Böylece cfDNA'nın tanı, takip ve prognoz tayinindeki potansiyel önemi gittikçe daha belirgin bir hal almaktadır.

### **2.2.2. Cell Free DNA Kaynağı ve Oluşum Mekanizması**

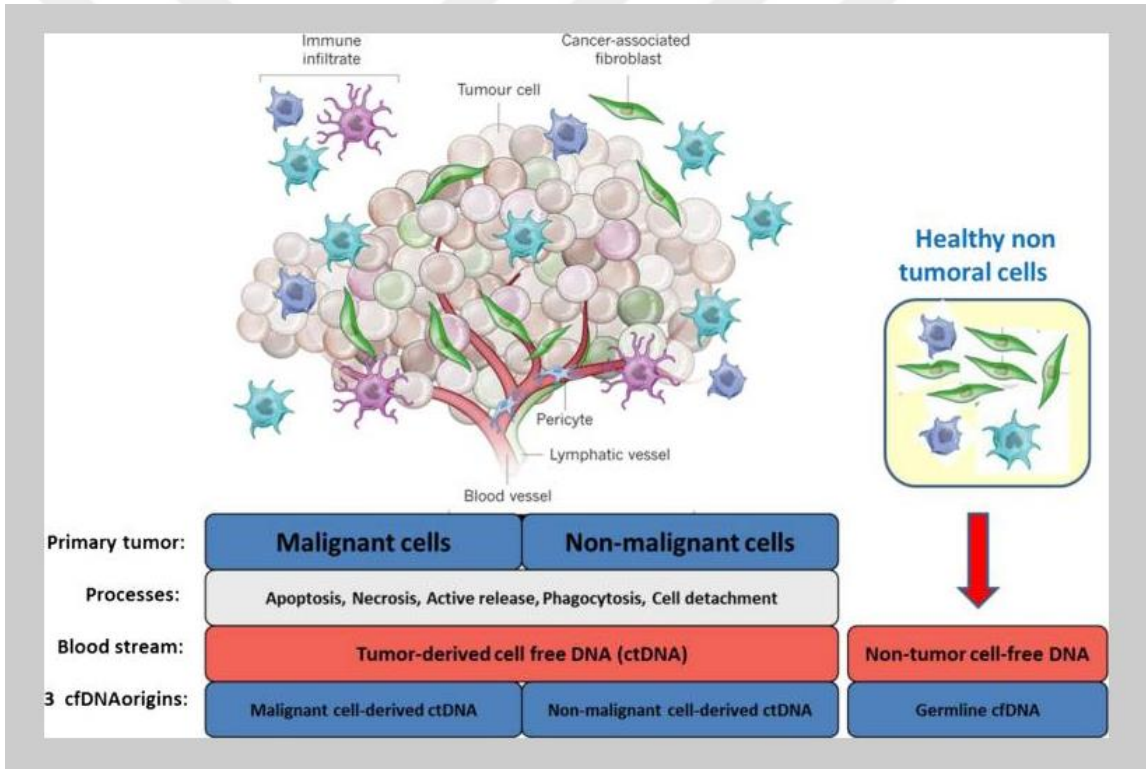
Eskiden düşük sensitiviteli laboratuvar testleri kullanımından dolayı sağlıklı olguların dolaşımındaki cfDNA doğru biçimde ölçülemez, bu yüzden hatalı bir biçimde cfDNA'nın sadece patolojik durumlarda dolaşımda var olduğu farz edilirdi [43]. Günümüzde DNA'nın hem hastalık hem de sağlık durumunda plazmada serbestçe dolaşımda olduğu bilinse de, bu DNA'nın kaynağı halen belirsizliğini korumaktadır [44].

Sağlıklı olgularda dolaşımdaki cfDNA'nın potansiyel kaynağının lenfositler veya diğer çekirdekli hücreler olduğu farz edilse de kanser hastalarında bilinen artmış DNA miktarının azımsanamayacak bir kısmının tümör hücrelerinden kaynaklı olduğu kantitatif ve kalitatif bir çok çalışmayla desteklenmiştir [44].

Kanser hastalarında, kan dolaşımında mevcut hücrelerden aktif salınma ile nekroz ve apoptoz mekanizmaları dolaşımdaki cfDNA'nın en belirgin kaynakları olarak görülmektedir [45]. Solid tümörlerin merkezindeki hücrelerin nekroz, periferik hücrelerin ise apoptoz mekanizması ile elimine edildiği söylenebilir [46]. Apoptoz mekanizması plazma ya da serumdaki cfDNA'nın major kaynağı olarak kabul edilse de; nekrotik yolak sonucu hücre lizisi, yeni sentezlenen nükleik asitlerin spontan salınımı, kan hücrelerinin yıkımı, bakteri ve virüsler gibi patojenlerin yıkımı ve lökosit yüzeyindeki DNA gibi minör ilave

cfDNA kaynakları da bilinmektedir [47]. Kanser hastalarında cfDNA kaynağı olan malign hücreler, tümör mikroçevresi ve sağlıklı hücreler Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Plazmaya DNA'nın primer tümör ve kan dolaşımı arasındaki ortak yüzeyden hücre lizisini takiben, dolaşımdaki kanser hücrelerinin yıkımı ya da tümör mikrometastazlarının harabiyeti ile girdiği düşünülmektedir. Mantıklı görünmesine rağmen, bu lizis teorisi tam olarak mümkün değildir çünkü ilerlemiş hastalıklarda bile, plazmadaki mevcut hücre kütleleri hesaba katıldığında dolaşımdaki cfDNA miktarı bu hücre kütlelerinin oluşturacağından daha fazladır [48].



**Şekil 2.1** Kanser hastalarında kan dolaşımındaki cfDNA'nın farklı hücre kaynakları [49]

DNA'nın moleküler ağırlığı da cfDNA kaynağı hakkında fikir verebilir. Örneğin, apoptoz ile oluşan fragmanlar ~180 bp iken nekroz sonucu oluşan

fragmanların moleküler ağırlığı daha fazladır. Plazma ve serumdaki çift sarmallı DNA jel elektroforezi ile ayrıldığında, fragmanlar bir yayma oluşturmaktansa basamaklı bir yapı oluşturma eğilimindedirler. Basamaklı fragmanlar çoğunlukla 180-1000 bp boyutunda olup muhtemelen apoptoz ile oluşturulmuştur. Nekroz ile açığa çıkan DNA ise eksik ve belirsiz bir biçimde parçalanır, böylelikle 10000 bp 'lik boyutundan dolayı elektroforezde yaymalar oluşturur [48]. Kanser hastalarının kan ve plazmalarındaki DNA fragmanları ile yapılan çalışmalarda kanser hastalarında sıklıkla apoptotik DNA'ya benzer şekilde DNA boyutu tespit edilse de, nekrotik hücre kaynaklı DNA gibi yüksek molekül ağırlıklı DNA fragmanlarına da rastlanmıştır [50].

Sağlıklı insan plazmasında ise cfDNA nekrotik değil, apoptotik hücrelerden kaynaklanır [48], [51]. Yine de sağlıklı kimselerde cfDNA'nın öncelikli olarak kaynağının hematopoetik hücreler olduğu varsayılmaktadır [52]. İnsan kan lenfositleri in vitro ortamda herhangi bir uyarı olmadan cfDNA salabilirler. Bu salınan cfDNA, hücresel DNA'dan daha küçük boyuttadır (moleküler ağırlığı  $3.5 \times 10^5$  -  $3.7 \times 10^6$  dalton), ancak birçok gen için çeşitli bilgileri taşıyacak kadar büyüktür [53]. Bu nükleik asitler hücrelere girerek, alıcı hücrelerde biyolojik aktivite oluşturabilirler [47].

Aynı olgulardan alınan serum örneklerindeki cfDNA seviyelerinin plazma örneklerine oranla daha yüksek bulunduğu ortaya konmuştur. Bunun pıhtılaşma işlemlerinin bazı hücrelere zarar vermesi sonucu serumda, daha yüksek oranda cfDNA bulunmasına neden olduğu düşünülmektedir [54].

Olguların kan dolaşımındaki cfDNA miktarını etkileyen bir diğer faktör de elbette dolaşımdaki deoksiribonükleaz (DNAaz) miktarıdır. Kanser hastalarında DNAaz konsantrasyonlarının düşük olmasının ve DNAaz inhibitörlerinin tespit edilmesinin de bu hastalarda artmış cfDNA miktarlarında payı olduğu düşünülmektedir [55]. Gastrointestinal kanserli hastaların plazmasındaki DNAaz etkinliğinde meydana gelen azalmanın, cfDNA bütünlüğünü ve kan plazmasındaki konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir [55].

Dolaşımdaki cfDNA'nın birçoğunun 150-200 bp uzunluğunda olduğu ve yarı ömürlerinin 16 dakika ile 2 saat arasında değiştiği gösterilmiştir [56]–[58]. Bu da cfDNA'nın dolaşımda çıplak halde bulunmadığını, hücrel yahut hücrel olmayan komponentlerle kompleks oluşturduğunu düşündürmektedir.

Erkeklerde bireyin kendine ve herhangi bir viral enfeksiyon geçirdiyse enfeksiyon etkenine ait DNA ya da DNA'lar saptanabilirken, kadınlarda bunların yanında hamile ise fetusa ait ya da iz halinde de olsa önceki fetuslara ait DNA'nın bulunduğu da saptanmıştır [59].

### **2.2.3. Cell Free DNA Ölçümü**

Dolaşımdaki cfDNA analizinde iki temel yaklaşım vardır: niceliksel analiz ve DNA'ya özgü mutasyonlara dayalı analiz. İlk yaklaşım hem tümöral hem nontümöral DNA'yı içeren total cfDNA'nın sayısal ölçümüne dayanmaktadır. Kanseri hastalarının plazmalarında ölçülen artmış cfDNA seviyeleri sağlıklı olgularla karşılaştırıldığında tümör kaynaklı cfDNA'yı işaret eder. Bu yöntemin duyarlılığı oldukça yüksek ancak tümöral ve nontümöral DNA'yı birlikte değerlendirdiği için özgünlüğü düşüktür.

İkinci yaklaşım, primer tümörde mevcut tümör spesifik bir mutasyonun, izole edilmiş cfDNA'da da saptanmasını temel alır. En sık kullanılan tümör spesifik mutasyonlar; protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin nokta mutasyonları ya da kısa delesyonları ile tümör baskılayıcı gen promoterlerinin geniş delesyonları ve DNA hipermetilasyonudur [60].

Tümöre özgü moleküler değişiklikler serum ve plazmada bulunan çok az miktarlardaki DNA'yı çoğaltabilen PCR dayalı metotlarla belirlenebilmekte ve kantitatif olarak analiz edilebilmektedir.

### **2.2.4. Cell Free DNA Kullanım Alanları**

Yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde literatürde cfDNA ile ilgili araştırmaların büyük çoğunluğunun son dekat içinde yapıldığını görmekteyiz.

Günümüzde serbest fetal DNA gebelik döneminde tizomi taraması için neredeyse rutin olarak kullanılmaktadır. Anne kanında fetal DNA ilk defa 1997

yılında gösterilmiştir [61]. İçinde bulunduğumuz zamanda ise yüksek riskli gebeliklerde amniosentez, kordosentez, koryon villus biyopsisi gibi invaziv işlemler yerine noninvaziv olarak prenatal tanı konmasında serbest fetal DNA kullanılmaktadır.

Serbest fetal DNA gebelik sırasında plasentadan anne kanına geçen ve hücre içerisinde bulunmayan serbest olarak saptanan fetüse ait genetik materyaldir. Anne kanında fetüse ait bu serbest genetik materyal DNA ve RNA şeklinde olabilir. DNA'nın esas kaynağının plasentadaki sinsityotrofoblastların apoptozu olduğu düşünülmektedir. Anne kanında RNA ve DNA haricinde fetüse ait intakt hücreler de saptanabilir ancak bunlar çok nadirdir ve genetik inceleme için kullanışlı değildir [62] [63].

Anne kanında serbest fetal DNA'nın yarı ömrü dakikalarla ifade edilebilecek kadar kısa olduğundan doğumdan yaklaşık 2 saat sonra anne kanında saptanamadığı bildirilmiştir [64].

Trizomi taraması haricinde serbest fetal DNA'nın kullanıldığı diğer alanlar şöyle sıralanabilir:

Fetal cinsiyet tayini; Erken fetal cinsiyet tayini, konjenital adrenal hiperplazi, Dushene musküler distrofi gibi çeşitli X'e bağlı geçiş gösteren hastalıkların prenatal tanısı için önemlidir.

Fetal RhD genotipleme; Anne ve bebeği arasında RhD kan uyumsuzluğunun prenatal tanısı için rutin olarak kullanılacağı öngörülmektedir.

Tek gen bozukluklarının prenatal tanısında; Akondroplazi, hemoglobinopatiler, konjenital adrenal hiperplazi, kistik fibroz, Huntington hastalığı, Miyotonik distrofi gibi giderek genişleyen bir çeşitlilikte kalıtsal hastalıkların test edilmesine olanak sağlamaktadır [65].

Fetal DNA derişimlerini arttıran hastalıkların tespiti; Preeklampsili gebelerin plazma DNA derişimindeki artış ve bu durumun tanısında dolaşımdaki DNA düzeylerinin kullanılabilir bir belirteç olabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur [66].

Hamilelik süresinde anneden izole edilen cfDNA'nın yaklaşık %5'inin fetüse ait olduğu gösterilmiştir [67].

Anne kanında serbest fetal DNA analizinin ilerleyen yıllarda kullanım alanının genişleyeceği ve sensitivitesinin artacağına kesin gözüyle bakılmaktadır. Yüksek ihtimalle invaziv testlerin yerini tamamen alacak ve tarama değil tanı amacıyla kullanılacaktır. Günümüzde yapılan prenatal tarama testleri ile down sendromlu bebeklerin yaklaşık %15-20'si tarama testi sonucu normal geldiği için saptanamamaktadır. Ayrıca yüksek risk nedeniyle amniyosentez uygulanan her 20 gebeden 1'inde down sendromlu bebek saptanmaktadır ve 19 gebe gerekiz invaziv girişime maruz kalmaktadır. İlerleyen yıllarda sensitivitesi yüksek tarama testlerinin ucuzlayarak yaygınlaşmasının önemli faydalar sağlayacağı düşünülmektedir.

Onkolojide cfDNA tanı anında, tedavi süresince hastalığın progresyon takibinde ve tedavi yanıtını değerlendirmede birçok faydalı bilgiler sunar. Bunların yanı sıra cfDNA'daki ilaç direncine katkıda bulunabilecek varyantların analizi ile hastalara doğru ve etkin tedavi protokollerinin seçilmesinde de faydalıdır [68].

Kanser tanısında cfDNA kullanımındaki en yaygın uygulama tümöre bağlı DNA değişikliklerinin saptanması yönündeki uygulamalardır. Tümör DNA'sının tüm karakteristikleri cfDNA'da da bulunmaktadır. Total cfDNA içindeki tümör spesifik cfDNA miktarı %10'un altında olsa da [69], bir çok çalışma kansere özgü genetik ve epigenetik değişikliklerin cfDNA'da bulunduğunu göstermiştir [70]–[72] Günümüzde kansere özgü birçok mutasyon tanımlanmış ve saptanan mutasyonların tanı, tedavi takibi ve prognoz üzerindeki etkileri ortaya konmuştur.

Neoplastik, nonneoplastik hastaları ve sağlıklı olguları içeren geniş bir çalışmada, bu çalışmaya dahil edilen grupların cfDNA konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık bulunmuş ancak cfDNA'nın kanser tanısında tarama amaçlı kullanılabilmesi için bir cutoff değeri belirlenememiştir [73].

1995 yılında yapılan bir çalışmada dolaşımlarında düşük miktarlarda DNA'ya sahip olan kanser hastalarında sağkalımının 100 ng/ml DNA'ya sahip olanlara göre daha uzun olduğunu bildirilmiştir [74]. Erken evrelerde bile tümör DNA'larının dolaşımda olduğunu gösterilmesi tedavi yaklaşımları açısından ilgi çekicidir. Kanserin erken evresinde kan testleri gibi daha az invaziv olan tetkikler invaziv tanı yöntemlerinden daha cazip görülmektedir. Plazma DNA düzeylerinin başarısız tedaviyi takiben artma, başarılı tedaviden sonra ise azalma eğiliminde olduğu da gösterilmiştir [75].

