

← Allison Pınar Eronat

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← YÜKSEK LİSANS TEZİ

← 2012

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**Kolon kanseri hastalarında UGT1A1 ve
TS fonksiyonel varyantlarının kemoterapi
toksisitesi ile ilişkisi**

ALLİSON PINAR ERONAT

**DANIŞMAN
PROF.DR. OĞUZ ÖZTÜRK**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Mol. Bio. Allison Pınar Eronat

İTHAF

Tezimi Anne ve Babam'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı kurucusu Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Sağladığı tüm olanaklar ve desteği için İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan Yaylım'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, her konuda yol gösteren, desteğini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan mutluluk ve gurur duyduğum değerli hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Müdür Yardımcısı ve Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Oğuz Öztürk'e,

Her zaman için yanımda olan, her durumda yardım ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan'a,

Tez çalışmam süresince yardımları ve destekleri için Prof. Dr. Bedia Ağaçhan, Prof.Dr. Sadrettin Pençe, Doç. Dr. Ş. Ümit Zeybek, Doç. Dr. H. Arzu Ergen, ve tüm DETAE çalışanlarına,

Tezimin oluşum ve deney sürecinde her türlü yardımından dolayı Msc. Ender Coşkunpınar' a,

Tüm aşamalarda yanımda olan, her türlü yardım ve destekleriyle beni yalnız bırakmayan değerli arkadaşlarım Uzm. Özlem Timirci Kahraman, Msc. Fatih Seyhan, Bio. Eren Yılmaz, Bio. Saime Turan, Mol Bio. Nazlı Ezgi Özkan, Msc. Leman Melis Yurdum, Bio. Ümit Yılmaz, Msc. Sinem Bireller ve Bio. Gurbet Korkmaz'a

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Moleküler Onkoloji Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Zeynep Hande Turan'a,

Hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 16802

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	14
2. GENEL BİLGİLER	16
2.1. Kolonun Yapısı ve Görevi	16
2.2. Kolon Kanseri	17
2.2.1. Kolon Kanseri Genetiği	18
2.2.2. Epidemiyoloji.....	18
2.2.3. Risk Faktörleri.....	20
2.2.3.1. Aile Hikayesi.....	20
2.2.3.2. Beslenme	20
2.2.3.3. İnflamasyon.....	21
2.2.3.4. Egzersiz, Obezite ve Diyabet	21
2.2.3.5. Düzenli NSAİİ kullanımı	22
2.3. Faz I Reaksiyonları	22
2.4. Faz II Reaksiyonları.....	22
2.5. Farmakogenetik.....	22
2.6. Kolon Kanseri Kemoterapisi.....	23
2.6.1. 5-Florourasil.....	23
2.6.1.1. Dihidropirimidin Dehidrogenaz	23
2.6.1.2. Timidilat Sentaz	24
2.6.1.3. Timidilat Sentaz Farmakogenetiği	25

2.6.1.4. TSER sıralı tekrar polimorfizmi.....	26
2.6.1.5. TSER sıralı tekrarları G>C değişimi.....	28
2.6.1.6. 3'UTR 6bç delesyonu (TSdel).....	29
2.6.2. İrinotekan.....	29
2.6.2.1. UGT1A1.....	30
2.6.2.2. UGT1A1*28.....	31
2.6.3. UGT1A1 -3156 G>A polimorfizmi.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Örneklerin Seçimi ve Tanımı.....	33
3.2. Gereçler.....	33
3.2.1. Çalışmamızda Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri	33
3.2.2. Cihazlar.....	33
3.3. Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri.....	33
3.3.1. Kan Örneklerinin Alınması.....	33
3.3.2. DNA İzolasyonu.....	34
3.3.3. DNA Saflık Tayini.....	34
3.3.4. DNA Konsantrasyonlarının Hesaplanması.....	34
3.3.5. PZR-RFLP yöntemi ile TS ve UGT1A1 Polimorfizmlerinin Tespit Edilmesi.	34
3.3.5.1. PZR-RFLP yöntemi ile TSER genotiplerinin belirlenmesi.....	34
3.3.5.2. PZR-RFLP yöntemi ile TSdel genotip tayini.....	35
3.3.5.3. PZR-RFLP yöntemi ile UGT1A1 -3156 G>C Polimorfizminin Tayini.....	36
3.3.6. PZR ve Poliakrilamid Jel Elektroforez Yöntemleri Kullanılarak UGT1A1*28 Gen Varyantlarının Belirlenmesi.....	37
3.3.6.1. PZR Yöntemi.....	37
3.3.6.2. PAGE Solüsyonlarının Hazırlanması.....	37
3.3.6.3. Poliakrilamid Jel Elektroforez (PAGE) Yönteminin Uygulanması.....	38
3.4. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler.....	39
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIşMA.....	52
KAYNAKLAR.....	57
HAM VERİLER.....	70
FORMLAR.....	73
ETİK KURUL KARARI.....	2

ÖZGEÇMİŞ3

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1 Kemoterapi rejimleri ve içerdikleri ilaç dozları	40
Tablo 2 Çalışma Gruplarına ait Demografik Tablo	40
Tablo 3 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSER gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı	41
Tablo 4 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSER GC taşıyıcılık özelliğine göre gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı.....	41
Tablo 5 TSER G>C polimorfizminin total frekansı	42
Tablo 6 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSdel gen polimorfizm sonuçlarının	42
Tablo 7 TS varyantlarının ortak etkileri yüksek düşük ve orta dereceli TS ekspresyon seviyeleri.....	43
Tablo 8 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSdel ve TSER gen polimorfizmlerinin ortak etkisine ait sonuçların TS ekspresyon seviyesindeki değişime etkisi.....	44
Tablo 9 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait UGT1A128 gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı	44
Tablo 10 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait UGT1A1 -3156G>A gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı	45
Tablo 11 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve TSER Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı	46
Tablo 12 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve TSER GC Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı.....	47
Tablo 13 TS delesyon polimorfizmi ve toksisite ilişkisi	48
Tablo 14 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve TS Polimorfizmlerinin Ekspresyona Etkisi Arasındaki Frekans Dağılımı	49
Tablo 15 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve UGT1A1 -3156 Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı....	50
Tablo 16 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve UGT1A1 *28 Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı.....	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Kolonun yapısı	16
Şekil 2-2 Kolon iç yapısı	17
Şekil 2-3 Dukas sınıflandırması.....	18
Şekil 2-4 Dünyada kolon kanseri görülme sıklıkları	19
Şekil 2-5 Dünyada Kolon kanseri görülme oranları	20
Şekil 2-6 5FU mekanizmasının DPD'nin yeri	24
Şekil 2-7 5FU mekanizmasında TS'nin yeri.....	25
Şekil 2-8 TS fonksiyonel varyantları lokalizasyonu.....	26
Şekil 2-9 TS sıralı tekrar dizisi konformasyonel etkisi.....	27
Şekil 2-10 TS sıralı tekrar G>C değişimi lokalizasyonu, USF bağlanma bölgesi ilişkisi	28
Şekil 2-11 İrinotekan metabolizması	30
Şekil 2-12 UGT1A1 TA tekrar sayısı ve ekspresyona etkileri	32
Şekil 3-1 TSER sıralı tekrar sayısı belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü	35
Şekil 3-2 TSER G>C değişimi belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü	35
Şekil 3-3 TSdel varyantı belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü.....	36
Şekil 3-4 UGT1A1 -3156 G>C değişimi belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü	36
Şekil 3-5 UGT1A1*28 varyantı PAGE görüntüsü	39

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

UGT1A1	UDP glukuronosiltransferaz
TS	Timidilat Sentaz
KRK	Kolorektal Kanser
FDA	Food and Drug Administration
DPD	Dihidropirimidin dehidrogenaz
PBMC	Periferal kan mononükleer hücreleri
dUMP	deoksiuridin monofosfat
dTMP	deoksitimidin monofosfat
TSER	Timidilat sentaz enhancer region
TSdel	Timidilat sentaz delesyonu
CPT-11	Camptosar (İrinotekan)
5FU	5-Fluorourasil
NSAİİ	Steroid olmayan antienflamatuar ilaç

ÖZET

Eronat, A.P. (2012). Kolon kanseri hastalarında UDP-glukuronosiltransferaz ve Timidilat Sentaz fonksiyonel varyantlarının kemoterapi toksisitesi ile ilişkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Kolon kanseri tedavisinde ilk sırada kullanılan İrinotekan ve 5-Florourasil ilaçlarının metabolizmasında etkili olan UGT1A1 ve Timidilat sentaz enzimlerinin aktivitelerinde etkinlikleri birçok çalışmada gösterilmiş olan UGT1A1*28, UGT1A1 - 3156 G>C, TSER, TSERG>C ve TSdel varyantlarının farklı kemoterapi rejimleri dahil edilerek kemoterapi toksisitesi ile ilişkisi ayrı ayrı ve ortak olarak incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilmiş 86 hasta ve 100 kontrolün genotiplerinin belirlenmesinde PZR-RFLP ve PAGE yöntemleri kullanılmıştır. Polimorfizmlere ait ayrı ve ortak etkiler ki kare testi ile istatistiksel olarak incelenmiştir. Hasta toksisite ve genotip verilerinin geniş bir yelpazede çeşitlilik göstermiştir. Tüm polimorfizmler ve hasta grubu toksisite şablonları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.005$). Ancak hasta ve genel toplum dağılımları incelendiğinde görülen benzerlik bu varyantların kanser gelişiminde bir rol oynamadığını işaret etmektedir. Çalışmamız hasta grubunun genişletilmesi ile devam edecektir.

Anahtar Kelimeler: İrinotekan, UGT1A1, 5FU, TS, farmakogenetik

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 16802

ABSTRACT

Eronat, A.P. (2012). The investigation of the relationship between the UDP-glucuronosyl transpherase and thymidylate synthase functional variants and chemotherapy toxicity on colon cancer patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. Master of Science thesis. İstanbul 2012.

UGT1A1 and TS are the key enzymes of the irinotecan and 5-fluorouracil drug metabolisms, which are used as the first line of the chemotherapy regimen in colon cancer. The separate and combined effects of the polymorphisms are well known to impair the enzyme activity and expression, the UGT1A1*28, UGT1A1 – 3156 G>C, TSER, TSER G>C, TSdel variants have been studied on various regimen induced toxicity patterns. The PCR- RFLP and PAGE methods have been used to detect the genotypes of the 86 patients and 100 healthy controls included in the study. The evaluation of the separate and combined effects of the polymorphisms on toxicity patterns have been statistically analyzed using the chi-square test. Patient profiles showed wide toxicity and genotype variation patterns. No significance was found between the genotypes and the toxicity outcomes ($p>0.005$). On the other hand, the similarity of the genotype distribution between patients and healthy control suggests that none of the variants play a role in carcinogenesis. The study will be taken further with larger number of patients.

Key Words: UGT1A1, irinotecan, TS, 5FU, pharmacogenetics

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 16802

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Her yıl dünya çapında 1 milyon yeni kolorektal kanser (KRK) vakası bildirilmektedir. Kolon kanseri dünyada en sık rastlanan 3. kanser tipi ve 4. kanser kaynaklı ölüm sebebidir (1). KRK vakalarının sadece %20'si ailesel bir alt yapıya sahiptir (2). Kimileri, herediter nonpolipozis kolorektal kanser ve ailesel adenomatöz polipozis gibi iyi tanımlanmış bazı sendromlarla ilişkilendirilmiştir. Risk faktörleri arasında beslenme şekilleri, kronik inflamatuvar barsak hastalıkları, hareketsiz yaşam biçimi, beslenme ve çevresel kaynaklı mutajenler yer almaktadır. Örneğin, inflamatuvar barsak hastalığı bulunan kişilerin %20'den fazlası hastalık başlangıcından 30 yıl içinde kolon kanseri olmakta ve bu bireylerin de %50'den fazlası KRK sebebiyle yaşamını yitirmektedir (3).

Son yıllarında, hasta tedavilerinde en çok üzerinde durulan konuların başında “ bireysel tedavi” gelmektedir. Bireylerin ilaçlara verdiği tepkileri öngörmeyi amaçlayan “farmakogenetik” biliminin de özellikle ilaç şirketleri ve klinisyenler tarafından her geçen gün önemi artmaktadır.

Kanser tedavisi sırasında, ciddi ilaç toksisitesi ya da yan etkiler görüldüğü takdirde ilaç dozları ve protokolleri değiştirilmektedir. Doz kısıtlayıcı ve hastaya ciddi zararlar verebilecek bu yan etkilerin çeşitleri ve ciddiyeti bireyler arasında değişiklik göstermektedir. Kanser gelişimi ve tedavi sürecindeki bu bireysel farklılıklar çevresel etmenlerden ve genetik varyasyonlardan kaynaklanmaktadır. Tedavi öncesinde ve sırasında bireylerin terapiye verecekleri farklı cevapların ve toksik yan etkilerin öngörülmesi ile hastaların tedavilerinin daha etkin ve hastaya minimum yan etki ile yapılması mümkün olabilecektir. Tez projemizde, bu sebeple, farmakogenetik varyasyonlar incelenmiştir.