Hasta plazma ve serum örneklerinde, kanser etiolojisinde rol oynayan virüslere bağlı nükleik asitler de yer alabilir. İnsan papilloma virüs (HPV) ile serviks kanseri, epstein barr virüs (EBV) ile Burkitt lenfoma ve nazofarenks kanserleri ilişkisi bu duruma örnek olarak verilebilir. Bu olgularda kanda dolaşan viral nükleik asitlerin gösterilmesi hastalığın tanısında önemlidir. 1998 yılında nazofarenks kanserli hastaların serumlarında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile EBV DNA varlığını gösterilmiştir [76].

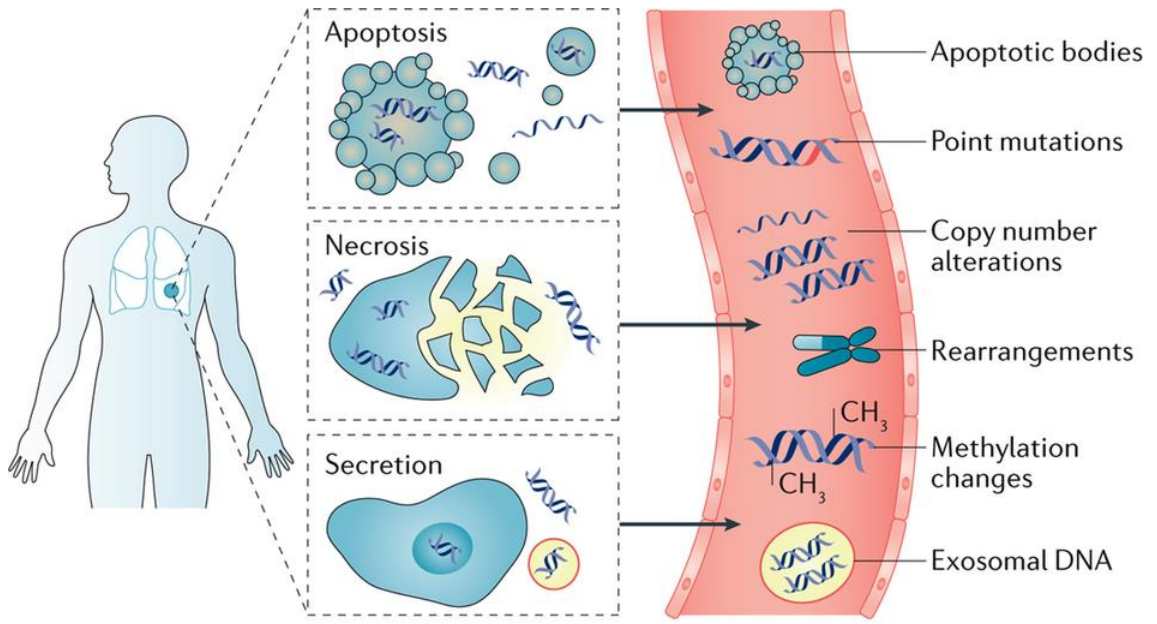
Pek çok kanser türünde, tümör dokusunda belirlenen spesifik onkogenler, tümör baskılayıcı genlerdeki nokta mutasyonları, heterozigotluk kaybı, mikrosatellit instabilitesi, kromozomal translokasyonlar ve hipermetilasyon gibi moleküler değişiklikler hastaların önemli bir bölümünde serum veya plazmada da bildirilmiştir [77] [78] [79] (Şekil 2.2).

Tümör baskılayıcı genlerin farklı metilasyon parametreleri kansere özgü bir bulgudur ve bu bulgu kanda dolaşan tümör kaynaklı DNA'larda tespit edilebilir. Tümör baskılayıcı genlere ait artmış metilasyon farklı tümör tiplerinde önemlidir. Hepatoselüler karsinomalı olguların tümör dokusunda ve kanda p16 gen bölgesinin metilasyonunun araştırıldığı bir çalışmada tümör dokusunda, serum ve plazma örneklerinde artmış metilasyon varlığı gösterilmiştir [80].

Kanda dolaşan nükleik asitlerden kanserli olgularda mikrosatellit değişiklikler de gösterilmektedir. Genomda kısa tekrarlayan diziler olan mikrosatellitler genetik analizlerde polimorfik belirteç olarak kullanılmaktadır. Mikrosatellit instabilitesi özellikle herediter non-polipozis kolon kanserleri ve



küçük hücreli akciğer kanserlerinin %50'sinde saptanan bir bulgudur. Kanserlerde tümör baskılayıcı genlerde bir allelin kaybı sık gözlenen bir bulgu olup bu kaybın olup olmadığının polimorfik belirteç ile saptanması hem tümör tanısını hem de prognozu göstermesi açısından önemlidir. Mikrosatellit instabilitesi baş-boyun, akciğer, meme, renal hücre, kolon kanseri ve malign melanomalı hastaların plazma ve serumlarında gösterilmiştir [81] [82] [83].



Nature Reviews | Cancer

**Şekil 2.2** cfDNA kaynakları ve genetik değişiklikleri [84]

Kanda dolaşan nükleik asitlerden kanserli olgularda mikrosatellit değişiklikler de gösterilmektedir. Genomda kısa tekrarlayan diziler olan mikrosatellitler genetik analizlerde polimorfik belirteç olarak kullanılmaktadır. Mikrosatellit instabilitesi özellikle herediter non-polipozis kolon kanserleri ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin %50'sinde saptanan bir bulgudur. Kanserlerde tümör baskılayıcı genlerde bir allelin kaybı sık gözlenen bir bulgu

olup bu kaybın olup olmadığının polimorfik belirteç ile saptanması hem tümör tanısını hem de prognozu göstermesi açısından önemlidir. Mikrosatellit instabilitesi baş-boyun, akciğer, meme, renal hücre, kolon kanseri ve malign melanomalı hastaların plazma ve serumlarında gösterilmiştir [81] [82] [83].

Bahsedilen bu farklı moleküler genetik değişiklikler, kanserin erken ve noninvasiv tanısında, risk belirlenmesinde kullanılabilecek spesifik ve sensitif potansiyel belirteçler olarak görülmektedir. Bu tür moleküler değişikliklerin serum ve plazmada incelenmesinin, tümörde bulunan moleküler lezyonlar konusunda daha belirgin bir tablo ortaya çıkarabileceğine inanılmaktadır.

Ayrıca, cfDNA'nın metastaz sürecinde rol alabileceği söylenmiş ve "genometastaz" hipotezi ortaya atılmıştır [85]. Buna göre uzak organ metastazlarının, plazmada dolaşan tümör kaynaklı onkogenlerin bu organlardaki duyarlı hücrelere girerek bunları transforme etmesiyle oluşabileceği ileri sürülmektedir.

Şimdiye kadar plazma ve serumda dolaşan serbest nükleik asitler klinik rutin kullanıma henüz girmemiştir. Ancak önümüzdeki yıllarda kanserin erken tanısında, rezidü hastalık saptanmasında, tedavi takibinde ve kanser yönetiminin diğer alanlarında tümör spesifik nükleik asitlerin kullanılmaya başlanması beklenmektedir. Böylece kanser mutasyonlarının saptanıp analiz edilmesi invaziv biyopsiler yerine likit biyopsiyle cfDNA eldesi yöntemiyle mümkün olacaktır [86].

### **2.3. PET/BT**

PET, pozitron yayan radyofarmasötikler kullanılarak hastadan yayılan fotonları detekte eden ve bu fotonların üç boyutlu dağılımının tomografik olarak değerlendirilmesine imkan veren noninvaziv bir görüntüleme yöntemidir.

Proton yönünden fazlalığı olan çekirdekler elektron yakalayarak yahut pozitron emisyonu ile bozunarak kararlı hale geçerler. Pozitron emisyonunda ortaya çıkan pozitif yüklü bir elektron olan pozitronun ömrü çok kısadır ve enerjisine bağlı olarak ortamda 2-7 mm ilerledikten sonra yolu üzerindeki negatif yüklü bir elektrona çarpınca, kütleinin enerjiye dönüşümü olayı

gerçekleşir. Bu sırada birbiriyle çarpışan kütleler yok olurken,  $E=mc^2$  formülüne göre sahip oldukları kütlelerin enerji eşdeğeri olan 511 keV enerjili iki tane foton birbiriyle  $180^\circ$  açı yapacak şekilde zıt doğrultuda yayınlanır. Bu yok olma olayına anihilasyon, oluşan fotonlara da anihilasyon fotonları denir. Ortaya çıkan bu iki fotonun eş zamanlı deteksiyonu PET’de görüntülemenin temel prensibini oluşturmaktadır [87].

PET radyoizotopları ya da pozitron salınımı yaparak bozulan radyonüklidler doğada bulunmayıp sadece yapay olarak üretilirler. Bu üretim de siklotrondaki stabil bir maddenin protonlar, döteronlar veya helyum çekirdeği ile bombardımanından oluşur [88].

PET görüntülemede kullanılan radyoizotoplar vücutta bulunan temel elementler ile benzer biyokimyasal özellikler taşırlar. Kullanılma amacına uygun olarak uygun biyomoleküllerle birleştirilen bu radyoizotoplar radyofarmasötik haline getirilir. Bu sayede hücresele düzeyde araştırma yapabilme, hastalıkların altında yatan biyokimyasal süreçlerin araştırılması ve invivo olarak görüntülenmesi mümkün olabilmektedir [89]. PET çalışmalarında % 90 Flor-18 (F18) işaretli bileşikler kullanılmaktadır. Kullanılabilecek diğer maddeler arasında Oksijen-15 (O15), Azot-13 (N13), Karbon-11 (C11), Galyum-68 (Ga68) ve Rubidyum-82 (Rb82) sayılabilir.

PET görüntülemede kullanılan radyoizotopların çoğu kısa yarı ömürleri nedeniyle üretildikleri yerde kullanılmalıdır. F18 ise nispeten uzun yarı ömrü sayesinde çevredeki PET merkezlerine transfer edilebilir (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1.** Bazı önemli siklotron ürünü PET radyonüklidleri ve fiziksel özellikleri [90]

| <b>Radyonüklid</b> | <b>Fiziki Yarı Ömrü</b> | <b>Maks <math>\beta^+</math> Enerjisi (MeV)</b> |
|--------------------|-------------------------|-------------------------------------------------|
| Rb82               | 1,3 dk                  | 3,150                                           |
| C11                | 20,3 dk                 | 0,960                                           |
| N13                | 9,97 dk                 | 1,198                                           |
| O15                | 2,1 dk                  | 1,723                                           |
| F18                | 110 dk                  | 0,635                                           |

Bunca radyonükid arasında F18 in görüntüleme için en uygun radyofarmasötik olmasının uzun yarı ömrü haricinde başka sebepleri de vardır. Bunlar; pozitron enerjisinin düşük olması (0,635 MeV) nedeniyle dokuda fazla mesafe kat edememesi sayesinde yüksek çözünürlüklü görüntülemeye el vermesi, yüksek spesifik aktivite ile üretilebilmesi, tek siklotronda büyük miktarlarda üretilebilmesi (>10 Ci), tekrarlayan çekimler için uygun radyasyon dozimetrisine sahip olması ve üretim merkezinden PET merkezine ulaşımına izin veren uzun yarı ömrü 110 dakika olarak sayılabilir [91].

PET'in anatomik bilgi sağlayan radyolojik görüntüleme yöntemlerine olan üstünlüğü, tümör tarafından tutulan radyofarmasötikler aracılığı ile tümörde morfolojik değişiklikler ortaya çıkmadan önce oluşan metabolik değişikliklerin saptanmasıdır. Bu teknikte vücuttaki biyolojik bir fonksiyonun moleküler görüntülemesi yapılmaktadır. Metabolik değişiklikleri saptayabilmesi ise PET görüntüleme için kullanılan radyoizotoplar sayesinde mümkün olmaktadır.

Görüntüleme amaçlı kullanılan radyofarmasötiklerin hedef organda maksimum düzeyde, diğer organlarda minimum düzeyde tutulması beklenir. Bu yüzden radyoizotoplar ile birleştirilen farklı moleküller ile radyofarmasötikler geliştirilmiştir (Tablo 2.2)

PET, verilen radyofarmasötik ile vücudun fonksiyonu hakkında bilgi toplarken, BT vücuttaki normal ve patolojik dokuların anatomik detayını vermektedir. Her iki cihazın birleşmesi ile elde edilen veriler; PET görüntüleri, BT görüntüleri ve her ikisinin iş istasyonunda üst üste bindirilmesi ile elde olunan füzyon görüntüleri şeklindedir [92].

**Tablo 2.2** PET görüntülemesinde kullanılan bazı radyofarmasötikler ve metabolik özellikleri [90], [93], [94]

| <b>Radyofarmasötik</b>                  | <b>Metabolizması</b>                    |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| F18 FDG (florodeoksiglukoz)             | Glukoz metabolizması                    |
| F18 NaF (sodyum florid)                 | Kemik metabolizması                     |
| F18 FLT (florotimidin)                  | DNA sentezi                             |
| F18 FCH (florometilkolin) ve C 11 kolin | Membran lipid sentezi                   |
| F18 DOPA                                | Aminoasit transportu ve protein sentezi |
| F18 FMISO (floromisonidazol)            | Tümör hipoksi                           |
| F18 FES (floroöstradiol)                | Östrojen reseptör analogu               |
| Ga68 PSMA                               | Prostat spesifik membran antijeni       |
| Ga68 DOTA-TOC                           | Somatostatin reseptör analogu           |
| F18 Galakto RGD (Arg-Glu-Asp)           | Tümör anjiyogenezi                      |

### 2.3.1. PET/BT Tarihçesi

1928 yılında İngiliz fizikçi Paul Dirac pozitronların varlığını ortaya koymuş, bu buluşu ile 1933'te Nobel Fizik Ödülüne layık görülmüştür. İlk siklotronun 1929 yılında Ernest O. Lawrence tarafından bulunması ve 1932 yılında İngiliz fizikçi Sir John Douglas Cockcroft ve İrlandalı fizikçi Ernest Thomas Sinton Walton tarafından ilk yüksek enerjili yapay emisyonun üretilmesiyle birçok yeni radyonüklid üretimi gerçekleştirmişlerdir.

1950'lerin ilk dönemlerinde Massachusetts General Hospital'da karşıt iki NaI (TI) detektör kullanan basit bir pozitron tarayıcı üretilerek şüpheli bir beyin tümörü olan hasta görüntülendi. Böylece pozitron ile ilk tıbbi uygulama yapılmış oldu [95]

Bir çok prototip sonrasında, 1974'de Washington Üniversitesindeki araştırmacılar insan çalışmaları için geliştirilmiş ilk klinik pozitron tomografi

olarak da bilinen PET III'ü ürettiler. Pozitron emisyon tomografisi ile moleküler görüntülemenin klinik uygulamaya geçmesiyle birlikte onkolojik vakaların değerlendirilmesi yeni bir bakış açısı kazanmıştır.

1970'li yıllarda Hounsfield ve Ambrose'nin X-ışınli bilgisayarlı tomografiyi keşfi ile tıbbi görüntüleme alanında yeni bir dönem başlamıştır [96].

PET'in BT ile kombine edildiği ilk prototip PET/BT tarayıcı ise Pittsburgh Üniversitesinde 1998'de klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır [97].

Günümüzde tıptaki gelişmelerin yanı sıra çekirdek fiziği, radyofarmasi, elektronik, biyomedikal ve bilgisayar teknolojisindeki gelişmeler sayesinde yüksek rezolüsyonlu PET görüntüleme mümkün hale gelmiştir. PET cihazları gelişim süreci içerisinde sisteme daha çok sayıda detektör, ring ve foton çoğaltıcı tüp (PMT) eklenmesi ile sistem duyarlılığı ve rezolüsyonu artırılmış, görüntüleme süresi ise kısaltılmıştır [98].

PET cihazları ilk yıllarda sadece bilimsel araştırmalarda kullanılırken BT ile entegre edilen PET/BT cihazları artık yüksek tanısal potansiyeli ile rutin klinik uygulamalarda kullanılır hale gelmiştir.

PET tarayıcıları, başlangıçta tek kesitlik görüntüler alan ortalama 32 adet NaI(Tl) detektöründen oluşan, yaklaşık 2 cm çözünürlüklü sistemler iken, günümüzde farklı kristal (LSO, BGO, GSO gibi) yapılarında ve daha çok sayıda detektörden oluşan, aynı anda birkaç kesit görüntü alabilen sistemler haline dönüşmüştür. Bu gelişmeler sayesinde cihaz çözünürlüğü 2 cm'den 5 mm'nin altına inmiştir.

### **2.3.2. F18-FDG PET/BT'nin Uygulama Alanları**

Onkolojik F18-FDG PET/BT endikasyonları şunlardır;

-Tanı; diğer tanı modaliteleri ile tespit edilen lezyonların tanısı, metabolik karakterizasyonu, lezyondan biyopsi alınacaksa en fazla bilgi verecek lokalizasyonun belirlenmesi ve ilgilenilen lezyonun benign/malign ayrımı,

-Primer odak arama; malignite öyküsü olmayan olgularda, primeri bilinmeyen tümör metastazı fark edildiğinde ya da paraneoplastik sendromlu hastada, primer odağın tespiti,

-Evreleme; bilinen malignitelerin evrelendirilmesi,

-Tedavi yanıtı değerlendirme; bilinen malignitele bağlı tedavi alan hastalarda tedaviye erken yanıtın değerlendirilmesi, yanıt yoksa farklı tedavi seçeneklerine yönlendirilmesi için,

-Yeniden evreleme; tedavi sonrası fizik muayenede ya da diğer görüntüleme çalışmalarında saptanan anormal bulguların tümör/nekroz/fibroz doku ayrımının yapılması, tümör belirteçlerinin yükseldiği durumlarda tümör rekürensini saptanması ve FDG pozitif, potansiyel olarak tedavi edilebilir relapsı olan hastalarda yeniden evreleme için,

- Radyoterapi planlamada rehberlik amaçlı [99].

### **2.3.3. F18-FDG'nin Hücrelerde Tutulum Mekanizması**

Açlık halinde beyin hariç vücuttaki birçok doku öncelikle serbest yağ asitleri enerji kaynağı olarak kullanır. Karbonhidrattan zengin bir öğün sonrası artan insülin seviyeleri bu metabolizmayı geçici olarak yağ asidinden glukoz yönüne çevirir.

İlk kez 1930 yılında Otto Warburg birçok tümör hücresinin primer enerji kaynağı olarak glukoz kullandığını göstermiştir [100]. Bunun sebebi olarak, genetik mutasyonlar sonucu tümör hücrelerinde glukoz taşıyıcı proteinlerin (GLUT) sayısının ve intraselüler hekzokinaz enziminin artmış ekspresyonu sonucu glikolizin artması sorumlu tutulmaktadır [101].

Hipoksik dokular süreklilik arzeden artmış glukoz ihtiyacını karşılamak için enerji kaynağı olarak anaerobik glikolizi kullanır [102]. Tümörler de büyürken, oksijen açığına girerek hipoksik kaldıklarında anaerobik solunum yapmak trikarboksilik asit siklusu ile aerobik metabolizmadan daha kolay hale gelir [103]. Tümör hücrelerinin hipoksik ortama rağmen canlı kalabilmesinde Hipoksi İndüksiyon Faktörü-1 (HIF-1) proteinin etkisi olduğu düşünülmektedir.

HIF-1 etkisi ile GLUT1 ve heksokinaz üretimini artırır. Ayrıca neovaskülariteyi destekleyen vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üretimini de uyarır [104].

Yeterli oksijen varlığında bile hızlı replike olan kanser hücreleri ana metabolik yol olarak glikolizi kullanırlar [105]. Böylelikle tümör hücrelerinde glukoz tüketimi normal hücrelere oranla artmış olur [103].

Kanser hücrelerinde glikolitik yolun ve buna bağlı olarak hücre içine glukoz transportunun artış derecesi, tümörün agresifliği ve metastaz potansiyeli ile doğru orantılıdır.

Bir glukoz analogu olan FDG ve glukoz intravenöz uygulamanın ardından glukoz metabolizmasının belli bir aşamasına kadar aynı yolu izlerler. FDG, glukozla benzer şekilde insülin bağımlı olmayan GLUT1 ile tümör hücresi içine alındıktan sonra heksokinaz enzimi ile fosforile olur ve FDG-6-fosfat (FDG-6-P) formuna dönüştürülür. FDG-6P'nin ikinci konumunda hidroksil grubu bulunmaması nedeniyle, glukoz-6-izomeraz enzimi için uygun bir substrat olmadığından glikolizin diğer metabolik reaksiyonlarına ilerleyemez. FDG-6P, kandan yeni FDG geldiği sürece tümör hücresinde giderek artan bir biçimde birikmeye başlar. FDG-6P'nin tümör hücresinden çıkmasının tek yolu fosforilaz enzimleri ile FDG'ye dönüşüp hücre dışına taşınmasıdır. Ancak, FDG-6P'nin hücre zarından serbestlenmesi için gerekli olan glukoz-6-fosfataz enzimi malign hücrelerde çok az miktarda bulunduğundan FDG-6P dokularda birikmeye devam eder ve hapsolür [106].

Glukoz kullanımı ve metabolizması artmış dokular, daha çok FDG tutmaları nedeniyle, elde edilen PET görüntülerinde normal dokulara göre daha yüksek sayım yoğunluğu gösteren odaklar olarak karşımıza çıkarlar [107]. Normalde glukoz molekülü renal glomerüllerden serbestçe süzülür ve nefronlar tarafından hemen geri emilir. FDG ise süzüldükten sonra neredeyse hiç geri emilmez ve idrar yolu ile vücuttan atılır [103]. Bu da renal pelviste, toplayıcı sistemde ve mesanede yüksek yoğunluklu FDG sayımı izlenmesine sebep olur.



FDG, bu prensiple tümör görüntülemeye benzersiz bir metabolik ajan olarak kullanım alanına sahiptir. Hücre bölünme hızında, glukoz kullanımında, glukoz taşıyıcı protein aktivitesinde ve heksokinaz aktivitesinde görülen artış tümör hücrelerinde izlenen metabolik değişikliklerdir. Bu sebeple açlık fazında intravenöz FDG uygulaması sonrasında gerçekleştirilen PET görüntülemeye tümör dokularında normal dokulara göre artmış tutulum odakları saptanır.

FDG tümöral dokuya özgü olmadığından enfeksiyöz ve enflamatuar süreçlerde, tüberküloz, sarkoidoz ve fungal enfeksiyon gibi pek çok durumda artmış aktivite izlenebilir.

#### **2.3.4. Standardize Edilmiş Tutulum Değeri (SUV)**

F18-FDG PET görüntüleri için kalitatif ve semikantitatif değerlendirme kullanılmaktadır. Semikantitatif değerlendirme parametresi olarak en sık FDG'ye ait standardize edilmiş tutulum değerinin İngilizce karşılığı olan "Standardized Uptake Value" (SUV) kullanılır. SUV değeri dokuda gram başına biriken radyoaktivite miktarını temsil etmektedir [108].

SUV değeri yarı nicel bir ölçüm değeridir ve birçok faktörden etkilenir:

a- Hasta Ağırlığı;

Yağ dokusu görece daha az glukoz metabolizması gösterdiğinden obez hastaların normal dokudaki SUV değeri zayıf hastalara göre daha yüksektir.

b- Görüntüleme Zamanı;

FDG tutulumu pek çok lezyonda FDG uygulamasını takiben ilk iki saatte hızlı, daha sonra yavaş artar [109]. Görüntüleme olması gerektiğinden erken yapılırsa düşük, gecikmiş taramalarda ise yüksek SUV değerleri ölçülür. Erken görüntülemeler lezyonlardaki SUV plato değerlerine henüz ulaşmadığından önemli ölçüm hatalarına neden olabilir. Tedavi girişimlerinden sonra SUV plato değerine daha erken ulaşır.

c- Plazma glukoz düzeyi;

İşaretlenmemiş glukoz FDG tutulumu ile rekabet durumunda olduğundan, plazma glukozu ne kadar yüksek olursa SUV değeri de o kadar düşük olur. Bu nedenle yüksek glukoz düzeylerinde SUV olduğundan daha düşük hesaplanır. Bu durumda ideal olarak bu değeri yükselten bir düzeltme yapılmalıdır. Plazma glukoz düzeyine göre SUV değeri düzelmesi kullanılabilir (örneğin SUV değeri x glukoz konsantrasyonu /100mg/dl) Bu öncelikle aynı hastanın ardışık takiplerinde faydalıdır, ancak çalışmalar arasında normal dokulardaki SUV değeri değişkenliği artacaktır.

d- Kısmi hacim etkisi;

Kısmi hacim etkisinden dolayı PET rezolüsyon sınırlanının altında kalan küçük lezyonlarda işlem hatası sonrası düşük SUV değerleri saptanabilir.

e- Zemin Aktivitesi;

Bir başka kısmi hacim etkisi de zemin aktivitenin ilgi alanı içine sızmasıdır. Bir karaciğer tümörüyle eşit metabolik aktiviteye sahip olan bir akciğer tümörünün SUV değeri, daha az zemin aktivitenin ilgi alanı içine sızmasından dolayı daha düşük olabilir.

f- Dozun damar dışına kaçması;

SUV değerleri olduğundan daha düşük ölçülür. Bu durumda PET değerlendirmesi sırasında tümörün zemin aktiviteye oranını kullanmak daha doğru olacaktır.

g- Rekonstrüksiyon parametresi;

Filtrelenmiş geri projeksiyon ve iteratif rekonstrüksiyon ile elde edilen SUV değerleri farklı olacaktır.

h- BT tabanlı atenüasyon düzeltmesi;

BT tabanlı atenüasyon düzeltmenin, PET transmisyon cihazı kaynaklı atenüasyon düzeltmeden daha yüksek SUV (%10 ila %50) verme eğiliminde olduğu gösterilmiştir [110] [104].

SUV değeri minimum, maksimum ve ortalama olarak hesaplanabilir. Bu ölçümde değeri merak edilen lezyona / lenf noduna / metastaz bölgesine ilgi alanı (ROI = region of interest) çizilmelidir. Ortalama SUV değeri ROI içindeki tüm piksellerin matematiksel ortalama değerini verir. Minimum ve maksimum değerler ise ROI içindeki en düşük ve en yüksek piksel değerlerini göstermektedir. Genel olarak PET/BT değerlendirmeleri maksimum SUV (SUV max) değeri ile yapılmaktadır.

SUV max PET veya PET/BT cihazlarının içerdiği yazılım tarafından aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$\text{SUV max} = C / (\text{ID} / w)$$

Bu formülde C: Seçilen ROI içerisinde Bq/ml ya da mCi/ml cinsinden FDG konsantrasyonunu, ID: Bq ya da mCi cinsinden hastaya enjekte edilen toplam FDG dozunu ve w:hastanın kg cinsinden ağırlığını ifade etmektedir.

Her dokuda aynı olmamak üzere genel olarak SUV max değeri 2,5'tan büyükse, kesinlik taşımamakla birlikte malignite lehine yorumlanmaktadır. Çeşitli çalışmalar SUV max değerinin malignite potansiyeli ve prognozu tahmin etmede bağımsız bir öngörü aracı olduğunu ve kullanıcılar arası değişkenliğinin diğer yöntemlere göre daha düşük olduğunu göstermiştir [111] [112]. SUV değeri tümöral dokuda artmış F18 FDG akümüasyonu ile yükselmekte ve bu onun proliferatif aktivitesini ve biyolojik saldırganlığını göstermektedir [113].

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi**

Çalışmaya Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'na FDG PET/BT görüntülemesi için yönlendirilmiş, FDG PET/BT görüntülemesi yapılmış 87'si kadın 97'si erkek 184 hasta ve kontrol grubu olarak 57'si kadın 35'i erkek 92 kişi dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 53.37, yaş aralığı ise 25-89 arasındayken kontrol grubunun yaş ortalaması 36.5, yaş aralığı ise 19-86 aralığında idi. Hastaların PET/BT

görüntülerinden elde edilen SUV max değerleri ile ve plazma cfDNA değerleri ayrıca hasta grubu ile kontrol grubunun plazma cfDNA değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Bu çalışma için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 23.07.2014 tarih ve 2014-14 sayılı onayı alınmıştır.

### **3.2. PET/BT Görüntüleme**

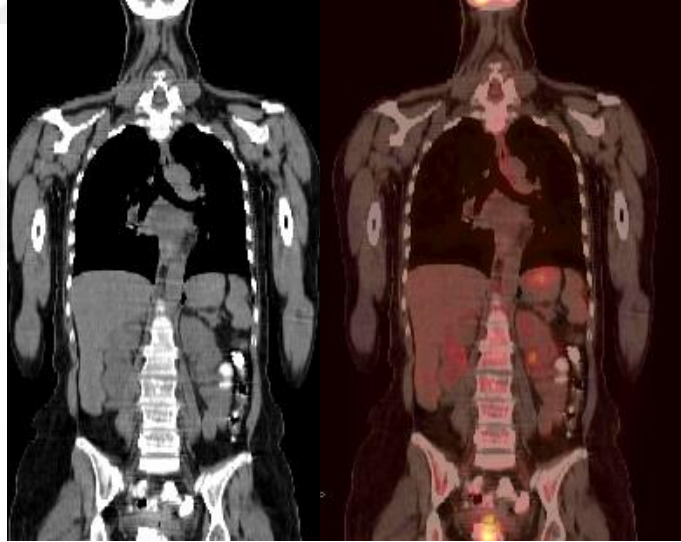
Çalışmaya dahil edilen 184 hastanın PET/BT görüntülemeleri, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda Biograph Duo LSO FDG PET/BT tarayıcı (Siemens, Almanya) ile gerçekleştirildi ve tüm hastalara rutin PET/BT görüntüleme protokolü uygulandı. Bu protokole göre görüntüleme öncesi son iki günde hastaların aşırı fizik egzersizden kaçınmaları ve soğuğa maruz kalmamaları önerildi. En az altı saatlik açlık sonrası tüm hastaların kapiller kandan glukoz ölçümleri yapıldı ve serum glukoz düzeyi 180'nin üzerinde bulunan hastaların PET/BT görüntülemesi kan şekeri regülasyonu amacıyla ertelendi. Kan şekeri uygun düzeyde olan hastalara 8-12 mCi F18 FDG intravenöz yoldan anjioket yardımıyla enjekte edildi ve enjeksiyondan sonra anjioket 10-20 ml serum fizyolojik ile yıkandı. Hastalara herhangi bir medikasyon yahut intravenöz kontrast madde uygulanmadı ancak bir gece önceden başlanarak 300mg/50ml dozunda kontrast ajan 1500 ml su ile birlikte oral yolla uygulandı. Enjeksiyonu takiben radyofarmasötüğün biyodağılımının tamamlanması ve ideal tümör tutulumunun oluşması için hasta sakin ve rahat bir ortamda, konuşmaması ve hareket etmemesi söylenerek 45-60 dakika dinlendirildi. Bekleme süresi sonunda hastanın mesanesi boşaltılarak sırtüstü pozisyonda kollar yanda olacak şekilde PET/BT tarayıcının yatağına yatırıldı. Önce rehber amaçlı topogram görüntüleri, ardından verteksten uyluk 1/3 proksimaline kadar olan vücut bölümlerinin I.V. kontrastsız BT görüntüleri ve takiben PET görüntüleri alındı. Hastaların PET/BT görüntüleri ortalama 7-8 yatak pozisyonunda, 3 mm'lik kesitler halinde alınarak yaklaşık 25 dakikada tamamlandı.

Bütün hastaların PET/BT görüntüleri en az bir nükleer tıp uzmanı ve bir kıdemli nükleer tıp asistanı tarafından rutin değerlendirme prosedürü çerçevesinde raporlandı. Bu prosedür kapsamında, atenüasyon düzeltilmesi

yapılmış ve yapılmamış multiplanar PET, BT ve PET/BT füzyon kesitleri, maksimum yoğunluk izdüşümü (maximum intensity projection=MIP) PET görüntüleri, bilgisayar yazılım programı kullanılarak LCD monitör üzerinde incelendi. Değerlendirmede, görüntüleme öncesinde hasta dosyası ve hasta ile doğrudan görüşme yoluyla elde edilen klinik öykü, mevcut yakınmalar, konvansiyonel görüntüleme bulguları, biyopsi sonuçları ve geçirilmiş operasyon bilgileri göz önünde bulunduruldu. PET/BT’de saptanan lezyonlar öncelikle görsel olarak değerlendirildi. Kantitatif değerlendirmelerde ise SUV max değerleri kullanıldı. SUV max değeri ilgi alanı (ROI) tekniğine göre ölçüldü ve bilgisayar tarafından otomatik olarak hesaplandı. SUV max değerleri, tüm pozitif lezyonlar arasında en yüksek FDG tutulumu olan lezyondan ölçüldü.