Bu bağlamda kolon kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlardan 5FU ve irinotekan metabolizmalarında etkinliğinin kritik öneme sahip olduğu düşünülen iki gende araştırma yapılmıştır. UDP-glukuronosiltransferaz (UGT) ve timidilat sentaz (TS) enzimlerinin aktivitelerini değiştiren varyasyonların, kemoterapi sırasında devamlılık ve yan etki açısından ilaç metabolizması üzerine etkileri incelenmiştir.

KRK'de 5FU bazlı tedavi %10-30 oranında bir başarı ile gerçekleştirilmekte ve 5 yıllık sağ kalım adına %15 gelişme göstermektedir (4). Ancak tedaviden fayda sağlayacak bireylerin prospektif olarak öngörülmesi için kanıtlanmış herhangi bir mekanizma bulunmamaktadır.

5FU bazlı kemoterapiye cevap veren TS –mRNA sevipleri düşük olan hastalarda sağ kalımların daha yüksek olduğu görülmüştür (5). Araştırmaların sonucunda, TS aktivitesi seviyelerinin 5FU hassasiyetini öngörebileceği düşünülmektedir (6). TS seviyelerinin yüksek oluşu düşük sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir (7). TS seviyelerinin prognostik ve öngörü açısından önemli bir parametre olduğu düşünülmektedir (8).

TS geninde 5'UTR enhancer bölümünde 28bp'lik sıralı tekrar bulunmaktadır. Tekrar sayısının artması ile TS ekspresyonu ve aktivitesinin artması ile ilişkili bulunurken; TS ekspresyonunda azalma ise 5FU cevabında artışla ilişkilendirilmiştir (9). TSER*3 allelinin ikinci tekrarının 12. Nükleotidinde yer alan G>C değişimi de TS ekspresyonunda düşüşe sebep olmaktadır. C allelinin varlığı transkripsiyon faktörü USF-1 bağlanma bölgesini ortadan kaldırmakta ve transkripsiyonal aktiviteyi 2 tekrar yapısına benzer kılmaktadır. Bu bulgu sıralı tekrarların tek başına değerlendirilmesinin yanıltıcı olacağını göstermekte, 3 tekrarda ekspresyonun arttırılabilmesi için USF-1 bağlanma bölgesinin (E-box) gerekliliğini öne sürmektedir (10). Son çalışmalarda ise bu polimorfizmin 2 tekrarda da yer aldığını gösterilmiştir (11). Bu enzimle ilgili incelenecek diğer varyasyon da, mRNA stabilitesini düşüren, 3'UTR de yer alan 6bp'lik bir delesyondur (12).

UGT1A1, glukuronidasyon yolağındaki öneminden dolayı aday gen olarak seçilmiştir. İncelenecek olan UGT1A1*28 varyasyonun promoter bölgesinde (TATA box) fazladan bir TA dinükleotidi bulunmaktadır (13). Bazı çalışmalarda, bu varyant alleli taşıyan hastalarda yüksek doz irinotekan alındığında SN-38 glukuronidasyonunun azaldığı ve ağır ishal ve hematolojik toksisitenin arttığı gösterilmiştir (14) (15) (16) (17) (18). Bu çalışmaların sonuçları üzerine 2005'te FDA (Food and Drug Administration), irinotekan'ın prospektüsüne UGT1A1*28 alleli taşıyan hastaların yüksek nötropeni riskine sahip olduğunu ve daha düşük dozlarla tedaviye başlanması gerektiğini eklemiştir (19).

Ayrıca, UGT1A1 promoter bölgesinde yer alan -3156 G>A genotipinin TA in/del genotipi içindeki dağılımı, TA in/del genotipinden bağımsız olarak, -3156G alleleline sahip olanlarda UGT1A1 seviyesinin belirteci olarak kanıtlanmış total bilirubin düzeyinin, daha düşük seviyelerde olduğu bildirilmiştir (20) (21) (22). Innocenti ve ark. çalışmalarında -3156G>A varyantının UGT1A1 seviyesi üzerine TA in/delinden daha geçerli bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (14).

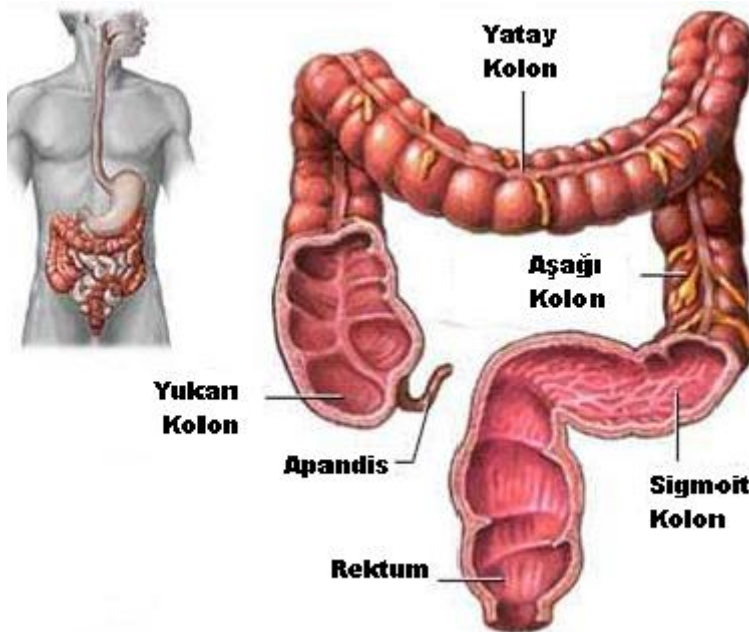
Tez çalışmamızda, kolon kanseri hastalarında bireysel tedavilere bir adım daha yaklaşmak amacıyla faydalı olabilecek genetik varyasyonlar incelenmiştir. Elde ettiğimiz bulgularla kolon kanseri hastalarında ilaç toksisitelerinden kaynaklı mortalite ve morbidite oranlarının düşürülmesinde yardımcı yeni tetkiklerin kullanıma girmesi de amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

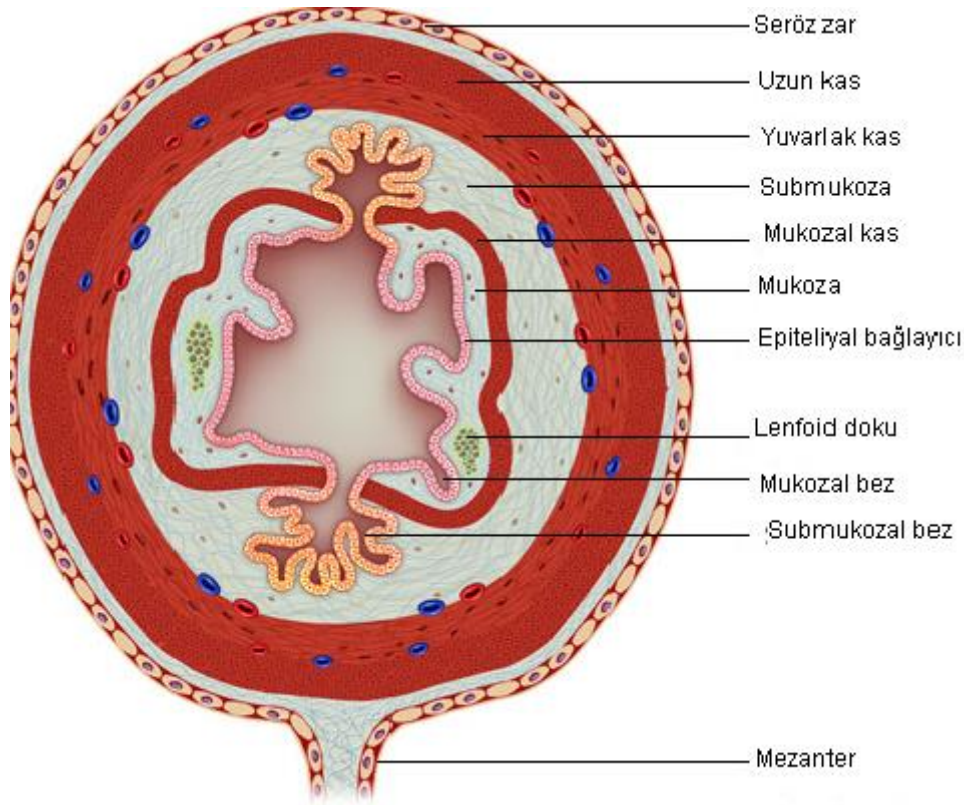
2.1. Kolonun Yapısı ve Görevi

Gastrointestinal sistem, oral boşluktan anal sfinkter arasında uzanan, ortalama 5-6 metre uzunluğunda içi boş bir tüp şeklindedir. Farklı fonksiyonları bulunan bir seri organa ayrılan, karaciğer ve pankreas ile birleşen sindirim sistemidir. Bu organlar, özefagus, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak ve anal sfinkterdir.

Gastrointestinal sistem, uzunluğu boyunca benzer bir yapıya sahiptir. En içteki epitelyum, subepitelyal lamina propria ve iki kas tabakası; iç ve dış halkasal longitudinal tabaka ve arasında yer alan kasların intrinsik nöral kontrol sistemi olan myenterik plexus'tan oluşur. Bu tanımlama büyük oranda ince barsağı tarif etse de kolon sadece kas yapısı ile ince bağırsaktan farklılık göstermektedir. İç halkasal tabaka benzerdir ancak dış longitudinal tabaka 3 solucan benzeri yapıya ayrılmaktadır (tenia coli). Kolonun yakın ucu çekumdan solucan biçimli apandiks uzanır. Çıkan (ascending) ve inen (descending) kolon karın zarının ardındadır, bunun yanında transvers ve sigmoid kolon barsakları karın duvarına bağlağan mesantere zar üzerinde hareket etmektedir. Buradan pelvik yüzey üzerinde devam eden rektuma uzanmaktadır (Şekil2-1) (Şekil 2-2).



Şekil 2-1 Kolonun yapısı



Şekil 2-2 Kolon iç yapısı

Kolonun görevi ince barsaktan gelen atıklardan (kimus) su ve elektrolitlerin geri emilimini sağlamaktır. Ayrıca, lumen boyunca emilmemiş, karbohidrat kaynaklı kalorilerin emilimini de burada gerçekleştirilmektedir. İnce barsakta tamamen emilemeden kolona iletilen karbohidratlar, lumende yer alan anaerobik bakteriler tarafından ikincil enerji kaynağı oluşturmak üzere kısa zincir yağ asitlerine fermente edilir. Kolon bunların yanında barsak içerikleri için depo görevi görmektedir (1. Depo: çekum ve çıkan kolon, 2. Depo: rektum). Kolon bakterileri tarafından sentezlenen vitaminler de kısmen burada emilirler (23).

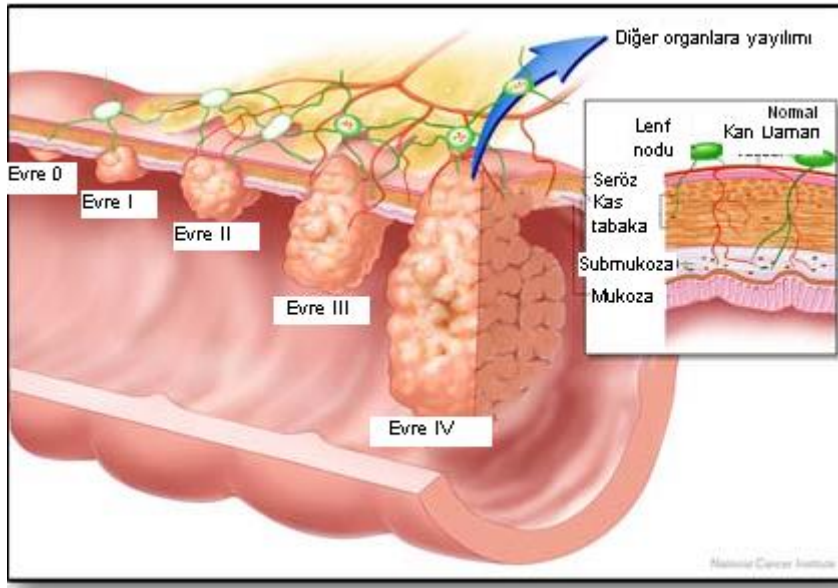
2.2. Kolon Kanseri

Kolon kanseri birçok vakada doğuştan gelen ya da sonradan edinilmiş adenomanın karsinomaya transformasyonu ile gerçekleşmektedir. Bazı vakalar ise polipozis sendromları ile ilişkilendirilmiştir. Sol taraflı tümörlerin tipik sunumu barsak alışkanlıklarında değişim, tıkanma veya belirgin kanama, sağ taraflı tümörlerin ise demir eksikliği anemisidir.

Dukes' sınıflandırılmasına göre, A (I); barsak duvarı ile sınırlıdır, B (II); tüm duvar kalınlığı boyunca yayılmış ve serosaya doğru ilerlemiştir, C (III); lenf nodüllerine yayılmıştır, D (IV); genellikle karaciğer olmak üzere uzak metastaz gerçekleşmiştir. (Şekil 2-3) Cerrahi müdahale ve adjuvant fluorourasil yada fluoroprimidin uygulaması birincil tedavidir ve

Dukes' D haricindeki aşamalarda da oldukça geçerlidir. Fluoroprimidin'in, oxaliplatin ve irinotekan ile kombinasyonu ileri seviyedeki hastaların sağ kalım oranlarını iyileştirmektedir. Kolonik stent uygulaması barsak tıkanması olgularında etkili bir tekniktir. Beş yıllık sağ kalım oranı Dukes' A seviyesinde %83 iken Dukes' D seviyesinde %3'e kadar gerilemektedir (24).

Kolorektal kanserler kolonun herhangi bir bölgesinde meydana gelebilir ancak en sık rektum, sigmoid kolon ve çekumda görülmektedir.



Şekil 2-3 Dukes sınıflandırması

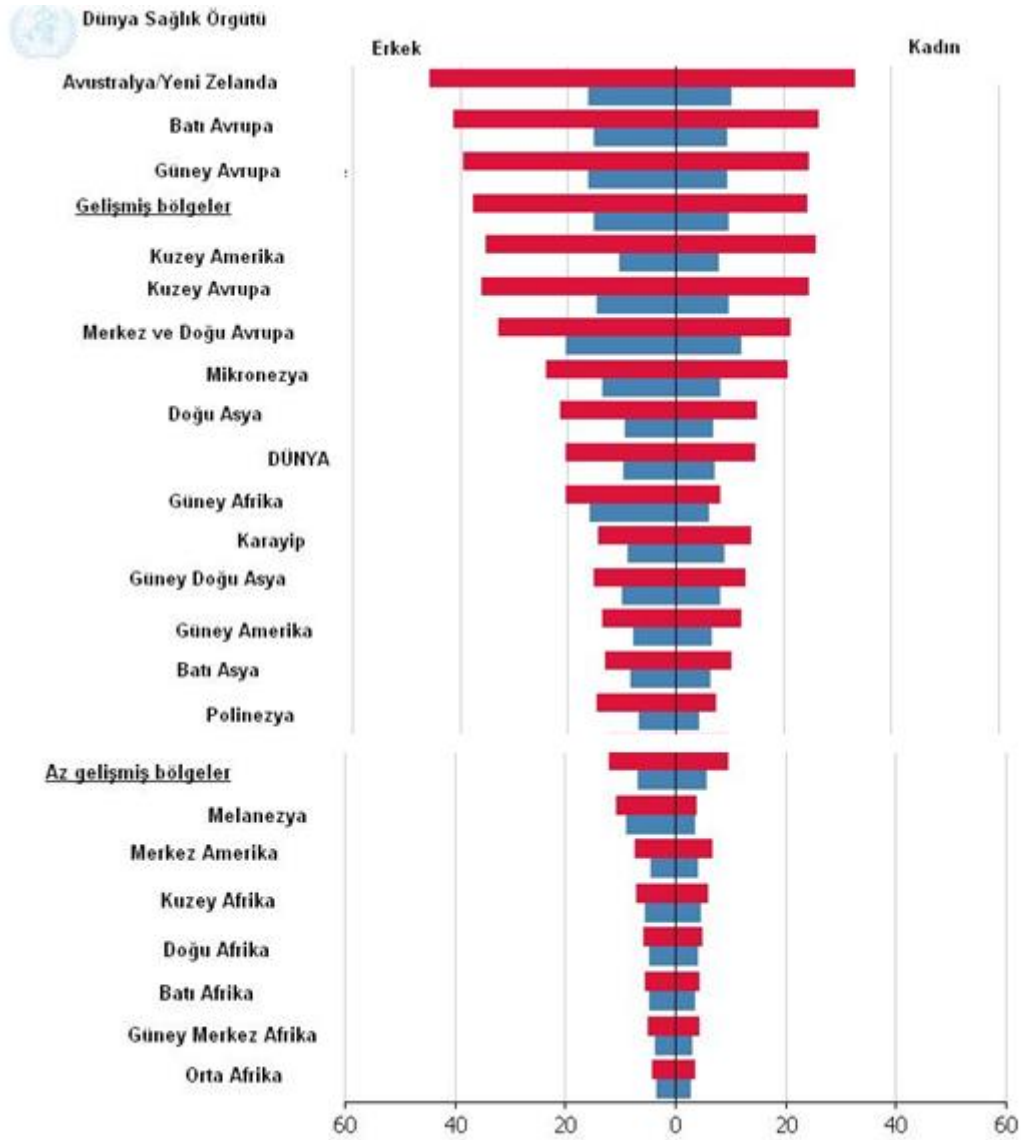
2.2.1. Kolon Kanseri Genetiği

Kolorektal kanser (KRK) ard arda gelişen olaylar dizisi sonucu gelişmektedir. Normal epitel ya da kök hücrelerde meydana gelen ilk mutasyonlar rastgele ve düşük oranlarda gerçekleşmektedir. Volgestein ve arkadaşları adenokarsinoma yolağını *APC/β-catenin*, *KRAS/BRAF*, *TGF-β*, *PIK3CA* ve *TP53* mutasyonları ile açıklamışlardır (25). Ancak tüm kanserlerin gelişim mekanizması bu mutasyonlarla açıklanamaz, %50den fazlası yabancı-tip RAS ve %20den fazlası yabancı-tip p53'ü korumaktadır. Benzer olarak, RAS ve fosfatidilinosol 3- kinaz yollarını hedefleyen ajanlara tümör cevabı sadece yabancı-tip RAS taşıyan bireylerde etkili olmaktadır (24).

2.2.2. Epidemiyoloji

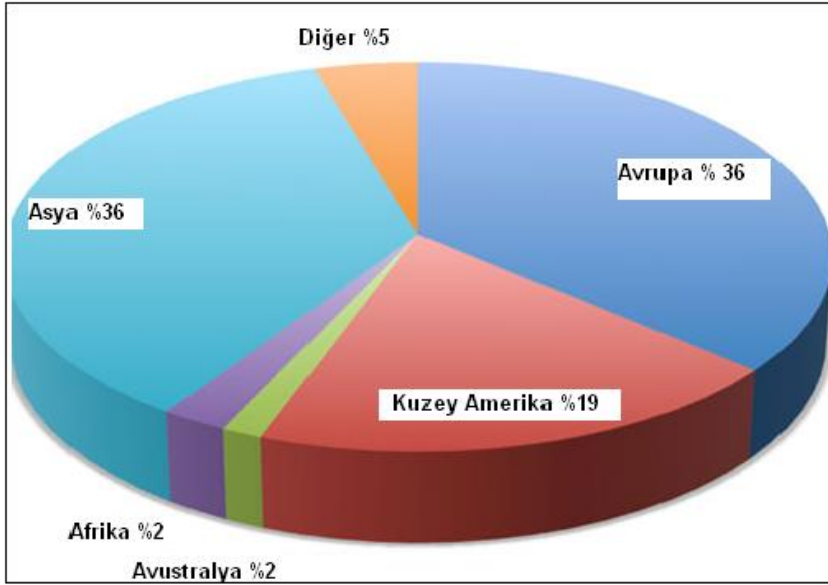
Her yıl dünya çapında 1 milyon yeni kolorektal kanser vakası bildirilmektedir. Kolon kanseri dünya çapında en sık rastlanan 3. kanser tipi ve 4. kanser kaynaklı ölüm sebebidir (1).

Globocan 2008 verilerine göre, KRK Türkiye’de her iki cinsiyet birlikte ele alındığında tüm kanserler arasında 4. sırada yer almaktadır. Erkeklerde 5. Sırada ve kadınlarda da 2. sıradadır. Tüm dünyada ülkeler arası görülme sıklığı şekilde gösterilmiştir (26).



(kırmızı insidans, mavi mortalite)

Şekil 2-4 Dünyada kolon kanseri görülme sıklıkları



Şekil 2-5 Dünyada Kolon kanseri görülme oranları

2.2.3. Risk Faktörleri

Kolon kanseri risk faktörleri arasında ileri yaş, alkol ve sigara kullanımı, obezite, hareketsiz yaşam tarzı, aile hikayesi, inflamasyon ve beslenme tarzı yer almaktadır.

2.2.3.1. Aile Hikayesi

55 yaşın altında KRK tanısı konulan en az bir birinci derece akraba veya aynı taraftan iki birinci yada ikinci derece herhangi bir yaşta KRK tanısı konulan akraba sahibi olmak riski arttırmaktadır (27).

2.2.3.2. Beslenme

KRK için düşük riskli olarak tanımlanan toplumlarda KRK insidansındaki hızlı artış (28), yüksek insidans ve düşük insidans görülen bölgelerdeki görülme sıklığının 20 kat fark etmesi (29) ve insidans motifleri arasında farklılık gözlenmesi (30) üzerine beslenmeye ait çevresel faktörlerin (31) (32) KRK etiyojisinde artışa sebep olduğunu düşündürmektedir.

Kırmızı et ya da hayvansal yağ ağırlıklı, düşük meyve ve sebze tüketiminin malinite riskini arttırdığı gösterilmiştir (28) (33).

Bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların en büyüğü ve en yakın zamanda gerçekleştirilmiş olanı (136.089 ABD vatandaşı sağlık profesyonelleri 16 yıl (kadınlar) ya da 10 yıl (erkekler) boyunca takip edilmiştir) meyve ve sebze tüketimi ve KRK riski arasında bir ilişki bulamamıştır (28).

Onüç çalışmanın meta analizinin sonuçları, lif tüketiminin arttırılmasının KRK riskini düşürdüğünü göstermiştir (34). Ancak prospektif kohort çalışmaları bu bulguları

desteklememektedir (35) (36) (37) (38). Hepsine rağmen, hayvan deneylerinden elde edilen kanıtlar ve bazı klinik çalışmalar tahılların (39) (40) (41) (42) özellikle de lif, fitik asit, çeşitli fenolik bileşikler, ligninler ve flavanoidler içeren buğday kepeğinin KRK riskini düşürdüğü düşünülmektedir (39). Tahıl lifleri ayrıca karsinojenleri bağlayabilmekte ve glikemik indeksi değiştirebilmektedir (39). Yüksek glikemik indeksi bulunan besinlerin tüketiminin artmış insülin, glukoz yada trigliseridlerin tümör-promotör etkilerinin KRK'ya sebep olacağı hipotez edilmiştir (43).

2.2.3.3. İnflamasyon

Kronik inflamatuvar bağırsak hastalığı (Ülseratif kolit ve Crohn's hastalığı) bulunan kişilerin %20den fazlası hastalık başlangıcından 30 yıl içinde kolon kanseri olmakta ve bu bireylerin de %50den fazlası KRK sebebiyle yaşamını yitirmektedir (3)

2.2.3.4. Egzersiz, Obezite ve Diyabet

KRK için bir risk faktörü olarak kabul edilen batılılaşmış hayat tarzında ilişkili faktörlerin fiziksel inaktivite ve obezite olduğu öne sürülmektedir. Elliden fazla epidemiyolojik çalışmada KRK insidansı ve fiziksel aktivite arasındaki ilişki incelenmiş ve fiziksel aktivitenin koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (44). Ayrıca KRK için düzenli fiziksel aktivitenin riski %40-50 oranında düşürürken obezitenin riski arttırdığı yönünde bulgu mevcuttur (44) (45) (46).

Merkezi adipozitenin önemi kadınlara kıyasla erkeklerde oldukça öne çıkmaktadır (46). Fiziksel inaktivite ve obezitenin KRK riskini nasıl arttırdığı yönündeki muhtemel mekanizmalar, prostaglandin seviyeleri/ oranları, insülin benzeri büyüme faktörleri, hiperinsülinemi, steroid seks hormonları ve immün sistem üzerindeki etkileri ve fiziksel inaktivite için de barsak geçiş zamanlarında azalma yönündedir ancak henüz yayımlanan bulgu bulunmamaktadır (44) (47) (48) (49) .

Birçok çalışma (33) (50) (51) vücut kitle endeksi (BMI) ve KRK riski arasında özellikle erkeklerde bir ilişkinin var olduğunu göstermiştir. Daha ileri veriler adipoz doku dağılımının BMI ve KRK arasındaki ilişkide önemli bir faktör olabileceğini öne sürmektedir (52). Otuzbirbini aşkın Sağlık çalışanlarının takipli kohort çalışmasında, iç abdominal yağ yada iç organ adipoz dokusunun (VAT) ölçüsü olarak, bel/ kalça ölçüm oranları KRK gelişimi ile ilişkili gösterilmiştir (38). VAT seviyeleri hiperinsülinemi (diyabet) (53) (54) (55), insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü ile ilişkilendirilmiş ve kolon mukozası ile kolon karsinoma hücre hatları için mitojenik olduğu belirtilmiştir (56) (57) (58) . Bu bulgular KRK patogenezi için bir insülin hipotezi oluşturulmasına sebep olmuştur (56).

2.2.3.5. Düzenli NSAİİ kullanımı

Aspirin gibi steroid olmayan anti inflamatuvar (NSAİİ) ilaçların, kemirgenlerde kimyasal yollarla indüklenmiş kolon tümörlerinin büyümelerini inhibe ettiği birçok çalışmada gösterilmiştir (59) (60) (61) (62) (63). Mekanizma tam olarak bilinmese de hücre proliferasyonunun baskılanması yada immün cevabın stimülasyonunun prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile sağlanmasını içeriyor olduğu düşünülmektedir. NSAİİ'lerin düzenli kullanımının (en az 3 ay boyunca haftada en az 4 gün) herhangi bir kanser gelişimi riskini %50 düşürdüğü gösterilmiştir (64) (65).