A-MIP Koronal



B-BT Koronal



C-Füzyon Koronal

**Şekil 3.1.** PET/BT Koronal Görüntüler(A,B,C)

### **3.3. Cell Free DNA Ölçümü**

#### **3.3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Plazmanın Ayırıştırılması**

Her bir olgudan ön koldan 10 ml venöz kan örneği Etilen Diamin Tetra Asetikasit (EDTA) içeren tüplere alındıktan sonra Tıbbi Genetik laboratuvarına gönderildi. Kan örnekleri bekletilme olmaksızın 3800 rpmde 10 dk santrifüjlendi. Süpernatant yeni bir tüpe aktarılarak 3000 rpm de 10 dk santrifüjlendi. Sonrasında plazma örnekleri 1'er ml olmak üzere kryo tüplere dağıtılarak daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

#### **3.3.2. DNA İzolasyonunda Kullanılan Malzemeler**

- Santrifüj (Rotofix 32A- Hettich)
- Mikrosantrifüj ( Mikro 120-Hettich)
- Isıtıcı blok (Eppendorf)
- Vorteks (IKA Vortex Genius 3)
- Otomatik pipet seti (Eppendorf Researce plus 1-10 µl,10-100µl ve 100-1000µl)
- Manuel Nükleik Asit İzolasyon kiti: Qiagen QiAMP DNA Blood Mini Kit
- MagNA Pure Compact otomatik Nükleik Asit İzolasyon Kiti, Roche
- Etanol (%96-100)
- EDTA'lı tüp
- 2 ml steril ependorf tüpleri
- Steril, filtreli 10 µl,100 µl,ve 1000 µl pipet uçları
- Tek kullanımlık pudrasız nitril eldiven
- Nanodrop (Nanophotometer, Implen)
- MagNA Pure Compact Roche Otomatik İzolasyon Cihazı

### 3.3.3. Manuel DNA izolasyonu

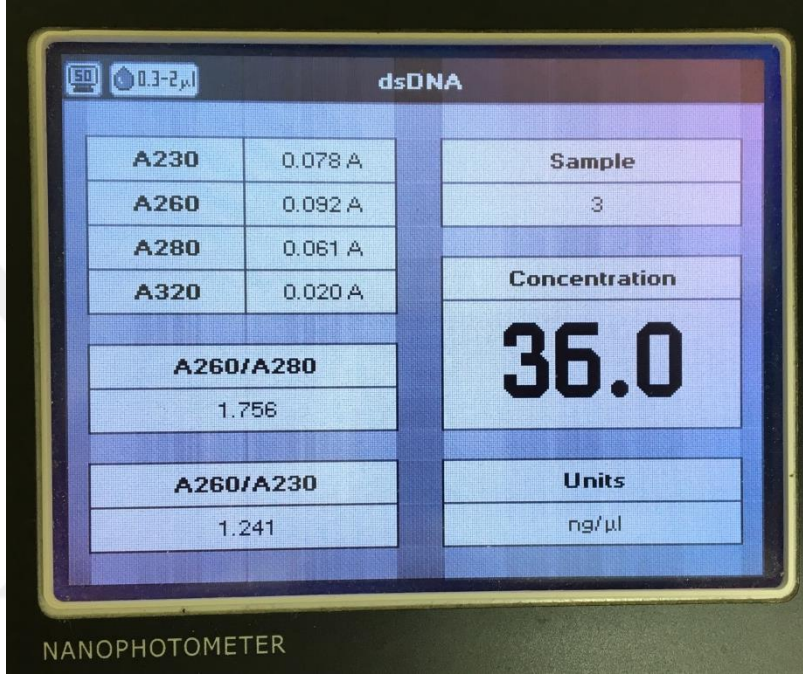
Qiagen QiAMP DNA Blood Mini Kiti, üreticinin kan ve vücut sıvılarından DNA eldesi protokolüne göre gerçekleştirilip, spin kolon yöntemi kullanılmıştır.

Plazmadan cfDNA eldesi amacıyla;

- 40 µl Qiagen Proteinaz K 2 ml'lik ependorf tüpe konuldu.
- Üzerine 400 µl plazma örneği eklendi.
- Plazma örneğinin üzerine 400 µl AL buffer eklenilerek 15 sn vortekslendi.
- Örnek 56<sup>0</sup>Cde 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası örneğe 400 µl etanol (%96-100) eklendi. 15 sn vortekslendi.
- Karışım spin kolona tüpün kenarlarını ıslatmadan aktarıldı. 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası spin kolon 2 ml'lik temiz bir toplama tüpüne alındı.
- Spin kolonun kapağı sarsmadan dikkatlice açıldı, üzerine 500 µl AW1 buffer eklendi. 8000 rpmde 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası spin kolon 2 ml'lik temiz bir toplama tüpüne alındı.
- Spin kolonun kapağı dikkatlice açıldı, üzerine 500 µl AW2 buffer eklendi. 14000 rpmde 4 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası spin kolon 2 ml'lik ependorf tüpe alındı.
- Spin kolonun kapağı dikkatlice açıldı. Üzerine 50 µl AE buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- Sonrasında 8000 rpmde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası spin kolon atıldı.

### 3.3.4. Otomatik DNA İzolasyonu

Otomatik izolasyon MagNA pure nükleik asit izolasyon kiti ile total nükleik asit plazma protokolü doğrultusunda yapıldı. 400 µl plazma örneği kullanılarak, elution buffer miktarı 50 µl olarak belirlendi.



**Şekil 3.2** Nanodrop cihazı ölçüm ekranı

Elde edilen örneklere 260nm ve 280nm dalga boylarında spektrofotometrik ölçüm yapıldıktan sonra, nanodrop ile DNA miktarı ve DNA saflık düzeyleri ölçüldü (Şekil 3). Hasta ve kontrol grubunun plazmalarından elde edilen DNA'nın saflığını ve konsantrasyonunu belirlemek amacı ile nanodrop ile yapılan ölçüm sonucunda örneklerin saflık derecesini gösteren 260/280 oranınının 1.2 ile 1.6 arasında yoğunlaştığı görüldü.

### 3.4. İstatistiki Değerlendirme

Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılıma sahip olmayan verilerde ikiden fazla bağımsız



grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmış olup anlamlı fark bulunması durumunda gruplar ikili olarak Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. İki bağımsız grubunu karşılaştırılmasında normal dağılıma uymayan veriler için ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Normal dağılıma uymayan değişkenler medyan(minimum-maksimum) değerler ile verilmiştir. İstatistiksel analiz SPSS 22.0 paket programında yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi  $p=0.05$  olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların Demografik Verileri

Çalışma grubunda yer alan hastaların 87'si kadın (%47,3), 97'si erkek (%52,7) olmak üzere toplam 184 hastanın yaşları 25-89 arasında değişmekte olup, ortalama yaş  $62\pm 17,98$  yılıdır. Kontrol grubundaki 57'si kadın (%62,0), 35'i erkek (%38,0) olmak üzere toplam 92 hastanın yaşları 19-86 arasında değişmekte olup, ortalama yaş  $36,5\pm 12,98$  olarak hesaplandı. İki grup arasındaki cinsiyet ve yaş dağılımları karşılaştırıldığında kontrol grubundaki hastalar ile hasta grubundakiler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p < 0,001$ ).

Çalışma grubu ve kontrol grubu hastalar 50 yaş altı ve 50 yaş üstü olarak iki gruba ayrıldıklarında; Hasta grubundaki hastaların 25 (%13,6)'inin 50 yaş altında olduğu, 159 (%86,4)'ünün ise 50 yaş üstünde olduğu saptandı. Kontrol grubundaki 64 (%69,6) olgu 50 yaş ve altı iken 28 (%30,4) olgunun 50 yaş üstü hastalardan oluştuğu saptandı. İki grup arasında 50 yaş ve altı ile 50 yaş üstü yaş dağılımları açısından, kontrol grubundaki hastalar ile hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p < 0,001$ ).

Hastaların sigara kullanım öyküleri karşılaştırıldığında hasta grubundaki olguların 99 (%53,8)'ünün sigara kullandığı, kontrol grubundaki olguların ise 40(%43,5)'inin sigara kullandığı saptandı. İki grup arasındaki sigara kullanım öyküsü açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p: 0,136$ ).

Her iki gruptaki hastalarda gebelik öyküsü karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Hastaların demografik özellikleri Tabo4.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Hasta özelliklerinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması

| Değişken    | Hasta(n=184) | Kontrol(n=92) | <i>p-değeri</i>   |
|-------------|--------------|---------------|-------------------|
| Yaş (yıl) # | 62(25-85)    | 36,5(19-86)   | <b>p&lt;0,001</b> |
| Yaş(yıl)&   |              |               |                   |
| 50 altı     | 25(%13,6)    | 64(%69,6)     | <b>p&lt;0,001</b> |
| 50 ve üstü  | 159(%86,4)   | 28(%30,4)     |                   |
| Cinsiyet&   |              |               |                   |
| Kadın       | 87(%47,3)    | 57(%62,0)     | <b>0,030</b>      |
| Erkek       | 97(%52,7)    | 35(%38,0)     |                   |
| Sigara&     |              |               |                   |
| içiyor      | 99(%53,8)    | 40(%43,5)     | 0,136             |
| içmiyor     | 85(%46,2)    | 52(%56,5)     |                   |
| Doğum&      |              |               |                   |
| var         | 74(%40,2)    | 35(%38,0)     | 0,828             |
| yok         | 110(%59,8)   | 57(%62,0)     |                   |

Veriler #medyan (minimum-maksimum) veya &frekans (yüzde) olarak verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen olguların demografik özellikleri ile cfDNA miktarları arasında yapılan karşılaştırmada hem hasta hem de kontrol grubunda yaş, cinsiyet, sigara kullanımı ve doğum öyküsü ile cfDNA düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2** Hasta ve kontrol grubu demografik verilerinin cfDNA miktarları ile karşılaştırılması

| Değişken              | Hasta grubu (n=184) | cfDNA | p-değeri  | Kontrol grubu (n=92) | cfDNA         | p-değeri |
|-----------------------|---------------------|-------|-----------|----------------------|---------------|----------|
| Yaş(yıl) <sup>#</sup> | 50 altı             | 25    | 7(0-30)   | 64                   | 8(0,5-16)     | 0,649    |
|                       | 50 ve üstü          | 159   | 8(2,5-50) | 28                   | 7,5(2-21)     |          |
| Cinsiyet              | Kadın               | 87    | 9(0-50)   | 57                   | 8(0,5-16)     | 0,885    |
|                       | Erkek               | 97    | 8(2,5-30) | 35                   | 7,5(1,5-21)   |          |
| Sigara <sup>#</sup>   | içiyor              | 99    | 9(0-50)   | 40                   | 8,5(0,5-21)   | 0,167    |
|                       | içmiyor             | 85    | 8(2,5-20) | 52                   | 7,5(1,5-13)   |          |
| Doğum <sup>#</sup>    | var                 | 74    | 8(2,5-30) | 35                   | 8,5(1,5-21)   | 0,168    |
|                       | yok                 | 110   | 9(0-50)   | 57                   | 7,5(0,5-15,5) |          |

Veriler <sup>#</sup>medyan (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

#### 4.2. Hastalıkların Onkolojik Alt Tiplere Göre Dağılım Özellikleri ve cfDNA Değerleri

Onkolojik amaçlı tüm vücut PET/BT incelemesi yapılan toplam 184 hastanın onkolojik olarak alt tipleri, operasyon öyküsü ve tedavi alıp almadıkları karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışmaya katılan hastaların onkolojik alt tipleri ile plazma cfDNA düzeylerinin yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo4.3). Ayrıca hastaların operasyon varlığı, kemoterapi ve radyoterapi alma açısından incelenen hasta öyküleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı.

**Tablo 4.3.** Onkolojik alt tiplere göre cfDNA miktarı karşılaştırılması

| Değişken                |                       | Hasta<br>(n=184) | cfDNA        | <i>p-değeri</i> |
|-------------------------|-----------------------|------------------|--------------|-----------------|
| Tümör Tipi <sup>#</sup> | Akciğer               | 62               | 8(2,5-50)    | 0,440           |
|                         | Tiroid                | 5                | 12(8-40)     |                 |
|                         | Kolorektal            | 16               | 7,25(3-18)   |                 |
|                         | Over                  | 7                | 8(0-13)      |                 |
|                         | Meme                  | 18               | 7,5(2,5-17)  |                 |
|                         | Endometrium           | 19               | 7(2,5-15)    |                 |
|                         | Serviks               | 6                | 11,5(6,5-50) |                 |
|                         | Mesane                | 7                | 8(3,5-15)    |                 |
|                         | Baş boyun             | 8                | 8,25(4,5-20) |                 |
|                         | Lenfoma               | 4                | 6(3-20)      |                 |
|                         | Pankreas              | 7                | 11(4-14)     |                 |
|                         | Diğer                 | 10               | 8,25(2,5-30) |                 |
|                         | Renal                 | 4                | 9,5(8-15)    |                 |
|                         | Testis Prostat        | 4                | 5,75(2,5-12) |                 |
|                         | Primeri<br>Bilinmeyen | 7                | 9(2,5-13)    |                 |
| Operasyon <sup>#</sup>  | Var                   | 67               | 8(0-50)      | 0,982           |
|                         | Yok                   | 117              | 8(2,5-50)    |                 |
| Tedavi <sup>#</sup>     | KT                    | 43               | 6,5(0-50)    | 0,206           |
|                         | RT                    | 4                | 8,5(5-18)    |                 |
|                         | KT+RT                 | 27               | 10(2,5-30)   |                 |
|                         | Yok                   | 110              | 8(2,5-30)    |                 |

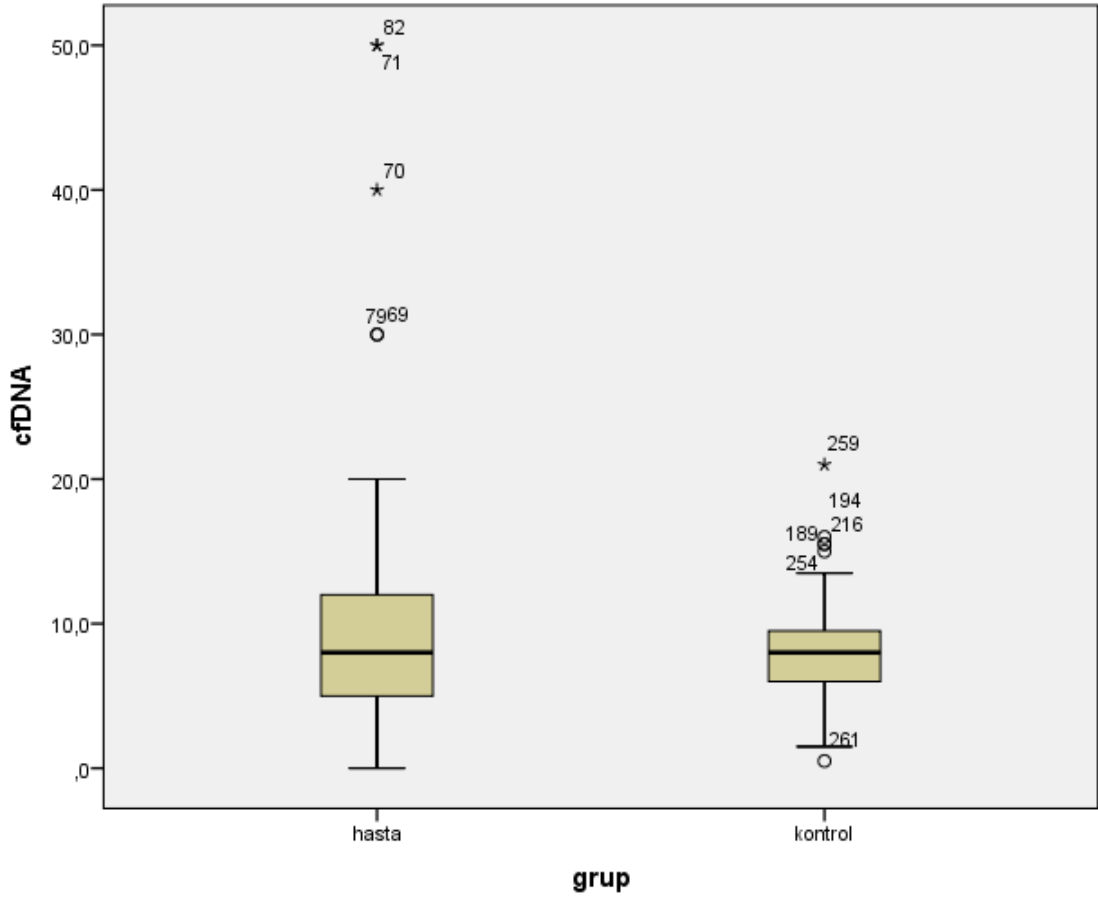
Veriler <sup>#</sup>medyan (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