2.3. Faz I Reaksiyonları

Ksenobiyotikler vücuda girdiklerinde ilk olarak biyotransformasyon mekanizmasının Faz I tepkimelerine maruz kalırlar.

Faz I tepkimeleri, ana bileşiğe ya işlevsel bir grup ekler ya da ana bileşikteki işlevsel bir grubu maskeler. Faz I tepkimelerinde oksidasyon (sitokrom P450 enzimleri tarafından), redüksiyon ve hidroliz tepkimeleri gerçekleşir. Faz I tepkimelerinde çoğunlukla sitokrom (CYP) P450 enzimi sorumludur.

2.4. Faz II Reaksiyonları

Faz II enzimlerinin içinde, N asetil transferaz (NAT), Glutasyon S-transferaz (GST), Sulfotransferaz (SULT) ve UDP Glukuronosiltransferaz (UGT) enzimleri yer almaktadır. Bu enzimler ekzojen veya endojen kaynaklı bileşiklerin konjugasyonundan sorumludur. Faz I enzimleri tarafından oksitlenen metabolitlerin inaktive ve suda çözünebilir hale getirilmesini sağlarlar. İnaktive ve suda çözünebilir hale gelmiş bu ksenobiyotikler ise idrar veya safra yoluyla atılırlar (66) (67).

2.5. Farmakogenetik

Farmakogenetik terimi, genetik polimorfizmlerle ilaç cevabı arasındaki ilişkiyi araştıran bilim dalı olarak 1959'da Vogel tarafından tanımlanmıştır (68). İlaç cevabının kalıtılabildiğinin ilk kanıtı ise, Alving ve arkadaşlarının'nın 1956'da anti-malarial (primaquine, sulfonamid) ilaç tedavileri sırasında, glukoz- 6 – dehidrogenaz enzimatik defektlerinden kaynaklı hemoliz gerçekleştiğini gözlemlemeleri olmuştur (69). İlk moleküler defekt ise karaciğerde CYP2D6 eksikliğine bağlı olarak debrisoquine'nin zayıf metabolize edilmesi (Beyazlarda sıklığı %8) olarak belirtilmiştir (70). Farmakogenetik testleri ile ilaçların aktivasyon ve detoksifikasyon seviyeleri öngörülebilmektedir. Farmakogenetik bilgiler ışığında hastalara doz ayarlamalarında bireysel tedaviye yönelik adımlar atılabilmektedir.

2.6. Kolon Kanseri Kemoterapisi

Son 30 yıldır 5Florourasil (5FU) ile kolon kanseri tedavisi gerçekleştirilmektedir. Ancak son yıllarda oxaliplatin ve irinotekan gibi yeni ilaçlar geliştirilmiştir. Her iki ilaç da kendi başlarına etki gösterme ve çapraz direnç göstermeme özellikleri ile kombine tedavilerde kullanılmaya başlanmışlardır. Bugün kolon kanseri tedavisinde 5FU ve irinotekanın kombine uygulaması ilk seçenek olarak kullanılmaktadır.

2.6.1. 5-Florourasil

Florourasil (5FU), hem palyatif (71) hem de adjuvan (72) KRK tedavilerinde tüm kemoteropatik kombinasyonların temel komponentidir. 5FU geniş bir yelpazede kullanılan bir antimetabolik ilaçtır. Ancak terapiye cevap ve tolerans açısından bireyin kendinde ve bireyler arasında ciddi çeşitlilik görülmektedir. 5FU tedavisinde fayda sağlayabilecek bireylerin öngörülmesi kanıtlanmış bir mekanizma bulunmamaktadır. Bu çeşitlilik hasta yada tümör kaynaklı, genetik yada genetik dışı sebeplerden kaynaklanabilmektedir. İlaç metabolizması ve düzenlenmesini, yaş, organ fonksiyonu, çoklu tedaviler ve hatta bireyin sirkadyen ritminden etkilenebilirken, genetik değişkenler ilaç farmakokinetiği ve farmakodinamiği üzerinde %20-95 oranında etkili olduğu rapor edilmiştir (73) (74) (75). 1200 üzerinde hasta üstünde yapılan araştırmada 5FU tedavisi gören hastaların %30'dan fazlası ilaç kaynaklı toksisite ile karşılaşmaktadır (76).

5FU ana mekanizması, aktif metaboliti fluorodeoksiüridin (FdUTP) aracılığıyla, TS ve MTHFR ile beraber inaktif üçlü kompleksin oluşmasına sebep olan timidilat sentaz (TS) inhibisyonunu sağlamaktır (77). İntraselüler MTHFR seviyeleri bu üçlü kompleksin stabilizasyonu için önemlidir (78). Buna ek olarak 5FU aktivitesinin bir belirteci de inaktivasyonundan sorumlu olan enzim dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD)'dir (79).

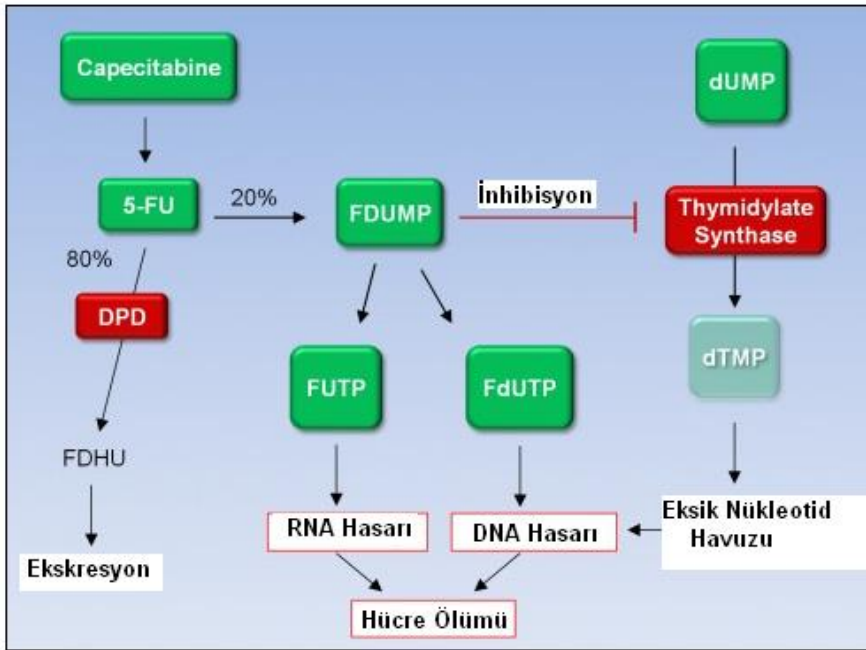
5FU metaboliti FdUTP'nin DNA sentezine katılması ile hatalı kodlamaya ve sonuç olarak hücre ölümüne sebep olmaktadır. 5-florodeoksiribosil kalıntıları urasil-DNA glikosilaz (UDG) ile DNA'dan kesilip uzaklaştırılabilir, böylece tek zincir kırılmaları ortaya çıkar(80). 5FU, DNA sentezine etki ettiğinden hücre döngüsünün S fazına özgü bir ilaçtır (81).

2.6.1.1. Dihidropirimidin Dehidrogenaz

Dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD), pirimidin katabolizması üzerinde etkili baş ve seviye kısıtlayıcı enzimdir. Homodimerik protein, urasil ve timinin NADPH bağımlı olarak indirgenmesini katalizler ve fluoropirimidin bazlı antikanser ilaçların farmakokinetiği üzerine kritik rol oynar. 5FU standart dozlarının %80-85'i DPD tarafından inaktif bileşiklerine hızlıca

degrade edilir. Degredasyonu da 24 saat içinde α -fluoro- β -alanin olarak atılımı takip eder (82) (83) (84).

Ciddi yada ölümcül toksik etki görülen 5FU hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC), DPD seviyelerinin düşük olduğu yada tespit edilemediği bildirilmiştir. (85) (86) (87). Artan DPD aktivitesi ve ilişkili 5FU katabolizması, 5FU rezistansına sebep olurken, azalan DPD aktivitesi ilaç seviyesinin artışı sağlarken toksisiteye sebep olmaktadır (88) (89) (90). DPD proteinini kodlayan DPYD genine ait varyantlar enzim aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir (Şekil2-6).



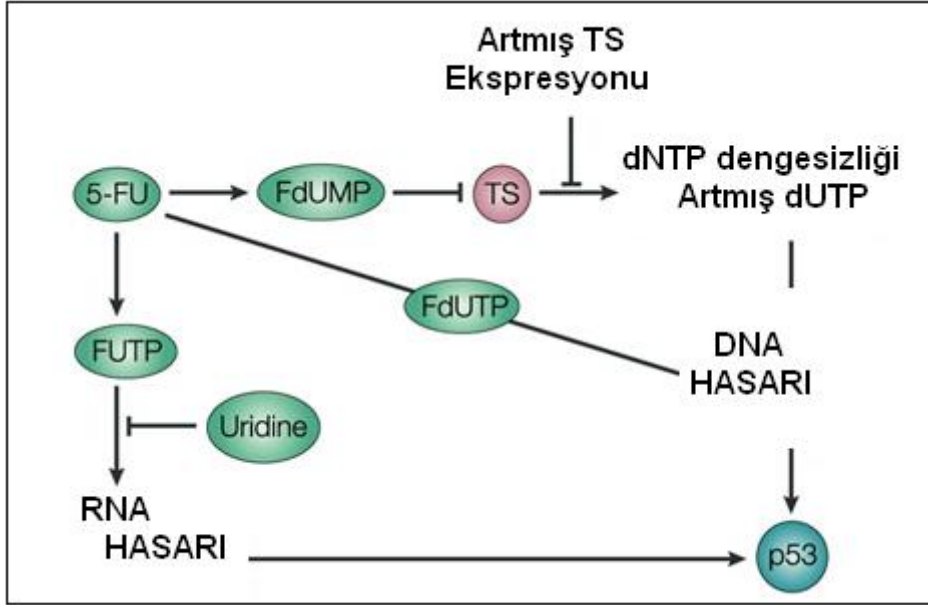
Şekil 2-6 5FU mekanizmasının DPD'nin yeri

2.6.1.2. Timidilat Sentaz

TS, pirimidin "denovo" deoksiniükleotid sentezinde seviye- kısıtlayıcı bir enzim olduğundan kemoterapötik müdahalelerde mükemmel bir hedefdir. Deoksiüridin – 5'-monofosfat (dUMP)'nin, deoksitimidin -5'- monofosfat (dTMP)'ye metilasyonunu katalizlemektedir. Bu reaksiyon, dTMP sentezinin ve dolayısı ile ardından gelecek olan DNA sentezinin tek denovo sentez şeklidir. dTMP aynı zamanda timidinin, sitozolik bir enzim olan timidin kinaz 1 ya da mitokondrial timidin kinaz 2 tarafından dTMP'e dönüştürülüp kurtarılması ile de sentezlenebilir (91).

TS inhibisyonu, dTMP, bunu takiben 2'-deoksitimidin-5' (dTTP) tüketimine ve dolaylı olarak dUMP birikimine neden olur. Bu durum, DNA'nın normal substratı olan dTTP yokluğundan kaynaklı 2'-deoksiüridin-5' in DNA'ya katılmasıyla sonuçlanır (92).

Ortamda serbest bulunan FU molekülleri ayrıca RNA sentezine katılarak hatalı RNA sentezine sebep olur ve hücre ölümü gerçekleşir. Sonuç olarak hem DNA hem RNA hasarı gerçekleştirilmiş olur (Şekil2-7).



Şekil 2-7 5FU mekanizmasında TS'nin yeri

Son yıllarda yapılan araştırmalarda floroprimidin verilen hücre kültürlerinde TS proteininde artış gözlenmiştir. Aynı zamanda kolon kanseri tedavilerinde en sık kullanılan 5FU verildiğinde gözlenen indüklenme bu sitotoksik etkiden kaçma ve floroprimidinlere karşı rezistans için geçerli bir mekanizma olabilir (6).

Yapılan çalışmalarda, hasta raporlarında TS inhibisyonu ve 5FU 'ya cevap arasında bir ilişki görülmüştür. FdUMP ve dUMP düzeylerinin (TS inhibisyonu ölçütü olarak) gastrointestinal ve meme kanserli 5FU 'ya cevap veren hastalarda vermeyenlere kıyasla daha yüksek oranla olduğu belirtilmiştir (93).