### 4.3. Hastaların cfDNA Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırılmaları

Hasta ve kontrol grubu olgularının plazma cfDNA değerleri arasında yapılan karşılaştırmada hasta grubunun ortalama cfDNA değeri 8 (0-50), kontrol grubununki 8 (0.5-21) olarak ölçüldü. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı (p: 0,405, Grafik 4.1, Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** Olguların cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

|                     | Hasta Grubu<br>(n=184) | Kontrol Grubu<br>(n= 92) | <i>p-değeri</i> |
|---------------------|------------------------|--------------------------|-----------------|
| cfDNA ort.(min-max) | 8 (0-50)               | 8 (0,5-21)               | 0.405           |



**Grafik 4.1.** Gruplar arasındaki cfDNA değerlerinin karşılaştırılması. Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

#### 4.4. Onkolojik Hastalarda Tümör ve Metastaz Varlığı ile cfDNA Değerlerinin Karşılaştırılması

Çalışmaya katılan tüm hastaların tüm vücut PET/BT incelemelerinde tümör ve metastatik lezyon varlığı ile plazma cfDNA değerleri karşılaştırıldı. Her iki grup arasında tümör ve metastaz varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.5, p:0.497). Gruplar arası SUV max değerlerinin tümöral lezyon ve metastaz varlığı açısından yapılan karşılaştırılmasında metastaz bulunan hastalarda metastaz bulunmayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptandı (p: 0,049, Tablo 4.6).

**Tablo 4.5.** Onkolojik hastalarda tümör ve metastaz varlığı ile cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

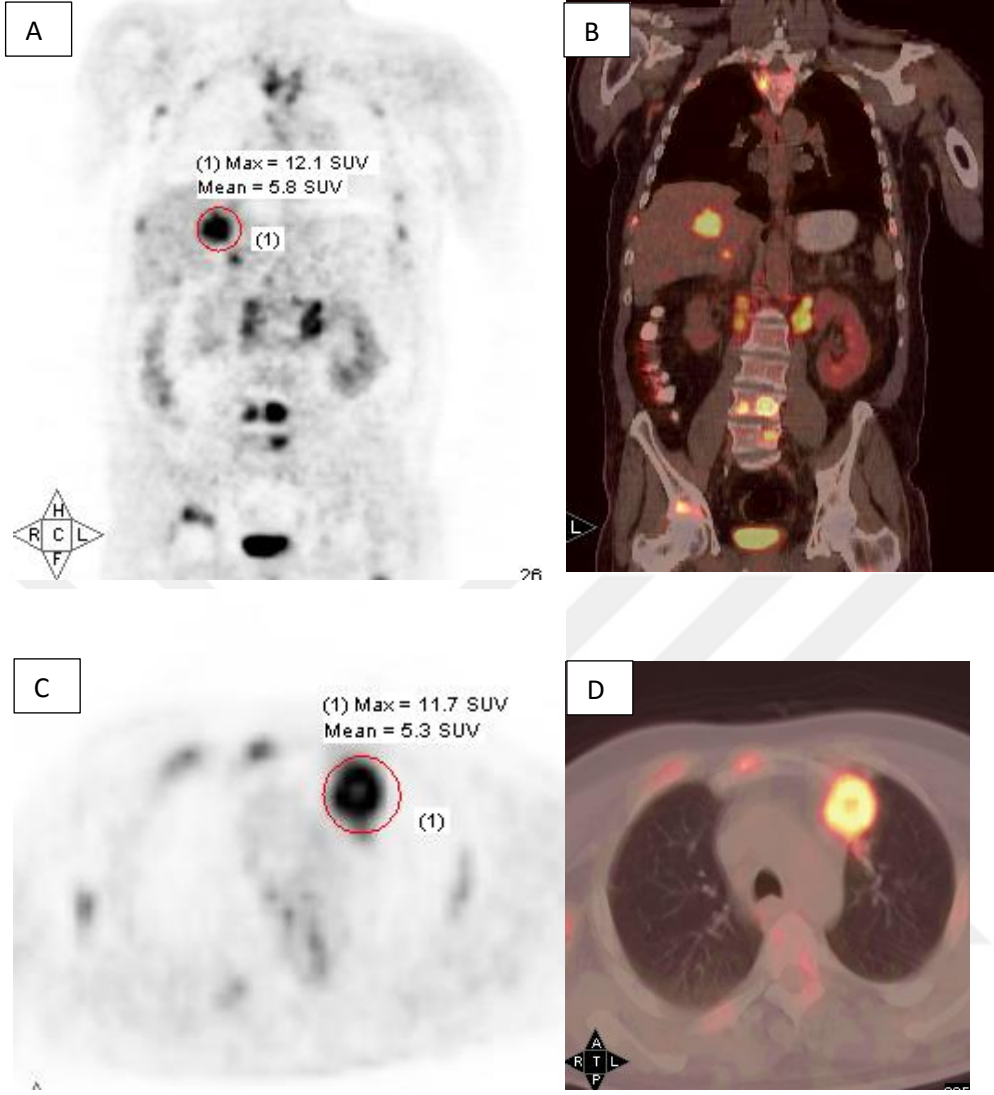
| Değişken                          | N<br>(Hasta sayısı) | cfDNA        | <i>p-değeri</i> |
|-----------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|
| Tümör var<br>Met yok <sup>#</sup> | 33                  | 10 (2,5-20)  | 0,497           |
| Tümör var<br>Met var <sup>#</sup> | 67                  | 9 (2,5-50)   |                 |
| Tümör yok<br>Met var <sup>#</sup> | 32                  | 7,5 (2,5-30) |                 |
| Tümör yok<br>Met yok <sup>#</sup> | 52                  | 8 (0-40)     |                 |

Veriler <sup>#</sup>medyan (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

**Tablo 4.6** Onkolojik hastalarda tümör ve metastaz varlığı ile SUV max değerlerinin karşılaştırılması

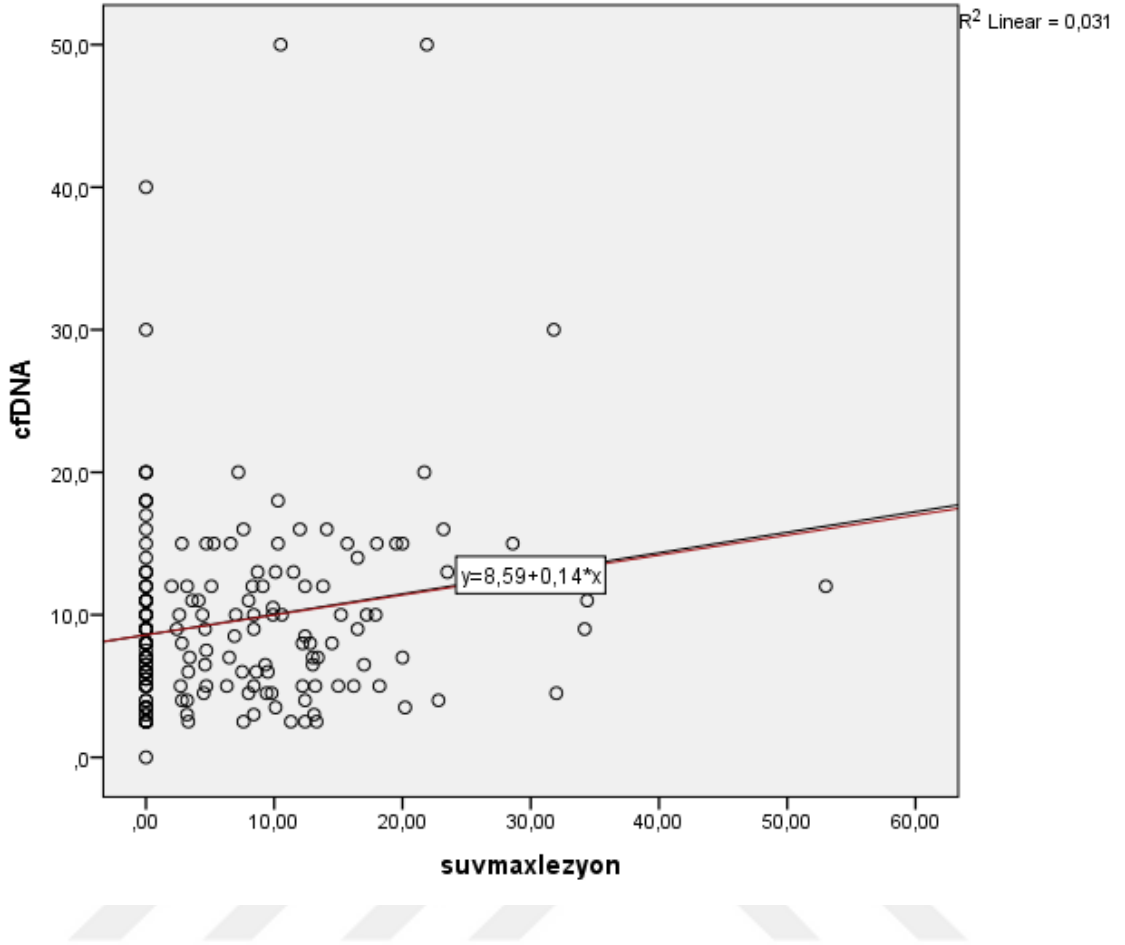
| Değişken                          | N  | Suv max (tümör) | <i>p-değeri</i> |
|-----------------------------------|----|-----------------|-----------------|
| Tümör var<br>Met yok <sup>#</sup> | 33 | 8 (2-53)        | 0,049           |
| Tümör var<br>Met var <sup>#</sup> | 67 | 11,3 (2,6-34,4) |                 |

Veriler <sup>#</sup>medyan (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.



**Şekil 4.1.** 66 yaşında, sol akciğerde üst lob anterior segmentte yerleşimli,30x40 mm boyutlarında kitle lezyon saptanan erkek hastaya ait PET/BT imajları.A: MIP Koronal, B: Füzyon Koronal; Hastada çok sayıda metastazlara ait metabolik aktivite tutulumları ile karaciğer parankiminde SUV max12.1 olan metastatik nodüler lezyon.C:MIP Transaksiyel, D: Füzyon Transaksiyel;Sol akciğerde primer lezyona ait SUV max:11.7 gösteren tutulum odağı. Hastanın plazmasından çalışılan cfDNA:34 ng/ml olarak saptandı.





**Grafik 4.2.** Tümör SUV max ve cfDNA miktarlarının karşılaştırılması.

#### 4.5. Onkolojik Hastalarda Tümör Boyutu, SUV max ve cfDNA Değerlerinin Karşılaştırılması

Hastaların tümör boyutlarına göre SUV max değerleri ve cfDNA değerleri Tablo 4.7'de sunulmuştur. Buna göre; tümör boyutu >2 cm olan lezyonlarda SUV max değerleri, ortalama 2,4 (0-34,4), 2-6 cm boyutunda kitlelerde 10,4(3,20-53) ve  $\geq 6$  cm olan kitlelerde ise 13,35 (3,3-34,2) olarak saptandı. İstatiksel olarak tümör boyutu ile SUV max değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptandı. Tümör boyutu ve cfDNA arasında istatistiksel olarak belirgin fark saptanmadı

**Tablo 4.7** Onkolojik hastalarda tümör boyutu, SUV max ve cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

| Değişken       |          | N   | SUV max         | p-değeri | İkili karşılaştırmalar p değerleri | cfDNA        | p-değeri |
|----------------|----------|-----|-----------------|----------|------------------------------------|--------------|----------|
| Tümör boyutu # | a.< 2 cm | 134 | 0(0-34,4)       | p<0,001  | a-b p<0,001                        | 8(0-50)      | 0,399    |
|                | b.2-6 cm | 38  | 10,4(3,20-53)   |          | a-c p<0,001                        | 10(2,5-50)   |          |
|                | c.≥ 6 cm | 12  | 13,35(3,3-34,2) |          | b-c 0,307                          | 6,75(2,5-16) |          |

Veriler #medyan (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

#### 4.6 Onkolojik Hasta Grubunda SUV max değerleriyle cfDNA değerlerinin karşılaştırılması

Hasta grubunda cfDNA ile tümörden elde edilen Suvmax değerleri arasında yapılan korelasyon analizinde ( $r=0,140$ ;  $p=0,059$ ) iki parametre arasında arasında anlamlı ilişki bulunmamaktadır (Tablo 4.8, Grafik 4.2) Yapılan normallik testi sonucunda verilerin normal dağılımdan gelmediği gözlenmiştir. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki Spearman sıra korelasyon katsayısı ile incelenmiştir.

**Tablo 4.8** Onkolojik hasta grubunda SUV max değerleri ile cfDNA değerlerinin korelasyonu

| cfDNA  | r     | p     |
|--------|-------|-------|
| SUVmax | 0,140 | 0,059 |

## 5. TARTIŞMA

Kanser, kardiyovasküler hatalıklardan sonra ölüme yol açan hastalıkların başında gelmektedir. Tıp bilimindeki ve teknolojideki ilerlemeler sonucunda bazı kanser tiplerinin tanı ve tedavisinde önemli yol kat edilmesine karşın kanserin erken tanı ve tedavisi halen büyük bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. Kanser hastalarının birçoğunda kanser tanısı hastalığın ileri safhalarında veya metastaz yaptıktan sonra konmaktadır. Bu aşamada cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi bir çok tedavi seçeneği bulunmasına karşın bu tedavi seçeneklerinin ileri evre kanser hastalarında sınırlı etki gösterebildikleri bilinmektedir. Bu durum da maalesef yüksek mortalite ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, hastalığın erken tanınmasını sağlayacak yeni gelişmeler ve teknikler sayesinde kanser mortalitesinin azaltılabileceği öngörülmektedir.

Erken tanıda, serumda bazı kanser tiplerine spesifik olan tümör belirteçleri rutin olarak kullanılmaktadır. Ancak bu tür tümör belirteçlerinin dezavantajları sınırlı spesifite ve sensiviteye sahip olmalarıdır. Son yıllarda kanser hastalarının serum veya plazmalarında tümöre özgü moleküler değişikliklerin bulunduğu anlaşılması ile kanser tanısında yeni bir dönem başlamıştır. Serum ve plazmadaki tümöre özgü moleküler değişiklikler dolaşımında bulunan çok az miktardaki cfDNA'yı çoğaltabilen PCR'a dayalı metotlarla belirlenebilmekte ve kantitatif olarak analiz edilebilmektedir. Çok duyarlı olan bu teknikler sayesinde kanserin moleküler hedeflerini belirlemeye yönelik yeni yöntemler sunulmaktadır.

Serum ve plazmada cfDNA varlığının gösterilmesi 1970'li yıllara kadar uzanmaktadır. 1977 yılında RIA metoduyla kanser hastalarının dolaşımında sağlıklı insanlara oranla daha yüksek miktarda cfDNA olduğu gösterilmiştir [5]. Kanser hastalarının dolaşımında bulunan cfDNA'nın neoplastik özelliği olduğu ve tümörün biyolojik karakterini yansıttığının anlaşılması 1980'li yılların sonlarında gerçekleşmiştir [42]. Böylelikle noninvaziv bir yöntem olarak öne çıkan dolaşımdan cfDNA tayini ve genetik analizi kanser yönetiminde önemli bir rol sahibi olmuştur.

Bugün artık bilinmektedir ki, dolaşıma salınan cfDNA miktarı tümörün büyüme hızına, histolojik diferansiyasyon derecesine ve apoptoz-nekroz durumuna göre değişmektedir. Serum ve plazmada belirlenen tümöre spesifik cfDNA sağlıklı kontrollerde çok az bulunduğu ya da hiç bulunmadığından tümöre spesifik cfDNA'yı temel alan tümör belirleme metotları neredeyse %100'e yakın özgünlük göstermektedir.

Chen ve arkadaşları 2017 yılında kanser hastaları ve sağlıklı kontrollerde cfDNA miktarını ve mutasyonlarını araştırdıkları çalışmalarında sağlıklı kontrolleri cinsiyet ve yaşa (< 50 - ≥ 50) göre gruplamışlar ancak bu gruplar arasında cfDNA düzeylerinde anlamlı fark bulamamışlardır [114]. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da yaş (<50 - ≥ 50 ) ve cinsiyetin cfDNA miktarları arasında bir farklılığa sebep olmadığını izlendi.

Kim ve arkadaşları mide kanserli olgularda sigara içmeyen hasta grubunun sigara içenlere göre cfDNA miktarlarının daha yüksek olduğunu bulmuşlar [115]. Biz çalışmamızda sigara içen ve içmeyen hasta ve kontrol grubunu karşılaştırdığımızda her iki grubun da cfDNA düzeylerinde sigara içimi ile anlamlı bir ilişki olmadığını saptadık.

Bazı kanser türlerinde serum ve plazmada cfDNA düzeyi yüksek bulunurken en yüksek cfDNA düzeyleri pankreas kanseri hastalarında gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda pankreas kanserli hastaların ortalama cfDNA miktarı 11(4-14 ng/ml) olarak ölçüldü. Tiroid ve serviks kanserlerinden sonra üçüncü en yüksek ortalama cfDNA miktarı pankreas kanseri hastalarına aitti.

Holdenrieder ve arkadaşlarının farklı kanser tiplerinin karşılaştırdığı çalışmaları göstermiştir ki; akciğer kanserli hastalarda nükleozom düzeyi en fazla iken, nükleozom düzeyinin en az olduğu hastalar prostat kanserli olanlardır [116]. Bizim çalışmamızda akciğer kanserli hastaların cfDNA miktarları ortalama 8 (2,5-50ng/ml) olarak ölçülmekle birlikte çalışmaya dahil edilen 184 hasta içinde en yüksek cfDNA değeri olan 50ng/ml değerine sahip iki hastadan biri metastatik akciğer kanseri tanısıyla izlenen bir hastaydı.

Diğer bir çalışmada erken evre akciğer kanserli hastaların ileri evre hastalara oranla daha düşük ancak sağlıklı kontrollerden daha yüksek DNA seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir [5], [117]. Bu durum cfDNA miktarının kanser evrelemesinde anlamlı bir belirteç olarak kullanılabileceğini fikrini desteklemektedir.

Çalışmamızda farklı tip kanser hastalarının cfDNA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Onkolojik amaçlı PET/BT görüntülemesi için başvuran hastaların histolojik olarak alt tiplmesi yapılamadı. Ayrıca bu hastaların bir kısmı görüntüleme öncesinde çeşitli zamanlarda kemoterapi, radyoterapi, operasyon hikayeleri bulunan hastalardan oluşmaktaydı. Ancak almış oldukları tedavilere göre yapılan subgruplandırmalarda da cfDNA miktarları arasında anlamlı farklılık olmadığı saptandı. Kanser hastalarının %50'sinde normal cfDNA seviyelerinin görülebileceğini, bu durumunun da almış oldukları tedavilerden kaynaklanabileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttu [5].

Literatürdeki pek çok çalışmada sağlıklı kontrol grubundaki cfDNA düzeylerinin oldukça değişkenlik gösterdiği saptandı (3.6-5.0ng/ml) [51], (17.6 ± 9.5 ng/mL) [118], (79.78 ± 8.12 ng/mL) [119]. Bizim çalışmamızda ise sağlıklı kontrol grubundaki cfDNA düzeyinin ortalaması 8 ng/ml iken, bu değer 0.5-21 ng/ml aralığında değişkenlik göstermekteydi. Çalışmalar arasında bu kadar geniş aralıkta cfDNA seviyelerinin tespit edilemesinin ölçüm yöntemlerinin standardize edilmemiş olmasından, ölçümler sırasında hastaların mevcut sublinik akut ve kronik hastalıklarının cfDNA düzeylerini etkileyebilmesinden ve cfDNA'nın halen açığa çıkarılmamış farklı kaynaklarının olması ihtimalinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Neoplastik, nonneoplastik hastaları ve sağlıklı olguları içeren geniş bir çalışmada, bu çalışmaya dahil edilen grupların cfDNA konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık bulunmuş ancak cfDNA'nın kanser tanısında tarama amaçlı kullanılabilmesi için bir cutoff değer belirlenememiştir [73]. Bu kadar değişken sonuçların elde edildiği cfDNA kantitasyonu bazlı çalışmalarda bir referans aralığı oluşturmanın ve cutoff değer belirlemenin oldukça zor olacağı kanaatindeyiz.

Hastaların plazmalarında artmış cfDNA seviyelerinin metastatik hastalarda prognostik değeri olduğu ve tümör yüküne bağlı olarak artış gösterebileceği bildirilen çalışmalar varken; biz çalışmamızda metastatik hastalıklarda cfDNA miktarlarında metastatik olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Onkolojik hastaların değerlendirilmesinde kullanılan ve nükleer tıbbın ileri metabolik bir görüntüleme yöntemi olan F18 FDG PET/BT'de tümöral lezyonların karakteri hakkında bilgi veren semikantitatif bir değer olan ve lezyondaki FDG tutulum oranı olan SUV, tümörün metabolik olarak aktif şekilde glikoz tutulumunu gösterir. Fakat SUV'un onkolojik hastalarda tek başına kullanılması yanıltıcı olması nedeniyle yeni parametrelerle desteklenmeye ihtiyaç duyulmaktadır.

Hastaların plazmalarında artmış cfDNA seviyelerinin metastatik hastalarda prognostik değeri olduğu ve tümör yüküne bağlı olarak artış gösterebileceği bilinmektedir. Onkolojik PET/BT çalışmalarında kullanılan ve semikantitatif bir parametre olan SUV max değerleri ile tümöre spesifik cfDNA seviyelerinin korele olduklarını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [120].

Bizim çalışmamızda kanser hastalarında tümör ve metastaz bulunan hastaların SUV max değerlerinde artış izlendi. SUV max değerlerinin hastaların tanı ve tedavi cevabının izlenmesinde iyi bir semikantitatif gösterge olduğu ve biyolojik tümör belirteci olan cfDNA düzeyleri ile birlikte güçlü ve tamamlayıcı bir gösterge olarak kullanılabilirliği görüldü. Ancak ölçümler arasında teknik sebeplerden kaynaklanabilecek farklılıklar ile hastaların mevcut durumlarından kaynaklanabilecek koşullar ihmal edilmemelidir.

PET/BT'nin zaman zaman yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara da yol açtığı bilinmektedir. Enfeksiyöz ve enflamatuar hastalıklar dokularda artmış FDG tutulumu göstererek yanlış pozitifliğe neden olmaktadır. Bazı durumlarda benign ve malign lezyonların SUV max değerleri birbirlerine yakın olup, tanıda ve yorum yapmada zorluk olabilmektedir. Artmış FDG tutulumunun malign mi yoksa benign bir patolojiye mi ait olduğunu saptamaya yönelik dual faz

çalışmaları da geliştirilmiştir. Dual faz çalışmalarında ek olarak geç görüntüleme yapılmakta ve bu geç görüntülerde FDG tutulumunun devam edip etmediği veya artış gösterip göstermediğine bakılmaktadır. Geç görüntülerde FDG tutulumunun devam etmesi veya artış göstermesi lezyonun malign karakterde olduğuna işaret eder, ancak yine de bu durum kesin değildir. Ayrıca her lezyonun biyopsi ile doğrulanması mümkün olamamaktadır.

SUV değeri tümöral dokuda artmış FDG akümüülasyonu ile yükselmekte ve bu tümöral dokunun proliferatif aktivitesini ve biyolojik saldırganlığını göstermektedir [113]. Genel kabul olarak glikoz metabolizmasının semikantitatif bir göstergesi olan SUV, yüksek değerlerde maligniteyi, düşük değerlerde ise benigniteyi göstermektedir (SUV:9,7±5,5 vs. 2,6±2,5;  $p < 0,01$  ). Çok yüksek SUV değerleri, aynı zamanda hastanın yaşam süresi ile yakından ilişkilidir [121]–[126]. Literatürde tümör boyutunun artışı ile sağkalımın ters korele olduğunu gösteren çalışmalar [127] da mevcut olup bizim çalışmamızda da tümör boyut artışı ile artan SUV max değeri bu literatür ile uyumludur.

Çalışmamızda metastatik kanser hastalarında SUV max değerlerinde metastatik olmayan gruba oranla anlamlı artış izlendi. Böylelikle SUV max değerlerinin hastaların tanısında ve evrelemede iyi bir semikantitatif gösterge olduğu görüşü bir kez daha desteklenmiş oldu.

Kwee ve arkadaşlarının prostat kanserli hastalarda florokolin PET/BT ve cfDNA arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmalarında kemoterapinin birinci ve üçüncü kürü sonrasında plazma cfDNA konsantrasyonunda anlamlı artış görülmüş. Ancak bu artışın PSA düzeyi değişikliği ile korele olmadığı gözlenmiş. Bu durum da PSA ile cfDNA üretiminin farmakokinetik bağımsızlığını desteklemektedir. Kemoterapi sonrası cfDNA profilindeki bu belirgin değişikliğe ek olarak, kemoterapinin üçüncü kürü sonrası florokolin PET/BT ile ölçülen tümör metabolik aktivitesinde de belirgin değişiklik izlenmiş. Ayrıca ortalama tümör SUV max değerinin, cfDNA konsantrasyonu ve PSA seviyesi ile korele olduğu gösterilmiştir [129].

Endometrial kanserde cfDNA, p53 antikor ve KRAS gen mutasyonları arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada; tip 1 endometrial kanserlerde KRAS gen mutasyonu ve p53 değerlerinin ikili testi, tip 2 endometrial kanserlerde p53 ve cfDNA ikili testinin erken tanıda faydalı olabileceği belirtilmiştir [130].

Plazma DNA seviyelerinin tümör boyutu, tümörün invazyon derecesi, hastalığın evresi, sağkalım ve tedavi altında hastalık progresyonu ile korele olduğu gösteren çalışmalar yapılmıştır [5], [117], [131]–[133].

Lenfomada artmış cfDNA seviyelerinin hem yetişkinlerde hem de pediatrik olgularda agresif hastalık ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiş [134], [135]. Benzer çalışmalar sonucunda cfDNA farklı tip kanserin erken ve noninvasiv tanınmasında, risk belirlenmesinde kullanılabilecek spesifik ve sensitif potansiyel bir biyomarker olarak görülmektedir.

Bazı erken evre kanserlerde tümöre spesifik cfDNA miktarı çok düşük olup cfDNA'nın nükleazlarca yıkılması sebebiyle miktarının daha da düşmesi moleküler testlerde özellikle kantitasyon çalışmalarında sonuçların sensitivitesini düşürmektedir.

Onkoloji hastalarının serum/plazmada incelenmesinde tespit edilen cfDNA'nın metastaz sürecinde rol alabileceği söylenmiş ve "genometastaz" hipotezi ortaya atılmıştır. [85] Hipotezde, uzak organ metastazlarının, plazmada dolaşan tümör kaynaklı onkogenlerin bu organlardaki duyarlı hücrelere girerek bu hücreleri transforme etmesiyle oluşabileceği ileri sürmektedir.

Herrera ve arkadaşlarının 2005 yılında torasik maligniteli olgularda yapmış oldukları bir çalışmada, sağlıklı bireyler, gastroözefageal reflü hastaları, özefageal ve akciğer kanserli hastaların plazma cfDNA seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiş olması dikkat çekicidir [136]. Bizim çalışmamızda da buna benzer şekilde sağlıklı kontrol grubu ve onkolojik hasta grubu arasında cfDNA seviyelerinde anlamlı farklılık izlenmedi.



Heitzer ve arkadaşlarının bir çalışmasında ise metastatik kanser hastalarının bir kısmında plazmada ölçülebilir aralıkla tümöre ait cfDNA'ya rastlanmadığı görülmüş [137]. Dolaşımdaki total cfDNA'nın yalnızca küçük bir kısmı tümöre ait DNA olduğundan, metastatik karsinomalı hastalarda bile tespit edilemeyecek kadar düşük düzeyde cfDNA saptanmış olması, bilinen literatüre uyumsuz olsa da mümkün görünmektedir.

Nygaard ve arkadaşlarının 2014'de yayınladıkları küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde PET/BT'deki tümör yükü ve cfDNA arasındaki korelasyonu araştırdıkları çalışmalarında; metabolik tümör volümü ve total lezyon glikolizi ile cfDNA arasında korelasyon bulamadılar [138]. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde tümör volümündeki artışa bağlı olarak SUV max değerlerinde artış izlenirken bu artışın cfDNA ile korele olmadığı görüldü. Ayrıca SUV max ile cfDNA arasındaki karşılaştıma sonucunda da benzer şekilde bu iki değer korele olmadığı görüldü.

Literatürde cfDNA ölçümü için kullanılan teknikler ve ölçülen cfDNA konsantrasyonları çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Farklı grup araştırmacıların plazma ve serum için farklı nükleik asit izolasyonu teknikleri kullanmaları seriler arasındaki karşılaştırmayı zorlaştırmaktadır. Bu yüzden de benign ve malign hastalıklar arasında ayırım yapabilmek için bir referans değer oluşturmak oldukça güçtür.

Dolaşımdaki cfDNA kaynağının arkasındaki biyolojik mekanizmalar halen aydınlatılamamışken, cfDNA düzeyi ile yapılan çalışmalar arasında tutarsızlıklar olması da doğal karşılanmalıdır.

Kanser şüphesi bulunan hastaların plazma cfDNA düzeyinin kanserin erken tanısında ve tarama amaçlı kullanılabilmesi için geniş hasta serilerinden oluşan detaylı prospektif çalışmalar gerekmektedir.

## **6. SONUÇ**

Onkoloji hastalarında tanı, takip, tedavi izlenmesinde ve kanser yönetiminin pek çok aşamasında PET/BT görüntüleme oldukça önem arz

etmektedir. Ancak görüntülerin yorumlanmasında zaman zaman bazı nedenlerden dolayı değerlendirmeler hatalı olabilmektedir. Ayrıca görüntüleme yöntemleri ile saptanan tümör şüpheli lezyonlardan her zaman doku örnekleme yapmak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle pratikte kolay uygulanabilen ilave basit tarama yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla son yıllarda kandan kolayca çalışılan, basit bir tarama testi olarak kullanılabilir olan cfDNA ölçümleri kanser hastalarının erken tanı ve takiplerinde umut vadetmektedir.

Son yıllarda serum ve plazmada saptanabilen cfDNA ölçümleri; tümöre spesifik moleküler değişikliklerin belirlenmesinde, kanserin erken ve güvenilir tanısında, ve böylece erken müdahale ve korunma stratejileri geliştirilmesinde, risk altında bulunanların belirlenmesinde, ayrıca prognoz tahmininde ve tümör yüküne bağlı olarak tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde, önemi gittikçe artan ve değerlendirilmesi gereken bir potansiyele sahiptir.

Klinik düzeyde moleküler tümör belirteçlerinin sensitivite ve spesifitelerinin nasıl belirleneceği konusunda bazı zorluklar bulunmaktadır. Farklı grup araştırmacıların plazma ve serum için farklı nükleik asit izolasyonu teknikleri kullanmaları seriler arasındaki karşılaştırmayı zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, gelecekte dolaşımdaki cf DNA'nın yaygın kullanımı için nükleik asit eldesinin otomatik olarak belirli standartlara bağlanması gerekmektedir.