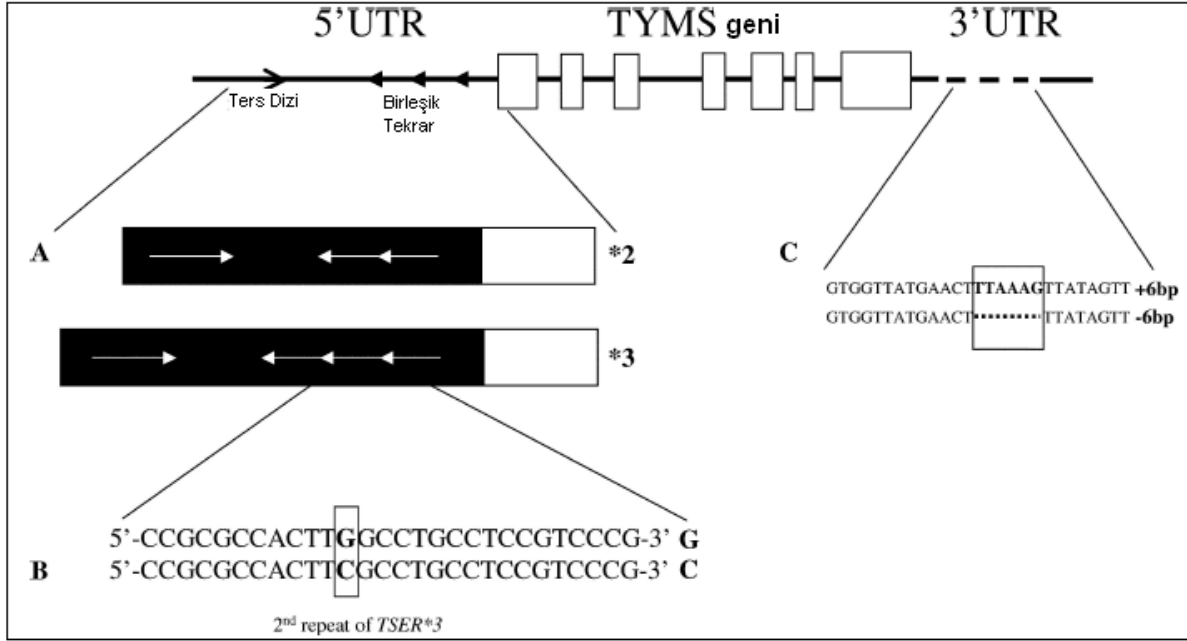
5FU bazlı kemoterapiye cevap veren TS mRNA seviyeleri düşük olan hastalarda hayatta kalımların da daha yüksek olduğu görülmüştür (5). Araştırmaların sonucunda TS seviyeleri 5FU sensitivitesini öngörebileceği ileri sürülmüştür (6). TS seviyelerinin yüksek oluşu düşük sağ kalım ile bağdaştırılmıştır (7). TS seviyelerinin prognostik ve öngörü açısından geçerli parametreler olduğu düşünülmektedir (8).

2.6.1.3. Timidilat Sentaz Farmakogenetiği

TS aşırı ekspresyonunun 5FU bazlı tedavilerde direnç gelişmesine sebep olarak tedavi başarısını düşürdüğü hem invitro (94) hem invivo (95) (5) deneylerle gösterilmiştir. Ayrıca

yüksek TS ekspresyonunun meme (8), mide (96) ve kolorektal kanserlerde (97) (98) (99) kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

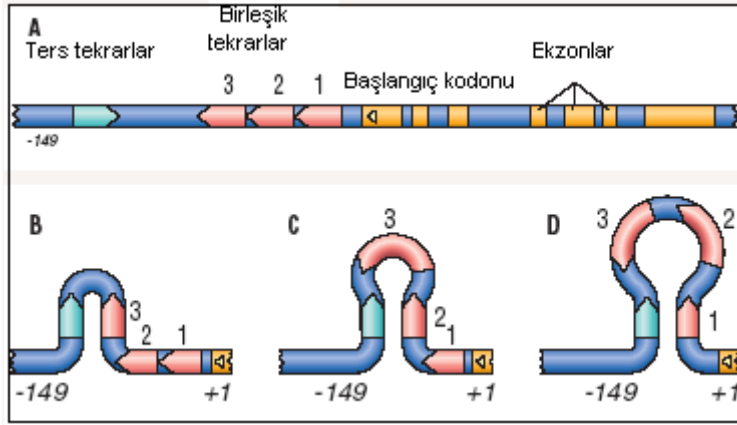
TS farmakogenetiğinde etkinliği gösterilmiş olan polimorfizmler, TSER (thymidilate synthase enhancer region) sıralı tekrarı, TSER*3 G>C değişimi ve 3'UTR 6bp delesyonudur (Şekil 2-8).



Şekil 2-8 TS fonksiyonel varyantları lokalizasyonu

2.6.1.4. TSER sıralı tekrar polimorfizmi

TS proteinin kendi mRNA translasyonunu negatif yönde otoregüle etmek üzere bir RNA bağlanma proteini olarak hareket ettiği gösterilmiştir (100) (101) (102) . In vitro çalışmalar TS enziminin kendi 5'UTR (5' untranslated region- transle olmayan bölge) bölgesinde yer alan ve bir sıralı tekrar dizisi ve başlama kodonu içeren sap- ilmik (stem- loop) yapısına bağlanmaktadır (100). Bu bölgenin negatif regülatör olarak görevi, başlangıç kodonu ve tüm sıralı tekrar dizisine ait delesyon çalışmaları ile TS mRNA'sının artan translasyonel etkinliği gösterilerek de desteklenmiştir (103) (104).(Şekil2-9)



Şekil 2-9 TS sıralı tekrar dizisi konformasyonel etkisi

1995 yılında Horie et al TS geni 5'UTR bölgesinin sıralı tekrar bölgesinde bir polimorfizm tanımlamıştır (9). Bireyler polimorfizmi, 2 tekrar, 3 tekrar yada heterozigot olarak taşıyabilmektedir. Bu sıralı tekrar dizisi, TS promoter bölgesine bir enhancer gibi davranan 28 bp'lik tekrarlar içerir. In vitro çalışmalar, tekrar sayısının artmasının TS gen ekspresyonunda (9) (105) ve TS gen aktivitesinde (106) artış ile sonuçlandığı gösterilmiştir. In vitro ekspresyon çalışmaları, 3'lü tekrar varlığının (TSER*3 veya 3R) 2'li tekrar (TSER*2 veya 2R) varlığına kıyasla 2,6 kat daha fazla mRNA ekspresyonuna sebep olduğunu göstermiştir (105). Sonraki in vivo çalışmalar da insan gastrointestinal tümörlerinde TSER*3 varlığında TSER*2'ye kıyasla ciddi oranda daha fazla TS mRNA ve protein seviyelerinin varlığını göstermiştir (107) (108).

Bölgenin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda, bu enhancer bölgesine bilinen hiçbir transkripsiyon faktörünün bağlanmadığı belirtilmiştir (104). Ancak, genin ATG başlangıç bölgesi çevresinde sap-ilmik formasyonunun oluşması (103) (109) ve transkripsiyonun başlaması için tekrar dizisinin ilk tekrarı bulunmalıdır (104). Enhancer bölgesinin önüne yerleştirilecek bir tekrarın enhancer davranışında önemli bir sekonder yapı görevine sahip olabileceği düşünülmektedir (109) (110). Esansiyel promoter dizisi başlangıç bölgesinin önünde -242 ile -148. nükleotitler arasında yer almaktadır (109).

TSER allellerinin frekansı KRK hastaları ve genel populasyonda ayrıca tümör ve çevre dokularında benzer olması tümör gelişiminde etkili olmadığını göstermektedir. Ancak TSER genotipinin 5FU toksisitesi ve etkinliği üzerinde etkili olduğu üzerine bulgular bulunmaktadır (111).

5FU kemoterapisi gören 50 metastatik KRK hastası üzerinde yapılan çalışmada, TSER*2/TSER3 genotipi taşıyan hastalara kıyasla TSER*2/TSER*2 genotipi taşıyan

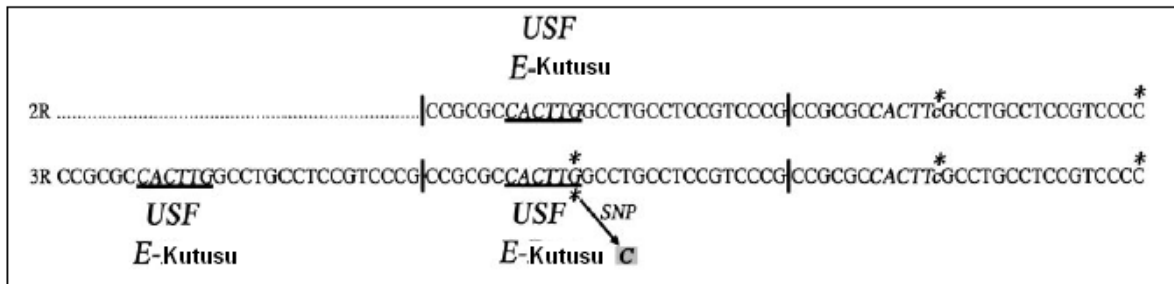
hastalarda %35 daha fazla, TSER*3/TSER*3 genotipi taşıyan hastalara kıyasla ise %41 daha yüksek tedavi cevabı gözlenmiştir (33).

TSER*3 Asyalı popülasyonlarında diğer popülasyonlara kıyasla >%80 çok daha yüksek oranda görülmektedir (9) (112) (113) (114) (115).

2.6.1.5. TSER sıralı tekrarları G>C değişimi

TSER bölgesinde bir polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizm, TSER*3 allelinin 3. tekrarının 12. nükleotitinde yer alan G>C değişimidir (10). Sıralı tekrar dizilerinde ekspresyon artışına sebep olan USF-1 transkripsiyon faktörü bağlanma dizileri yer almaktadır. C allelinin varlığı USF-1'in bağlanma bölgesini ortadan kaldırmaktadır. USF E-box konsensus elementi (CACTTG) TSER*2 genotipinin ilk tekrarında ve TSER*3 genotipinin ilk iki tekrarında yer almakta ancak her iki genotipte de son tekrarda bulunmamaktadır. Her iki genotipinde de son tekrarının USP bağlanma bölgesi olan 12. Nükleotitinde yer alan C nükleotiti USP bağlanması için kritik öneme sahiptir (116).

Dolayısı ile 3. tekrar ile ortaya çıkan yeni USF-1 bağlanma bölgesinin ekspresyonu artırma etkisi bu polimorfizmin varlığında transkripsiyonel aktivitenin 2 li tekrar yapısı ile benzer kılmaktadır. Bu bulgu sıralı tekrarların tek başına değerlendirilmesinin yanıltıcı olacağını göstermekte, 3 tekrarda ekspresyonun artırılabilmesi için USF-1 bağlanma bölgesinin (E-box) gerekliliğini öne sürmektedir (10) (Şekil 2-10).



Şekil 2-10 TS sıralı tekrar G>C değişimi lokalizasyonu, USF bağlanma bölgesi ilişkisi

Gusella ve arkadaşlarının, 100 KRK hastasında yaptıkları araştırmada, TS polimorfizmlerinin elektroforetik analizi sırasında, 3 hastada beklenmedik bir 113bp'lik bant gözlenmiştir. Yapılan dizilemenin ardından ise 2li tekrar varyantında da 12. nükleotitinde G>C değişiminin varlığı gösterilmiştir. Bu allel varyantı (TSER*2C veya 2RC) daha önce hiçbir çalışmada tanımlanmamıştır. Her 3 hasta da 2RC varyantını heterozigot taşımakta ve evre 2-3 kemoterapi bağlantılı toksisite yaşamışlardır (11) .

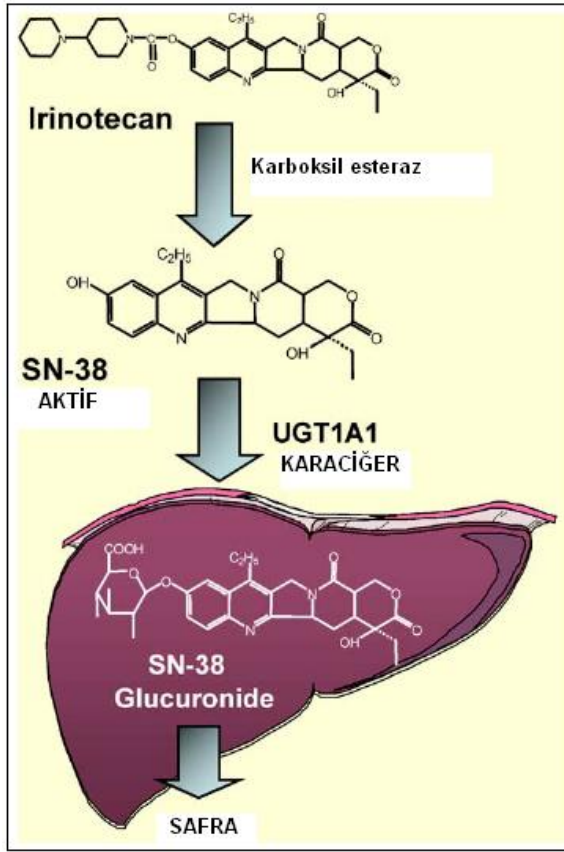
Tekrar sayısı ve 3R G>C değişimi beraber ele alındığında, homozigot 3RG/3RG genotipi taşıyan KKK hastalarında, 2R/2R, 2R/3RC yada 3RC/3RC genotipi taşıyanlara kıyasla ciddi oranda yüksek TS ekspresyonu gösterilmiştir (117) (118). Düşük ekspresyon gösteren genotipi taşıyan hastaların 5FU bazlı tedaviye ciddi oranlarda daha fazla cevap ve tedavi sonrası yüksek sağ kalım oranı göstermişlerdir (118) (107).

2.6.1.6. 3'UTR 6bp delesyonu (TSdel)

TS geninde yer alan üçüncü bir polimorfizm de 3'UTR bölgesinde, stop kodunun 447 nükleotit sonrasında yer alan 6 bp'lık delesyondur. Bu polimorfizm, beyazların %27- 29'unda görülmektedir (12) (119) . Bir mRNA'nın 3' ucu kodlanmamaktadır ancak mRNA stabilitesini belirleyen diziler içermektedir (12). Homozigot 6bp delesyonu taşıyan hastaların homozigot 6bp insersiyon taşıyan hastalara kıyasla 3 kat daha az TS mRNA eksprese ettiği gösterilmiştir. Heterozigot bireylerin ise ortalama ekspresyon seviyeleri gözlenmiştir (119). Son veriler delesyon alleli ve 5FU kemoterapisine daha düşük cevap verilmesi ile ilişkilendirilmiştir (120)

2.6.2. İrinotekan

İrinotekan (CPT-11) (7-etil-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]-karboniloksikamptotesin), suda çözünen 20(S)-camptotesin (CPT) analogu olan bir aktif olmayan önilaçtır. Asıl aktif metaboliti olan SN-38, güçlü aktif ve toksisitesi ile bilinen bir topoizomera 1 inhibitörüdür (121) . CPT-11, karboksisterazlar tarafından (özellikle CES2) aktif metaboliti olan SN-38'e metabolize edilmektedir. Daha sonra UDP-glukuronosiltransferaz (UGT) 1A1 enzimi tarafından daha polar ve inaktif olan B-glukronide hali SN-38G' ye konjuge ve detoksifiye olur (122) (123). SN-38G, bakterial glukuronidazlar tarafından glukuronidin ayrılıp SN-38 ve glukuronidik asitin oluşturulduğu ince barsaktan safra ile salınmaktadır (124). Bilirubin UGT1A1 tarafından aynı glukuronidasyon yolağından geçerek safraya salınmaktadır (125) (Şekil 2-11).



Şekil 2-11 İrinotekan metabolizması

İrinotekan etkinliği dolayısı ile tüm dünyada 5FU ve Leucovorin ile beraber metastatik KRK tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. CPT-11 tedavisinin bir sınırlaması öngörülemeyen toksisitesidir. Toksisitesi dozu ve verildiği programa bağlıdır. Fakat tüm rejimler ileri derece ishal ve nötropeni en çok görülen yan etkilerdir (126). Seviye 3 ve 4 hematolojik toksisite %5 ve %33 arasında doz ve rejim kaynaklı değişkenlik göstermektedir (127). İrinotekan kaynaklı hastaneye başvuruların çoğunluk sebepleri bulantı ve kusma ile beraber yada tek başına ishal (%18) ve ishal ile beraber yada tek başına nötropeni/lökopenidir (%8) (128).

2.6.2.1. UGT1A1

UGT, geniş bir yelpazedeki lipofilik kimyasallara glukuronik asit eklenmesini katalize eden bir enzimdir. Birçok ekzogenik ve endogenik bileşiğin detoksifikasyonunda, daha polar ve aynı zamanda idrar ve safra ile kolayca atılabilir hale getirmede çok önemli rol oynar. UGT1A1, 2. Kromozomda yer alan UGT1 lokusu tarafından kodlanan en az 12 UGT-glukuronoziltransferaz enziminden oluşan geniş bir gen ailesinin üyesidir. UGT1 lokusunun

organizasyonu karmaşıktır, her biri kendine ait bir promotör bölgesi içeren en az 12 alternatif ekzon 1 ve ortak ekzon 2-5 taşımaktadır (129) (130).

UGT'nin kalıtılmış bozukluklarının sağlığa ciddi yan etkileri bilinmektedir (131). SN-38 'in safra ile atılımı, primer olarak UDP-glukuronozil transferaz 1A1 enzimi tarafından katalizlenen, SN-38 glukuronid (SN-38G) formasyonu ile artırılır (132). İrinotekan toksisitesi SN-38 degradasyonunun gerçekleşmemesi ile artmaktadır. Aktif metabolit SN-38 in ortamda artışı dokuların maruz kaldığı oranın artması anlamına gelmektedir (133) (134) (135).

Bilirubin UGT1A1 tarafından aynı glukuronidasyon yolundan geçer ve safra ile atılır (125). İn vitro çalışmalar genetik UGT1A1 izoformlarının hem SN-38 hem bilirubin glukuronidasyonda çeşitli rolleri bulunduğunu göstermiştir (132). Bazı gruplar Gilbert's Sendromu olan hastalarda irinotekan bağımlı ciddi toksisite gözlemlemiş ve serum bilirubin seviyeleri değerlerinin irinotekan kaynaklı toksik etkilerde geçerli bir belirteç olabileceğini belirtmişlerdir (125) (136) (137) (138) . Gilbert's sendromu, UGT1A1*28, UGT1A1*6 ve UGT1A1*27 genotipleri ile ilişkilendirilmiş, belirgin patolojik sonuçları olmayan indirekt hiperbilirubinemi formudur (139) (140).

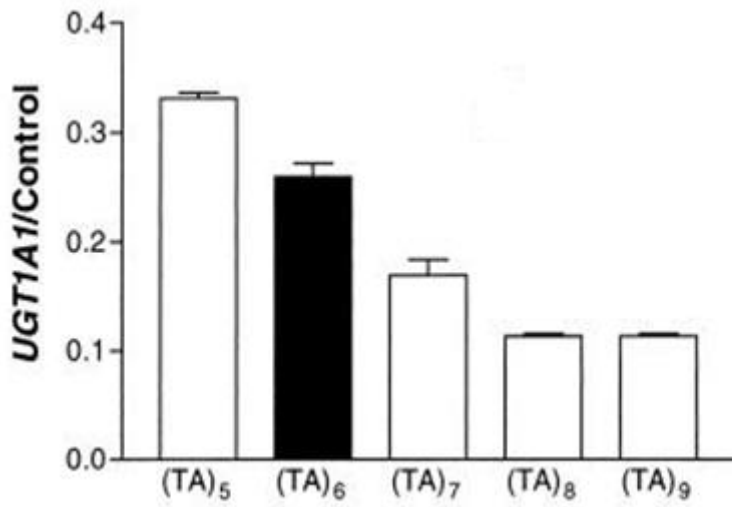
Gen transkripsiyonlarının regülasyonu genellikle gene özgü ve RNA polimeraz II (Pol II) transkripsiyon mekanizması ile kontrol edilmektedir. Pol II çekirdek promotör ve enhancer bölgeleri transkripsiyon faktörleri tarafından transkripsiyonun artırılması adına kritik öneme sahiptir. Pol II çekirdek, transkripsiyon başlama noktasına 40bç kadar mesafede yer alan promotör bölgesi kısa bir DNA dizisinden oluşmaktadır. Tipik bir Pol II çekirdeği, TATA kutusu, başlatıcı, aşağı promotör element ve transkripsiyon faktörü tanıma elementleri gibi birden fazla anahtar elementi barındırabilir (141) (142). Enhancer element ise hedef genlerin transkripsiyonlarını arttırmak üzere transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı DNA dizileridir. Bir enhancer element çekirdek promotör bölgesinin hemen yanında yada 100 kilobaz kadar uzağında konumlanabilmektedir (143) (144). Enhancer ve çekirdek promotör bölgelerinin ikisi de transkripsiyon faktörleri tarafından transkripsiyonun artırılması için ciddi önem taşımaktadır. Bu bölgelerde yer alan polimorfizmlerin de ekspresyon üzerinde ciddi etkileri olabilmektedir. UGT1A1 geni hem çekirdek promotör bölgesinde hem de enhancer bölgesinde bu polimorfizmleri bulundurmaktadır.

2.6.2.2. UGT1A1*28

UGT1A1, glukuronidasyon yolağındaki öneminden dolayı aday gen olarak seçilmiştir. Genin transkripsiyonal etkinliği, TATA box da yer alan 5 ile 8 arasında değişen TA

tekrarlarının sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Varyantlar, (TA)₅ UGT1A1 *36, (TA)₆ UGT1A1*1 yabanıl tip, (TA)₇ UGT1A1*28, (TA)₈ UGT1A1*37 olarak isimlendirilmiştir.

UGT1A1*28 varyasyonunun promoter bölgesinde (TATA box) fazladan bir TA dinükleotidi bulunmaktadır (145) (Şekil 2-12). Bazı çalışmalarda, bu varyant alleli taşıyan hastalarda yüksek doz irinotekan alındığında SN-38 glukuronidasyonunun azaldığı ve artan miktarda ağır ishal ve hematolojik toksisite görüldüğü bildirilmiştir (146) (15) (16) (17) (18). Bu çalışmaların sonuçları üzerine 2005'te FDA, irinotekan'ın prospektüsüne bu alleli taşıyan hastaların yüksek nötropeni riskine sahip olduğunu ve daha düşük dozlarla tedaviye başlanması gerektiğini eklemiştir (19).



Şekil 2-12 UGT1A1 TA tekrar sayısı ve ekspresyona etkileri

2.6.3. UGT1A1 -3156 G>A polimorfizmi

Bir enhancer bölgesi olan fenobarbital responsif enhancer modül (PBREM), UGT1A1 transkripsiyon başlangıç bölgesinden 3.2 kilobaz yukarıda yer almaktadır (147). - 3156 G>A değişimi PBREM bölgesinin yanında yer almakta ve TATA tekrarı varyantı ile güçlü bağlantı gösterdiği belirtilmektedir (148) .

Bazı vakalarda UGT1A1*28 homozigotluğu ileri seviye toksisiteyi açıklayamamış ve UGT1A1 ekspresyonunu etkileyen diğer polimorfizmler incelenmeye başlanmıştır. -3156 G>A UGT1A1 promoter genotipinin TA in/del genotipi içindeki dağılımı, TA in/del genotipinden bağımsız olarak, kanıtlanmış UGT1A1 seviyesi belirteci olan total bilirubin seviyesi, -3156G alleleline sahip olanlarda daha düşük seviyelerde olduğu gösterilmiştir (20) (21) (22). Innocenti et al. çalışmalarında -3156G>A varyantının UGT1A1 seviyesi üzerine TA in/delinden daha geçerli bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (14).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Seçimi ve Tanımı

Gönüllü hastaların kan örnekleri ve toksisite raporları İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bilim Dalı hastalarından elde edilmiştir.

3.2. Gereçler

3.2.1. Çalışmamızda Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri

DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen), Taq DNA polimeraz (ABM ve iTaq), DNA size marker (50 bp DNA ladder, 100 bp DNA ladder plus), Fermentas dNTP seti, Fermentas 10 X Buffer, Fermentas MgCl₂, Sodyum asetat, Template suppression reagent solüsyonu, %40 akrilamid/bis (37.5:1), Tris baz, Asetik asit, EDTA(dihidrat), 50 x TAE buffer, Üre, Deiyonize formamid, %10 Amonyum persülfat, TEMED (tetrametilendiamin), DCode boyama solüsyonu, Agaroz (Promega MBG), Asetik asit (Merck K-04134156), Borik asit (Sigma B-6768), Brom fenol mavisi (Sigma B-6896), Dietileter (Merck), EDTA (dihidrat) (Merck K-90602121), Etanol (%99 Tekel), Etidyum bromür (Sigma E-8751), Hidrojen peroksit (%35 Merck K-22035097), Potasyum hidroksit (Sigma P-1767), Potasyumdihidrojenfosfat (Merck A-741071), Primer dizileri (Fermentas), Restriksiyon enzimleri (Fermentas), Xylene cyanol (Sigma X-4126).

3.2.2. Cihazlar

BIO- RAD Denatüre Edici Gradientli Jel Elektroferez (DGGE) Sistemi, Güç kaynağı, Roche MagNa Pure Compact DNA izolasyon cihazı, Thermal Cycler: Techne ve 9700 Applied Biosystems, Midicell Primo EC330 Yatay Elektroferez Sistemi, Jel görüntüleme sistemi (Kodak EL LOGIC 100 görüntüleme sistemi), Pipet takımı (Eppendorf), Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Elektromag), Hassas terazi (Mettler), Mikrosantrifüj (TDX), Soğutmalı Santrifüj (Hettich), (-) 20 °C derin dondurucu, (+) 4 °C soğutucu, Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag), Vorteks (Nuve mix).

3.3. Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri

3.3.1. Kan Örneklerinin Alınması

TS ve UGT gen polimorfizmlerinin tayini amacıyla steril EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örnekleri DNA izolasyonu için, en geç bir gün içinde çalışmak üzere oda ısısında saklanmıştır.

3.3.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu İnvitrogen DNA izolasyon kiti ve protokolüne uygun gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. DNA Sıflık Tayini

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. 260 nm'de DNA'nın ve 280 nm'de RNA ve proteinin vermiş olduğu absorbans Tris EDTA çözeltisi ile spektrofotometre sıfırlanarak ölçüldü. 260 nm'de okunan absorbans / 280 nm'de okunan absorbans oranından DNA sıflığı saptandı. O.D.₂₆₀ / O.D.₂₈₀ oranı 1,7-1,8 olan DNA'lar temiz olarak kabul edildi. Bu oranın altında bir değere sahip olan DNA'lara temizleme işlemi uygulandı.