Kanserin erken tanısı ve tedaviye olan cevabın araştırılmasında hiçbir tanı yöntemi tek başına yeterli olmamaktadır. Bir tanı yönteminin yararlı olması demek hastalığın tedavisinde ve/veya sonucunda değişiklik oluşturması demektir. Görüntüleme yöntemleri ile biyolojik ve genetik belirteçlerin birlikte kullanılmasının erken tanı ve kanser yönetiminde oldukça önemli gelişmelere kapı aralayacağı düşünülmektedir.

Teknolojinin sunduğu ve sunacağı yöntemlerle bireyselleştirilmiş tıp tüm tıp bilimlerinde yeni çığırılar açmakta, gelişen tıp bilimi, çaresiz sanılan birçok hastalığın tanı ve tedavisi için yeni umutlar vaat etmektedir.

Geliştirilen sensitif ve spesifik tanı testleri ile hedefe yönelik tedaviler, tıbbi harcamaların kontrol altında tutulması açısından da önemli olacaktır.

Sonuç olarak; kanserin erken tanısında, tarama programlarında dikkate alınması gereken hususlardan olan maliyet, sağlığa ayrılan bütçe ve radyasyon maruziyeti dikkate alınmalıdır. Bu nedenle onkoloji hastalarının plazmalarından elde edilen cfDNA düzeyi ve PET/BT görüntülerinden elde edilen kantitatif parametrelerin karşılaştırıldığı daha geniş hasta serilerine, standart ölçüm teknikleri ile yapılacak daha detaylı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.



## 7. KAYNAKLAR

1. ATICI, E. (2007). Tip tarihinde kanser ve lösemi. *Turk Onkol. Derg.*, 22:197–204.
2. TORRE, L.A., FERLAY, S.J., LORTET-TIEULENT, J., JEMAL, A. (2015). *J. Clin.*, **65**: 87–108.
3. DELİGEZER, U. (2004). Kanser Hastalarının Serum / Plazmalarında Tümör Spesifik DNA : Kanser Erken Tanısında Potansiyel Önemi .37-39.
4. MANDEL, P., METAIS P. (1948) Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme, *C. R. Seances Soc. Biol. Ses Fil.*,142, no. 3–4, pp. 241–243.
5. LEON, S.A., SHAPIRO, B., SKLAROFF, M., YAROS, M.J. (1977). Free DNA in the Serum of Cancer Patients and the Effect of Therapy, *Cancer Res*, pp. 646–650.
6. KAYAALP, S.O.(2009). Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi *Farmakoloji*, vol. 1, p. 8.
7. MERLO, L.M.F, PEPPER, J.W, REID, B.J, MALEY, C.C. (2006) .Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat. Rev. Cancer*, vol. 6, no. December, 924–935.
8. BENJAMIN, I., GRIGGS, R. C., WING, E. J., FITZ, J. G. (2015) *Andreoli and Carpenter's Cecil essentials of medicine*. Elsevier Health Sciences.
9. FERLAY, J. SOERJOMARATAM, I., ERVIK, M. (2013) GLOBOCAN cancer incidence and mortality worldwide: IARC cancer base no. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
10. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı 2013.

11. PATEL,A, GROOPMAN,J.D.,UMAR,A.(2003). "DNA Methylation as a Cancer-Specific Biomarker," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 983, no. 1, pp. 286–297.
12. KERR, J. F. R., WINTERFORD, C. M., HARMON, B. V. (1994). Apoptosis. Its significance in cancer and cancer Therapy, *Cancer*, vol. 73, no. 8, pp. 2013–2026.
13. Dna Onarımı ve Kanser. Erişim: [<http://www.e-psikiyatri.com/dna-onarimi-ve-kanser-44765>.] Erişim Tarihi:07.06.2017
14. THOMPSON, C. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease," *Science (80-. )*, vol. 267, no. 5203, pp. 1456–1462.
15. NOWELL, P. C. (1976). "Linked references are available on JSTOR for this article : The Clonal Evolution of Tumor Cell Populations," *Science (80-. )*, vol. 194, no. 4260, pp. 23–28.
16. SHEER, C. J.(1996). Cancer Cell Cycles, *Science (80-. )*, vol. 274, no. 5293, pp. 1672–1677.
17. HUSSAIN, S. P., HARRIS, C. C. (1998). Molecular Epidemiology of Human Cancer : Contribution of Mutation Spectra Studies of Tumor Suppressor Genes of Human Cancer : Contribution of Mutation Spectra Studies of Tumor Suppressor Genes, no. 301, pp. 4023–4037.
18. CORN, P. C., EL-DEIRY, W. S.(2002). Derangement of growth and differentiation control in oncogenesis, *BioEssays*, vol. 24, no. 1, pp. 83–90.
19. HO, A., DOWDY, S. F. (2002). Regulation of G1 cell-cycle progression by oncogenes and tumor suppressor genes *Curr. Opin. Genet. Dev.*, vol. 12, no. 1, pp. 47–52.
20. KAYIHAN, E., OZYARDIMCI, N. (2001). *AKCİĞER Kanserleri Tanı ve Tedavide Temel İlkeler ve Uygulamalar*. Avrupa Tıp Kitapçılık.

21. GREENBLATT, M.S, BENNETT, W.P, HOLLSTEİN,M, HARRIS,C.C.(1994) Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene : Clues to Cancer Etiology Clues to Cancer Etiology and Molecular Pathogenesisist . 4855–4878.
22. EKMEKÇİ, A., KONAÇ, E., ÖNEN, H. I. (2008). Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Med. J.*, vol. **21**, no. 3, pp. 282–295.
23. ALİUSTAOĞLU, M. Temel Kanser Fizyopatolojisi. *Klinik Gelişim* pp.46-49
24. YOKUŞ, B., ÇAKIR, D. Ü. (2012). Kanser biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1, 7-18.
25. KÖKTÜRK, N., ÖZTÜRK, C., KIRIŞOĞLU, C. E. (2003). Sigara ve akciğer kanseri. *Solunum*, 5(3), 139-145.
26. DOĞAN, A. L., GÜÇ D. (2004). Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi*,35, 34-42.
27. FONG, K. M., SEKIDO, Y., MINNA, J. D. (1999). Molecular pathogenesis of lung cancer. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 118(6), 1136-1152.
28. ÇEFLE, K. Kanser Genetiği Klinik gelişim 50-59
29. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı Genetik Testler Erişim: [<http://kanser.gov.tr/kanser/klinikarastirmalr/58-genetik-testler.html>] Erişim tarihi: 07.07.2017
30. KAHN, S. N. (1991). Dear Dr.[Bence] Jones. *Clinical chemistry*, 37(9), 1557-1558.
31. STURGEON, C. M., DIAMANDIS, E. P. (Eds.). (2009). *Use of tumor markers in clinical practice: quality requirements*. American Association for Clinical Chemistry.

32. Tumor Markers Key Points What tumor markers are currently being used , and for which cancer (2015) Erişim: [<https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/diagnosis/tumor-markers-fact-sheet#q5>] Erişim tarihi: 08.07.2017

33. BUNN Jr, P. A. (2003). Early detection of lung cancer using serum RNA or DNA markers: ready for “prime time” or for validation?. *J. Clin. Oncol.*, vol. 21,no. 21, pp. 3891–3,

34. RAMIREZ, J. L., TARON, M., BALANA, C., SARRIES, C., MENDEZ, P., de AGUIRRE, I., .et al (2003). Serum DNA as a tool for cancer patient management. *Rocz Akad Med Bialymst*, 48(2), 34-41.

35. PEHLİVAN, S., AVCI, S., SEVER, U. T., BAYRAM, U. A., & BALCI, S. O. (2010) Dolaşımdaki Serbest DNA ve Önemi. *Gaziantep Tıp Dergisi* 16(2) pp. 75–80

36. LAKTIONOV, P. P., TAMKOVICH, S. N., RYKOVA, E. Y., BRYZGUNOVA, O. E., STARIKOV, A. V., KUZNETSOVA, N. P., VLASSOV, V. V. (2004). Cell-surface-bound nucleic acids: free and cell-surface-bound nucleic acids in blood of healthy donors and breast cancer patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1022(1), 221-227.

37. JUNG, K., FLEISCHHACKER, M., RABIEN, A. (2010). Cell-free DNA in the blood as a solid tumor biomarker—a critical appraisal of the literature. *Clinica Chimica Acta*, 411(21), 1611-1624.

38. JUNG, K., STEPHAN, C., LEWANDOESKI, M., KLOTZEK, S., JUNG, M., et al (2004). Increased cell-free DNA in plasma of patients with metastatic spread in prostate cancer. *Cancer letters*, 205(2), 173-180.

39. LO, Y. D., TEIN, M. S., LAU, T. K., HAINES, C. J., LEUNG, T. N., POON, P. M.,et al (1998). Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *The American Journal of Human Genetics*, 62(4), 768-775.

40. SHAPIRO, B., CHAKRABARTY, M., COHN, E. M., LEON, S. A. (1983). Determination of circulating DNA levels in patients with benign or malignant gastrointestinal disease. *Cancer*, 51(11), 2116-2120.
41. TAN, E. M., SCHUR, P. H., CARR, R. I., KUNKEL, H. G. (1966). Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Clinical Investigation*, 45(11), 1732.
42. STROUN, M., ANKER, P., MAURICE, P., LYAUTEY, J., LEDEREYy, C., BELJANSKI, M. (1989). Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. *Oncology*, 46(5), 318-322.
43. STEINMAN, C. R. (1975). Free DNA in serum and plasma from normal adults. *Journal of Clinical Investigation*, 56(2), 512.
44. STROUN, M., MAURICE, P., VASIOUKHIN, V., LYAUTEY, J., LEDERREY, C., LEFORT, F., et al (2000). The origin and mechanism of circulating DNA. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 906(1), 161-168.
45. GORMALLY, E., CABOUX, E., VINEIS, P., HAINAUT, P. (2007). Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 635(2), 105-117.
46. MAJNO, G., JORIS, I. (1995). Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *The American journal of pathology*, 146(1), 3.
47. ELSHIMALI, Y. I., KHADDOUR, H., SARKISSYAN, M., WU, Y., VADGAMA, J. V. (2013). The clinical utilization of circulating cell free DNA (CCFDNA) in blood of cancer patients. *International journal of molecular sciences*, 14(9), 18925-18958.



48. STROUN, M., LYAUTEY, J., LEDERREY, C., OLSON-SAND, A., ANKER, P. (2001). About the possible origin and mechanism of circulating DNA: Apoptosis and active DNA release. *Clinica chimica acta*, 313(1), 139-142.
49. THIERRY, A. R., EL MASSAOUDI, S., GAHAN, P. B., ANKER P., STROUN, M. (2016). Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology. *Cancer and Metastasis Reviews*, 35(3), 347-376.
50. JAHR, S., HENTZE, H., ENGLISCH, S., HARDT, D., FACKELMAYER, F. O., HESCH, R. D., KNIPPERS, R. (2001). DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer research*, 61(4), 1659-1665.
51. SUZUKI, N., KAMATAKI, A., YAMAKI, J., HOMMA, Y. (2008). Characterization of circulating DNA in healthy human plasma. *Clinica Chimica Acta*, 387(1), 55-58.
52. ZIEGLER, A., ZANGEMEISTER-WITTKE, U., STAHEL, R. A. (2002). Circulating DNA: a new diagnostic gold mine?. *Cancer treatment reviews*, 28(5), 255-271.
53. ANKER, P., STROUN, M., MAURICE, P. A. (1975). Spontaneous release of DNA by human blood lymphocytes as shown in an in vitro system. *Cancer research*, 35(9), 2375-2382.
54. ANKER, P., MULCAHY, H., STROUN, M. (2003). Circulating nucleic acids in plasma and serum as a noninvasive investigation for cancer: Time for large-scale clinical studies?. *International journal of cancer*, 103(2), 149-152.
55. TAMKOVICH, S. N., CHEREPANOVA, A. V., KOLESNIKOVA, E. V., RYKOVA, E. Y., PYSHNYI, D. V., VLASSOV, V. V., LAKTIONOV, P. P. (2006). Circulating DNA and DNase activity in human blood. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1075(1), 191-196.
56. THIERRY, A. R., MOULIERE, F., GONGORA, C., OLLIER, J., ROBERT, B., YCHOU, M., et al (2010). Origin and quantification of circulating

DNA in mice with human colorectal cancer xenografts. *Nucleic acids research*, 38(18), 6159-6175.

57. DIEHL, F., SCHMIDT, K., CHOTI, M. A., ROMANS, K., GOODMAN, S., LI, M., et al (2008). Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nature medicine*, 14(9), 985-990.

58. MCLARTY, J. L., YEH, C. (2015). Circulating cell-free DNA: The blood biopsy in cancer management. *Cell. Sci. Rep*, 2, 21.

59. AVENT, N. D., MADGETT, T. E., MADDOCKS, D. G., SOOTHILL, P. W. (2009). Cell-free fetal DNA in the maternal serum and plasma: current and evolving applications. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 21(2), 175-179.

60. BENOSOVA, L., BULSANOVA, B., SUCHANEK, S., KOPECKOVA, M., MINARIKOVA, P., LIPSKA, L., et al (2013). Mutation-based detection and monitoring of cell-free tumor DNA in peripheral blood of cancer patients. *Analytical biochemistry*, 433(2), 227-234.

61. HAMADA, H., ARINAMI, T., KUBO, T., HAMAGUCHI, H., IWASAKI, H. (1993). Fetal nucleated cells in maternal peripheral blood: frequency and relationship to gestational age. *Human genetics*, 91(5), 427-432.

62. LO, Y. D., CORBETTA, N., CHAMBERLAIN, P. F., RAI, V., SARGENT, I. L., REDMAN, C. W., WAINSCOAT, J. S. (1997). Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *The lancet*, 350(9076), 485-487.

63. TJOA, M. L., CINDROVA-DAVIES, T., SPASIC-BOSKOVIC, O., BIANCHI, D. W., BURTON, G. J. (2006). Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free feto-placental DNA. *The American journal of pathology*, 169(2), 400-404.

64. LO, Y. D., ZHANG, J., LEUNG, T. N., LAU, T. K., CHANG, A. M., HJELM, N. M. (1999). Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *The American Journal of Human Genetics*, 64(1), 218-224.

65. NORBURY, G., NORBURY, C. J. (2008). Non-invasive prenatal diagnosis of single gene disorders: how close are we?. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 13, No. 2, pp. 76-83). WB Saunders.
66. SEKIZAWA, A., PURWOSUNU, Y., MATSUOKA, R., KOIDE, K., OKAZAKI, S., FARINA, A., et al (2007). Recent advances in non-invasive prenatal DNA diagnosis through analysis of maternal blood. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 33(6), 747-764.
67. LITTON, C., STONE, J., EDDLEMAN, K., LEE, M. J. (2009). Noninvasive prenatal diagnosis: past, present, and future. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*, 76(6), 521-528.
68. AARTHY, R., MANI, S., VELUSAMI, S., SUNDARSINGH, S., RAJKUMAR, T. (2015). Role of circulating cell-free DNA in cancers. *Molecular diagnosis & therapy*, 19(6), 339-350.
69. ELLINGER, J., MÜLLER, S. C., STADLER, T. C., JUNG, A., VON RUECKER, A., BASTIAN, P. J. (2011, April). The role of cell-free circulating DNA in the diagnosis and prognosis of prostate cancer. In *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* (Vol. 29, No. 2, pp. 124-129). Elsevier.
70. SCHWARZENBACH, H., ALIX-PANABIERES, C., MÜLLER, I., LETANG, N., VENDRELL, J. P., REBILLARD, X., PANTEL, K. (2009). Cell-free tumor DNA in blood plasma as a marker for circulating tumor cells in prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, 15(3), 1032-1038.
71. MUELLER, I., URBAN, K., PANTEL, K., SCHWARZENBACH, H. (2006). Comparison of genetic alterations detected in circulating microsatellite DNA in blood plasma samples of patients with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1075(1), 222-229.
72. ELLINGER, J., HAAN, K., HEUKAMP, L. C., KAHL, P., BÜTTNER, R., MÜLLER, S. C., et al (2008). CpG Island hypermethylation in cell-free

serum DNA identifies patients with localized prostate cancer. *The Prostate*, 68(1), 42-49.

73. CHANG, H. W., LEE, S. M., GOODMAN, S. N., SINGER, G., CHO, S. K., SOKOLL, L. J., et al (2002). Assessment of plasma DNA levels, allelic imbalance, and CA 125 as diagnostic tests for cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(22), 1697-1703.