3.3.4. DNA Konsantrasyonlarının Hesaplanması

: Çift iplikli DNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu 1 absorbans 50 µg/ml (50 ng/µl)' dir. Bu temel bilgidен faydalanarak DNA formülü aşğıdaki formüle göre hesaplandı:

DNA Konsantrasyonu (ng/µl): Sulandırma katsayısı (100) x A₂₆₀ x 50

3.3.5. PZR-RFLP yöntemi ile TS ve UGT1A1 Polimorfizmlerinin Tespit Edilmesi

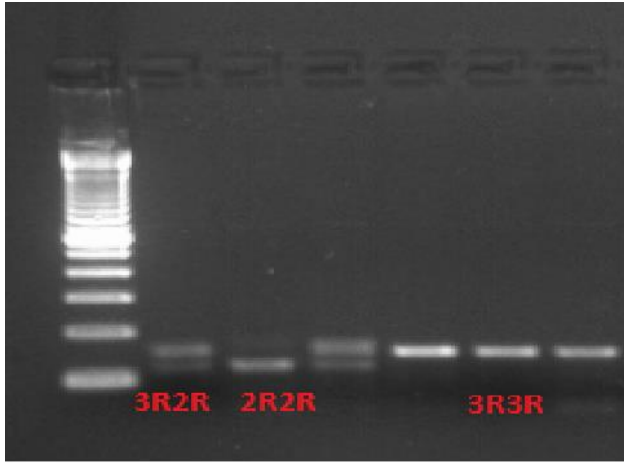
İlgili gen bölgeleri PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ve restriksiyon enzim kesimleri ile agaroz jel üzerinde belirlenmiş, TATA tekrarı içeren UGT1A1*28 varyantı ilişkili genotipler ise PZR reaksiyonu sonrasında poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile belirlenmiştir.

3.3.5.1. PZR-RFLP yöntemi ile TSER genotiplerinin belirlenmesi

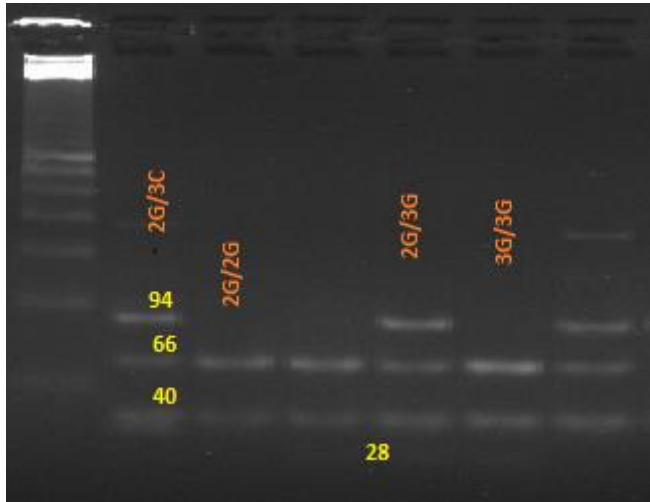
TSER gen bölgesinin belirlenmesi için, ileri 5' AAAAGGCGCGCGGAAGGGG TCCT 3' ve geri 5'TCCGAGCCG GCCACAGGCAT 3' primerleri kullanılarak 95C 5 dk ilk denatürasyon ardından 35 siklus süresince, 95C'de 45sn, 66C'de 45sn, 72C'de 45sn ve son uzama süresi olarak da 72C'de 5 dk olarak PZR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon için 17,4ul dH₂O; 1,3ul MgCL₂; 0,5 ul 2,5pmol dNTP; 2,5ul 10x tampon solüsyonu; 0,5ul DMSO; 0,5ul forward ve 0,5ul reverse primerler; 0,3ul Taq Polimeraz enzimi ve 1ul DNA örneği kullanılmıştır. %2'lik agaroz jel üzerinde yürütülmesi ile TSER tekrar profilleri belirlenmiştir(Şekil3-1)..

Belirlenmiş 3'lü veya 2'li tekrarlar 4,5ul dH₂O; 2ul tampon çözeltisi, 0,3ul HaeIII restriksiyon enzimi ve 5ul PZR ürünü kullanılarak kesimi gerçekleştirilmiş %3,5 agaroz jel

üzerinde sıralı tekrarların 12. nükleotitinde yer alan G>C değişimi 40dk yürütülerek belirlenmiştir (Şekil3-2). Jelde görüntülenmesi zor olan örnekler tekrarlanmıştır.



Şekil 3-1 TSER sıralı tekrar sayısı belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü

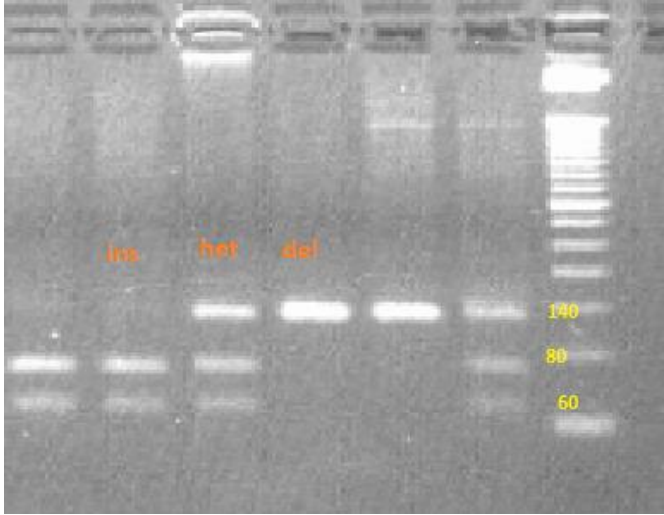


Şekil 3-2 TSER G>C değişimi belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü

3.3.5.2. PZR-RFLP yöntemi ile TSdel genotip tayini

TS delesyon genotipleri ileri 5'CAAATCTGAGGGAGCTGAGT 3' ve geri 5'CAGATAAGTGGCAGTACAGA3' primerleri kullanılarak 95C 5 dk ilk denatürasyon ardından 35 siklus süresince, 95C'de 45sn, 58C'de 45sn, 72C'de 45sn ve son uzama süresi olarak da 72C'de 5 dk olarak PZR reaksiyonu gerçekleştirilerek ilgili gen bölgesi belirlenmiştir. Reaksiyon için 16,4ul dH₂O; 1,8ul MgCl₂; 0,3 ul 2,5pmol dNTP; 2,5ul 10x tampon solüsyonu; 0,7ul DMSO; 0,5ul forward ve 0,5ul reverse primerler; 0,3ul Taq Polimeraz enzimi ve 2ul DNA örneği kullanılmıştır.

Restriksiyon enzim kesimleri 8,5ul dH₂O; 1ul tampon çözeltisi, 0,5ul DraI restriksiyon enzimi ve 10ul PZR ürünü kullanılarak kesimi gerçekleştirilmiş %2lik agaroz jel üzerinde 25dk belirlenmiştir (Şekil 3-3).

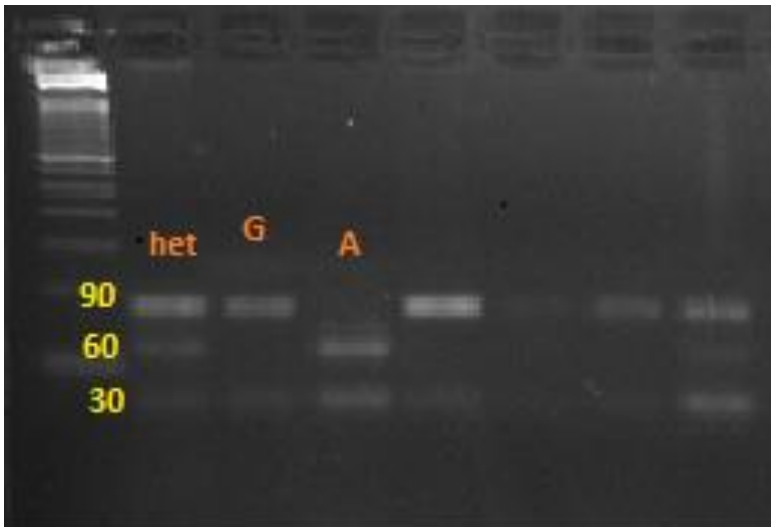


Şekil 3-3 TSdel varyantı belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü

3.3.5.3. PZR-RFLP yöntemi ile UGT1A1 -3156 G>C Polimorfizminin Tayini

UGT1A1 -3156 G>A genotipleri ileri 5' CAAGCAGAAGGGCTAGAG 3' ve geri 5' ATTCAGAGTCCTCTGCCT 3' primerleri kullanılarak 95C 5 dk ilk denatürasyon ardından 35 siklus süresince, 95C'de 45sn, 57C'de 45sn, 72C'de 45sn ve son uzama süresi olarak da 72C'de 5 dk olarak PZR reaksiyonu gerçekleştirilerek ilgili gen bölgesi belirlenmiştir. Reaksiyon için 15,1 ul dH₂O; 1,6ul MgCl₂; 2,5 ul 10 pmol dNTP; 2,5ul 10x tampon solüsyonu; 1 ul forward ve 1 ul reverse primerler; 0,3ul Taq Polimeraz enzimi ve 1ul DNA örneği kullanılmıştır.

Restriksiyon enzim kesimleri 8,5ul dH₂O; 1ul tampon çözeltisi, 0,5ul DdeI restriksiyon enzimi ve 10ul PZR ürünü kullanılarak kesimi gerçekleştirilmiş %2lik agaroz jel üzerinde 25dk yürülerek belirlenmiştir (Şekil 3-4).



Şekil 3-4 UGT1A1 -3156 G>C değişimi belirlenmesine ilişkin jel görüntüsü

3.3.6. PZR ve Poliakrilamid Jel Elektroferez Yöntemleri Kullanılarak UGT1A1*28 Gen Varyantlarının Belirlenmesi

3.3.6.1. PZR Yöntemi

UGT1A1*28 genotipleri ileri 5'TTAACCTGGTGTATCGATTGG3' ve geri 5'CTTTGCTCCTGCCAGAGGT3' primerleri kullanılarak 95C 5 dk ilk denatürasyon ardından 35 siklus süresince, 94C'de 45sn, 57C'de 45sn, 72C'de 45sn ve son uzama süresi olarak da 72C'de 5 dk olarak PZR reaksiyonu gerçekleştirilerek ilgili gen bölgesi belirlenmiştir. PZR ürünleri poliakrilamid-akrilamid jel elektoforezi ile belirlenmiştir.

3.3.6.2. PAGE Solüsyonlarının Hazırlanması

%40 Akrilamid /Bis (37,5:1)

Akrilamid: 38,93 gr

Bis-akrilamid: 1,07 gr

dH2O: 100 ml'ye tamamlanır

0,45'lik filtrelerden geçir ve 4 +4 C buzdolabında saklanır.

%10 Amonyum Persülfat

Amonyum persülfat : 0,1 gr

dH2O: 1 ml

1 hafta -20 C buzdolabında saklanabilir.

2X Gel Loading Dye

%2 Bromophenol Blue (%0,05 son konsantrasyon): 0,25 ml

%2 Xylene Cyanol (%0,05 son konsantrasyon): 0,25 ml

%100 Glycerol (%10 son konsantrasyon): 7 ml

Son hacim: 10 ml

Oda sıcaklığında saklanılır.

50XTAE Buffer

Tris base (2 MM son konsantrasyon): 242 gr

Asetik asit, glacial (1MM son konsantrasyon): 57,1 ml

0,5 M EDTA, pH 8 (50 mM son konsantrasyon): 100 ml

dH2O: 1000 ml'ye tamamla.

20-30 dakika otoklavlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

1XTAE Buffer

50XTAE buffer : 140 ml

dH₂O: 6840 ml

Son hacim: 7 ml

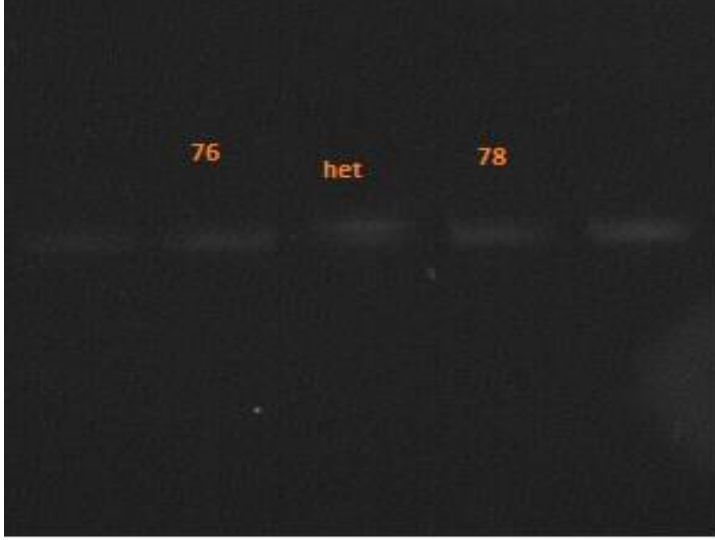
3.3.6.3. Poliakrilamid Jel Elektroferez (PAGE) Yönteminin Uygulanması

%12'lik yükleme jelinin solüsyonunu hazırlamak için %40 akrilamid stok solüsyonundan 30 ml, 10X TAE stok tamponundan 10 ml ve 4,8 gr üre alınır ve son hacim 100 ml olacak şekilde dH₂O eklenir. Hazırlanan stok solüsyon 0,45'lik filtreden geçirilir ve saklanmak üzere +4 C buzdolabına kaldırılır.