74. FOURNIE, G. J., CORTIN, J. P., LAVAL, F., CHALE, J. J., POURRAT, J. P., PUJAZON, M. C., .et al (1995). Plasma DNA as a marker of cancerous cell death. Investigations in patients suffering from lung cancer and in nude mice bearing human tumours. *Cancer letters*, 91(2), 221-227.

75. MAEBO, A. (1990). Plasma DNA level as a tumor marker in primary lung cancer. *The Japanese journal of thoracic diseases*, 28(8), 1085-1091.

76. MUTIRANGURA, A., PORNTANAKASEM, W., THEAMBOONLERS, A., SRIURANPONG, V., LERTSANGUANSIINCHI, P., et al (1998). Epstein-Barr viral DNA in serum of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 4(3), 665-669.

77. YAMADA, T., NAKAMORI, S., OHZATO, H., OSHIMA, S., AOKI, T., HIGAKI, N., et al (1998). Detection of K-ras gene mutations in plasma DNA of patients with pancreatic adenocarcinoma: correlation with clinicopathological features. *Clinical Cancer Research*, 4(6), 1527-1532.

78. SHAW, J. A., SMITH, B. M., WALSH, T., JOHNSON, S., PRIMROSE, L., SLADE, M. J., et al (2000). Microsatellite alterations in plasma DNA of primary breast cancer patients. *Clinical cancer research*, 6(3), 1119-1124.

79. AN, Q., LIU, Y., GAO, Y., HUANG, J., FONG, X., LI, L., et al (2002). Detection of p16 hypermethylation in circulating plasma DNA of non-small cell lung cancer patients. *Cancer letters*, 188(1), 109-114.

80. WONG, I. H., LO, Y. D., ZHANG, J., LIEW, C. T., NG, M. H., WONG, N., et al (1999). Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer research*, 59(1), 71-73.

81. NAWROZ, H., KOCH, W., ANKER, P., STROUN, M., SIDRANSKY, D. (1996). Microsatellite alterations in serum DNA of head and neck cancer patients. *Nature medicine*, 2(9), 1035-1037.

82. TABACK, B., GIULIANO, A. E., HANSEN, N. M., HOON, D. S. (2001). Microsatellite alterations detected in the serum of early stage breast cancer patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 945(1), 22-30.

83. CHEN, X. Q., STROUN, M., MAGNENAT, J. L., NICOLD, L. P., KURT, A. M., et al (1996). Microsatellite alterations in plasma DNA of small cell lung cancer patients. *Nature medicine*, 2(9), 1033-1035.

84. WAN, J. C., MASSIE, C., GARCIA-CORBACHO, J., MOULIERE, F., BRENTON, J. D., CALDAS, C., et al (2017). Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nature Reviews Cancer*, 17(4), 223-238.

85. GARCÍA-OLMO, D. A. M. I. Á. N., GARCÍA-OLMO, D. C. (2001). Functionality of Circulating DNA. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 945(1), 265-275.

86. SONNENBERG, A., MARCINIAK, J. Y., SKOWRONSKI, E. A., MANOUCHEHRI, S., et al. (2014). Dielectrophoretic isolation and detection of cancer-related circulating cell-free DNA biomarkers from blood and plasma. *Electrophoresis*, 35(12-13), 1828-1836.

87. DEMİR, B., OKUTAN, M., DEMİR, M. (2009). Pozitron emisyon tomografi ve radyoterapi tedavi planlama. *Türk Onkoloji Dergisi*, 24(2), 88-97.

88. ADALET, I., MUDUN, A., ÜNAL, S. N., TÜRKMEN, C. (2012) Nükleer Tıp Ders Kitabı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları

89. Schlyer, D. J. (2004). PET tracers and radiochemistry. *Annals Academi of Medicine Singapore*, 33(2), 146-154.
90. Ocak, M. (2015). PET RADYOFARMASÖTİKLERİ. *Bulletin of Thoracic Surgery/Toraks Cerrahisi Bülteni*, 6(2).
91. VALLABHAJOSULA, S. (2007, November). 18 F-labeled positron emission tomographic radiopharmaceuticals in oncology: an overview of radiochemistry and mechanisms of tumor localization. In *Seminars in nuclear medicine* (Vol. 37, No. 6, pp. 400-419). WB Saunders.
92. SAVAŞ, R. (2015) Akciğer Kanserinde PET/BT, *Türk Radyoloji Semin.*, vol. 2, no. 3, pp. 326–339.
93. WADSAK, W., MITTERHAUSER, M. (2010). Basics and principles of radiopharmaceuticals for PET/CT. *European journal of radiology*, 73(3), 461-469.
94. AFSHAR-OROMIEH, A. et al (2013). PET imaging with a [68Ga] gallium-labelled PSMA ligand for the diagnosis of prostate cancer: biodistribution in humans and first evaluation of tumour lesions. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 40(4), 486-495.
95. SWEET, W. H. (1951). The uses of nuclear disintegration in the diagnosis and treatment of brain tumor. *New England Journal of Medicine*, 245(23), 875-878.
96. HOUNSFIELD, G. N. (1973). Computerized transverse axial scanning (tomography): Part 1. Description of system. *The British journal of radiology*, 46(552), 1016-1022.
97. BEYER, T. et al. (2000) A combined PET/CT scanner for clinical oncology. *The Journal of nuclear medicine*, 41(8), 1369.
98. NUTT,R., (2002) The history of positron emission tomography, *Mol. Imaging Biol.*, vol. 4, no. 1, pp. 11–26.

99. ŞANLI, Y., TEKİN B. O., TOKMAK, H., BOZKURT F., TÖRE G., BEKİŞ R. F18- FDG PET/BT ile onkolojik görüntüleme uygulama kılavuzu.

100. WARBURG, O. (1930) Ueber den stoffwechsel der tumoren (London: Constable).

101. ALTENBERG, B., GREULICH, K. O. (2004) Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes, *Genomics*, 84 (6), 1014-1020.

102. GILLIES, R. J., ROBEY, I., GATENBY R. A.(2008) Causes and consequences of increased glucose metabolism of cancers, *Journal of Nuclear Medicine*, 49 (Suppl 2), 24S-42S.

103. LYNCH, T.B., UĞUR Ö, ÜNLÜ M. (2010) Klinik Uygulamada PET/BT. Ayrıntı Basımevi,

104. LIN, E.C., ALAVI, A. (2009) PET and PET/CT: a clinical guide. 2nd ed. ed. New York: Thieme

105. WU, R., RACKER, E. (1969) Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism IV. Pasteur effect and Crabtree effect in ascites tumor cells. *J. Biol. Chem.*, vol. 234, no. 5, pp. 1036–1041.

106. GALLAGHER, B. M., et al (1978). Metabolic trapping as a principle of radiopharmaceutical design: some factors responsible for the biodistribution of [18F] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *Journal of Nuclear Medicine*, 19(10), 1154-1161.

107. GÖKÇORA, N., AKDEMİR, Ö. (2002). Psikiyatrik Hastalıklarda Nükleer Tıp Uygulamaları. *Demans Dergisi*, 37-41.

108. ÖZKAN, E., KÜÇÜK, N. Ö. ÖZOFAGUS KANSERİNİN EVRELENDİRİLMESİNDE METABOLİK GÖRÜNTÜLEME (18F-FDG PET).

109. KEYES, J. W. JOHN, W. (1995). SUV: standard uptake or silly useless value?. *Journal of Nuclear Medicine*, 36(10).

110. BERGHMANS, T. et al., (2008). Primary tumor standardized uptake value (SUV max) measured on fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) is of prognostic value for survival in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis (MA) by the European Lung Cancer Working Party for the IASLC Lung Cancer Staging Project. *Journal of Thoracic Oncology*, 3(1), 6-12.

111. VESSELE, H. et al., (2000). Lung cancer proliferation correlates with [F-18] fluorodeoxyglucose uptake by positron emission tomography. *Clinical Cancer Research*, 6(10), 3837-3844.

112. HIGASHI, K. et al., (2000) FDG PET in the evaluation of the aggressiveness of pulmonary adenocarcinoma: correlation with histopathological features., *Nucl. Med. Commun.*, vol. 21, pp. 707–714

113. HUTCHINGS, M. et al., (2006) Position emission tomography with or without computed tomography in the primary staging of Hodgkin's lymphoma, *Haematologica*, vol. 91, no. 4, pp. 482–489

114. CHEN, A. Y., BRAUNSTEIN, G. D., ANSELMO, M. S., JABONI, J. A., VILORIA, F. T., et al (2017). Mutation detection with a liquid biopsy 96 mutation assay in cancer patients and healthy donors. *Cancer Translational Medicine*, 3(2), 39.

115. KIM, K. et al., (2014) Circulating cell-free DNA as a promising biomarker in patients with gastric cancer : diagnostic validity and significant reduction of cfDNA after surgical resection, *Annals of surgical treatment and research*,86(3), 136-142.

116. HOLDENRIEDER, S. et al. (2001) Nucleosomes in serum of patients with benign and malignant diseases. *Int. J. cancer*, vol. 95, no. 2, pp. 114–120

117. SOZZI, G., CONTE, D., MARIANI, L., VULLO, S. L., ROZ, L., et al. (2001). Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer research*,61(12), 4675-4678.



118. REN, N., YE, Q. H., QIN, L. X., ZHANG, B. H., LIU, Y. K., TANG, Z. Y. (2016) Circulating DNA level is negatively associated with the long-term survival of hepatocellular carcinoma patients. *World J. Gastroenterol.*, vol. 12, no. 24, pp. 3911–4
119. KIM, K. et al (2014) Circulating cell-free DNA as a promising biomarker in patients with gastric cancer: diagnostic validity and significant reduction of cfDNA after surgical resection. *Ann Surg Treat Res*, vol. 86, no. 3, pp. 136–142
120. WONG, S. Q. et al (2017) Circulating Tumor DNA Analysis and Functional Imaging Provide Complementary Approaches for Comprehensive Disease Monitoring in Metastatic Melanoma *Precis. Oncol.*, vol. 1, pp. 1–14
121. SHARMA, P., SINGH, H., BASU, S., KUMAR, R. (2013) Positron emission tomography-computed tomography in the management of lung cancer: An update. *South Asian J. Cancer* vol. 2, no. 3, pp. 171–178
122. SAVAŞ, R. (2010) PET/BT Nedir, Endikasyonları Nelerdir. *Klin. Gelişim* 23, vol. 2, pp. 40–44
123. COOK, G. J., WEGNER, E. A., FOGELMAN, I. (2004) Pitfalls and artifacts in 18 FDG PET and PET/CT oncologic imaging. *Seminars in nuclear medicine* (Vol. 34, No. 2, pp. 122-133). WB Saunders.
124. AMBROSINI, V., NICOLINI, S., CAROLINI, P., NANNI, C., MASSARO, A., MARZOLA, M. C., et al (2012) PET/CT imaging in different types of lung cancer: an overview. *European journal of radiology*, 81(5), 988-1001.
125. Sim, Y. T., Poon, F. W. (2013) Imaging of solitary pulmonary nodule—a clinical review. *Quantitative imaging in medicine and surgery*, 3(6), 316.
126. ULGER, S., DEMİRCİ, N. Y., EROĞLU, F. N., CENGİZ, H. H., TUNÇ, M., TATCI, E. Et al (2014) High FDG uptake predicts poorer survival in

locally advanced nonsmall cell lung cancer patients undergoing curative radiotherapy, independently of tumor size. *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology*, 140(3), 495.

127. CARTER, C. L., ALLEN, C., HENSON, D. E. (1989) Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*, 63(1), 181-187.

128. KAMAT, A. A., BALDWIN, M., URBAUER, D., DANG, D., HAN, L. Y., GODWIN, A., et al. (2010) Plasma cell-free DNA in ovarian cancer. *Cancer*, 116(8), 1918-1925.

129. KWEE, S., SONG, M., CHENG, I., LOO, L., TIIRIKAINEN, M. (2012) Measurement of Circulating Cell-Free DNA in Relation to 18F-Fluorocholine PET/CT Imaging in Chemotherapy-Treated Advanced Prostate Cancer. *Clinical and translational science*, 5(1), 65-70.

130. DOBRZYCKA, B., TERLIKOWSKI, S. J., MAZUREK, A., KOWALCZUK, O., NIKLINSKA, W., CHYCZEWSKI, L., KULIKOWSKI, M. (2010) Circulating free DNA, p53 antibody and mutations of KRAS gene in endometrial cancer. *Int. J. Cancer* 127(3), 612-621.

131. TOMITA, H., ICHIKAWA, D., IKOMA, D., SAI, S., TANI, N. et al. (2007) Quantification of circulating plasma DNA fragments as tumor markers in patients with esophageal cancer. *Anticancer research*, 27.4C: 2737-2741.

132. BETTEGOWDA, C., SAUSEN, M., LEARY, R. J., WANG, Y., AGRAWAL, N., et al (2014). Detection of circulating tumor DNA in early-and late-stage human malignancies. *Science translational medicine*, 6(224), 224ra24-224ra24.

133. GAUTSCHI, O., BIGOSCH, C., HUEGLI, B., JERMANN, M. et al. (2004). Circulating deoxyribonucleic acid as prognostic marker in non-small-cell lung cancer patients undergoing chemotherapy. *J. Clin. Oncol*, 22(20), 4157-4164.

134. HOHAUS, S., GIACHELIA, M., MASSINI, G., MANSUETO, G., VANNATA, B., BOZZOLI, V., CRISCULO, M., D'ALO, F., MARTINI, M., LAROCCA, L. M., VOSO, M. T., LEONE, G. (2009). Cell-free circulating DNA in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. *Annals of oncology*, 20(8), 1408-1413.

135. MUSSOLÌN, L., BURNELLI, R., PILLON, M., CARRARO, E., FARRUGGIA, P., TODESCO, A., MASCARIN, M., ROSOLEN, A. (2013). Plasma cell-free DNA in paediatric lymphomas. *J Cancer*, 4(4), 323-329.

136. HERRERA, L. J., RAJA, S., GOODING, W. E., EL-HEFNAWY, T., KELLY, L., LUKETICH, J. D., & GODFREY, T. E. (2005). Quantitative analysis of circulating plasma DNA as a tumor marker in thoracic malignancies. *Clinical chemistry*, 51(1), 113-118.

137. HEITZER, E., AUER, M., HOFFMANN, E. M., PICHLER, M., GASCH, C., ULZ, P., LAX, S., WALDISPUEHL-GEIGL, J., MAUERMANN, O., MOHAN, S., PRISTAUS, G., LACKNER, C., HÖFLER, G., EISNER, F., PETRU, E., SILL, H., SAMONIGG, H., PANTEL, K., RIETHDORF, S., BAUERNHOFER, T., GEIGL, J. B., SPEICHER, M. R., (2013). Establishment of tumor-specific copy number alterations from plasma DNA of patients with cancer. *Int. J. cancer*, 133(2), 346-356.

138. NYGAARD, A. D., HOLDGAARD, P. C., SPINDLER, K. G., PALLIDGARD, N., JAKOBSEN, A. (2014). The correlation between cell-free DNA and tumour burden was estimated by PET/CT in patients with advanced NSCLC. *British journal of cancer*, 110(2), 363-368.

## 8. EKLER

EK-1:



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : KLI.ARŞ.ETİK.KURUL.BŞK./050.99-136  
Konu : Başvuru İncelemesi

24/07/2014

Sayın Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN

Yürüttüçülüğünü yapmış olduğunuz "Onkoloji Hastalarında F18-FDG PET/BT'de Elde Edilen Suv Max Değerleri ile Cell Free DNA Miktarlarının Karşılaştırılması" başlıklı EK-2014-81 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 23/07/2014 tarih ve 14-03 nolu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Emine COŞAR  
Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Karar Tarihi : 23.07.2014 14:30

Karar No : 2014-14

Karar-03) EK-2014-81 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya TAN'ın göndermiş olduğu düzeltmeler kontrol edildikten sonra yapılan oylamada "ETİK KURUL ONAYINI ALIR." kararı verilmiştir. (Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR projede yer alan Yrd. Doç. Dr. Semra ÖZDEMİR'in eşi ve Doç. Dr. Coşkun SILAN projede yer alan Prof. Dr. Fatma SILAN'ın eşi olduğundan dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamışlardır.)