Çalışma sırasında stok PAGE solüsyonundan 30 ml alınarak behere konulur. 200 µl APS ve 20 µl TEMED ile karıştırılıp jel çözeltisi hazırlanır. Jel çözeltisi önce steril su ve % 70'lik alkol ile temizlenmiş ve 0,75 mm'lik plastik ayırıcılarla ayrılmış camların (16x20 ve 16x18 cm ve 3mm cam) arasına dökülür. Daha sonra örneklerin yüklenebilmesi için taraklar yardımıyla kuyucuklar oluşturulur. Bu işlemler sonrasında jelin polimerize olması için 30-60 dakika beklenilir. Polimerizasyondan sonra taraklar çıkarılır ve jel elektroferez sistemine yerleştirilir. 1X TAE 60°C'de ısıtılır. Jelin alt kısmıyla üst kısmı arasında elektrik akımı sağlanması için sıcak 1X TAE tamponu eklenir. Örnekler yüklenmeden önce sabit sıcaklık sağlanması için sistem 150 V'ta 30 dk çalıştırılır. Daha sonra kuyucuklar kalan tuzların ve polimerize olmamış akrilamidin uzaklaştırması için tamponla (enjektör yardımıyla) yıkanır.

Örnekler yükleme işlemi öncesinde eşit hacimde formamidli boya (2X gel loading dye) ile karıştırılarak 95°C'de 5 dk denatüre edilir ve DNA ipliklerinin tekrar birleşmemesi için buz içerisinde bekletilir. Örnekler kuyucuklara yüklenir ve uzunluklarının belirlenmesi için DNA markerları jele yüklenir. Yükleme işlemi sonrası 300 V'ta 3 saat elektroferez yapılır.

Elektroferez işlemi tamamlandıktan sonra jel camlar arasından çıkartılıp, DNA fragmanlarının boylarını belirlemek için gümüş boyama tekniği yada etidyum bromür ile boyanır. Jel yürütme ve gümüş boyama aşamalarından sonra jel saklanmak üzere çerçeve ile kurutulur (Şekil 3-5).



Şekil 3-5 UGT1A1*28 varyantı PAGE görüntüsü

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizinde SPSS 17.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Genotiplerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare, Fisher Kruskal Wallis ve Mann-Whitney testleri kullanılmıştır. Genotiplerin parametreler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için Student's t-testi ve Ki-kare kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya 97 kolon kanseri teşhisi konulmuş hasta ile başlanmış ancak raporlarına ulaşılamayan hastalar çıkarıldığında sayı 86'ya düşmüştür. Bu hastaların tamamı farklı dozlarda 5FU kullanmıştır. Hastaların sadece 50'si irinotekan kullanmıştır. Hastaların kullandığı kemoterapi rejimleri ve o dönemde karşılaştıkları toksik yan etkiler hasta dosyalarından incelenmiştir. Kemoterapi rejimleri ve içerdikleri ilaç dozları tabloda yer almaktadır (Tablo 4-1).

Tablo 1 Kemoterapi rejimleri ve içerdikleri ilaç dozları

Kemoterapi rejimi	5FU dozu mg/m ²	İrinotekan dozu mg/m ²	Diğer ilaç- dozu mg/m ²	
FUFA (MAYO)	450	-	Leucovarin	200
FOLFOX	1000	-	Leucovarin	200
FOLFİRİ	640	180	Leucovarin	200
			Oxaliplatin	85
SALTZ	500	125	Leucovarin	200
SETUKSİMAB/İRİNOTEKAN	-	350	Setuksimab	650
ORAL 5FU	1000	-	Oxaliplatin	130

Hastaların yaş ve cinsiyetine uygun 100 kişilik bir sağlıklı grup oluşturulmuştur. Bu bireyler ile genel toplum frekansı belirlenmesi amaçlanmıştır. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyete göre yaşları tabloda yer almaktadır.

Tablo 2 Çalışma Gruplarına ait Demografik Tablo

	KONTROL (n:100)	HASTA (n:86)
CİNSİYET (n) K/E (%)	50/50 (%50-%50)	31/55 (%36-%64)
YAŞ	56,02±10,378	57,14±11,03

n: birey sayısı; tablodaki değerler X±SD ve yüzde olarak verilmiştir; gruplararası farklılık derecesi student t-testi ve ki-kare (X²) ile incelenmiştir.

TSER tekrar polimorfizmi dağılımına ilişkin her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p=0,639$) (Tablo 3). Hasta ve kontroller beraber ele alındığında, 186 kişi içinde 3R/3R, 3R/2R, 2R/2R frekansları sırası ile %40,9, 44,1 ve 15,1 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSER gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı

TSER	KONTROL n(%)	HASTA n(%)
Genotip		
3R/3R	44(%44)	32(%37,2)
3R/2R	42(%42)	40(%46,5)
2R/2R	14(%14)	14(%16,3)

n: birey sayısı; gruplararası farklılık Ki-kare testi (X^2) ile incelenmiştir.
(X^2 : 0,895 , p :0,639)

TSER sıralı tekrar G>C değişimi genotiplerinin hasta ve genel topluma dağılımına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç gözlenmemiştir ($p=0,073$) (Tablo 4). Hasta ve kontroller beraber ele alındığında 186 kişi içindeki frekansı tabloda vermiştir (Tablo 5).

Tablo 4 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSER GC taşıyıcılık özelliğine göre gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı

TSER	KONTROL n(%)	HASTA n(%)
Genotip		
3C/3C	6(%6)	4(%4,7)
3G/3C	20(%20)	16(%18,6)
3G/3G	15(%15)	11(%12,8)
3G/2G	7(%7)	18(%20,9)
3C/2G	37(%37)	23(%26,7)
2G/2G	11(%11)	14(%16,3)
2G/2C	3(%3)	0
3C/2C	1(%1)	0

n: birey sayısı; gruplararası farklılık Ki-kare testi (X^2) ile incelenmiştir.
(X^2 : 12,946 , p:0,073)

Tablo 5 TSER G>C polimorfizminin total frekansı

Toplam	TSERGC								Total
	3C/3C	3G/3C	3G/3G	3G/2G	3C/2G	2G/2G	2G/2C	3C/2C	
Sayı	10	36	26	25	60	25	3	1	186
% Toplam	5,4%	19,4%	14,0%	13,4%	32,3%	13,4%	1,6%	,5%	100,0%

TS delesyon varyantı frekansları incelendiğinde yine hasta ve genel toplum arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (p=0,971) (Tablo 6). Hasta ve kontrol grupları beraber ele alındığında 186 kişi içerisinde ins/ins, ins/del ve del/del frekansları sırası ile %29,6, 50 ve 20,4 olarak görülmüştür.

Tablo 6 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSdel gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı

TSdel	KONTROL n(%)	HASTA n(%)
Genotip		
İns/İns (+6/+6)	29 (%29)	26 (%30,2)
İns/Del (+6/-6)	50 (%50)	43 (%50)
Del/Del (-6/-6)	21 (%21)	17 (%19,8)

n: birey sayısı; gruplararası farklılık Ki-kare testi (X^2) ile incelenmiştir.
(X^2 : 0,058 , p:0,971)

TS varyantlarının beklenen ortak etkileri ışığında TS ekspresyon seviyelerinin şeması Hitre ve arkadaşlarının oluşturduğu şema baz alınarak oluşturulmuştur (149) (Tablo 7).

Tablo 7 TS varyantlarının ortak etkileri yüksek düşük ve orta dereceli TS ekspresyon seviyeleri

Ekspresyon seviyesi	TSER genotipleri	TSdel genotipleri
Yüksek	2G3G,3C3G,3G3G	İNS/İNS
Orta	2G3G,3C3G,3G3G	İNS/DEL, DEL/DEL
	2G2G,2G3C,3C3C	İNS/İNS
Düşük	2G2G,2G3C,3C3C,3C2C,2G2C	İNS/DEL, DEL/DEL

Tüm TS varyantlarının belirtildiği gibi (Tablo 7) yüksek, orta ve düşük olarak gruplandırılmasının ardından gerçekleştirilen frekans incelemesinde de hasta ve genel toplumda dağılımda bir farklılık gözlenmemiştir ($p=148$) (Tablo 8). Her iki çalışma grubu da ele alındığında ise yüksek, orta ve düşük frekansları sırası ile %7,5, 62,4 ve 30,1 olarak gözlenmiştir.

Tablo 8 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait TSdel ve TSER gen polimorfizmlerinin ortak etkisine ait sonuçların TS ekspresyon seviyesindeki değişime etkisi

TSdel+TSER	KONTROL n(%)	HASTA n(%)
Yüksek	6 (%6)	8 (%9,3)
Orta	58 (%58)	58 (%67,4)
Düşük	36 (%36)	20 (%23,3)

n: birey sayısı; gruplararası farklılık Ki-kare testi (X^2) ile incelenmiştir.
(X^2 : 3,825 , p:0,148)

UGT1A1*28 varyantına ilişkin hasta ve genel toplum incelemesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (p=0,699) (Tablo 9). Hasta ve kontrol grubu beraber ele alındığında 76/76, 76/78 ve 78/78 genel toplum frekansı %56,2, 30 ve 13,8 olarak belirlenmiştir.

Tablo 9 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait UGT1A128 gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı

UGT1A128	KONTROL n(%)	HASTA n(%)
Genotip		
76/76	15(%50)	30(%60)
76/78	11(%36,7)	13(%26)
78/78	4(13,3)	7(%14)

n: birey sayısı; gruplararası farklılık Ki-kare testi (X^2) ile incelenmiştir.
(X^2 : 1,051 , p:0,591)

UGT1A1 -3156G>A değişimi hasta ve genel toplum frekans incelemesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (p=0,255) (Tablo 10). Genel toplum bazında bakıldığında çalışılan 186 kişi arasında GG, GA ve AA frekansları sırası ile %57, 55 ve 7 olarak belirlenmiştir.

Tablo 10 Kolon kanserli hastalar ve kontrollere ait UGT1A1 -3156G>A gen polimorfizm sonuçlarının genotip frekanslarına göre dağılımı

UGT3156	KONTROL	HASTA
	n(%)	n(%)
Genotip		
GG	32 (%42,7)	25 (%56,8)
GA	39 (%52)	16 (36,4)
AA	4 (%5,3)	3 (%6,8)

n: birey sayısı; gruplararası farklılık Ki-kare testi (χ^2) ile incelenmiştir.
(χ^2 :2,730 , p:0,255)

TSER sıralı tekrarları genotipleri ile hastaların aldıkları tedavilere karşı gösterdikleri toksisiteler karşılaştırılmıştır (Tablo 11). Tabloda da görüldüğü üzere düşük doz 5FU içeren FUFA rejimi kullanıldığında hastaların hiçbirinde herhangi bir toksisite görülmemiştir. Bu durumda düşük doz 5FU tedavilerinin hasta genotiplerinden bağımsız olarak toksisiteyi getirmediği söylenebilir. Diğer rejimlere bakıldığında ise değişkenlik göstermekle beraber istatistiksel olarak anlamlı belirgin bir fark görülmemektedir.

Tablo 11 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve TSER Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı

Kemoterapötik İlaçlar	Toksikite	TSER			p değeri
		3R/3R n(%)	3R/2R n(%)	2R/2R n(%)	
Folfox	Var	12(%80)	13(%81,2)	4(%66,7)	0,746
	Yok	3(%20)	3(%18,8)	2(%33,3)	
Fufa (Mayo)	Var	0	0	0	
	Yok	7(%100)	9(%100)	6(%100)	
Folfiri Saltz	Var	8(%40)	13(56,5)	3(%42,9)	0,534
	Yok	12(%60)	10(%43,5)	4(%57,1)	
Folfiri	Var	7(%58,3)	10(%62,5)	2(%40)	0,672
	Yok	5(%41,7)	6(%37,5)	3(%60)	
Saltz	Var	0	3(%37,5)	1(%33,3)	0,157
	Yok	8(%100)	5(%62,5)	2(%66,7)	
Campto Cetuximab	Var	3(%100)	2(%66,7)	2(%100)	0,386
	Yok	0	1(%33,3)	0	
Oral 5 Floraursil	Var	1(%20)	0	1(%33,3)	0,364
	Yok	4(%80)	6(%100)	2(%66,7)	

Aynı şekilde farklı rejimler kullanıldığında TSER G>C değişimi ve toksikite ile ilişkisi incelendiğinde istatistiksel bir anlamlılığa rastlanmamaktadır (Tablo 12).

Tablo 12 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapötik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve TSER GC Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı

Kemoterapötik İlaçlar	Toksisite	TSER GC						p. değeri
		3C/3C n(%)	3G/3C n(%)	3G/3G n(%)	3G/2G n(%)	3C/2G n(%)	2G/2G n(%)	
Folfox	Var	1(%100)	4(%57,1)	6(%100)	8(%100)	6(%66,7)	4(%66,7)	0,205
	Yok	0	3(%42,9)	0	0	3(%33,3)	2(%33,3)	
Fufa (Mayo)	Var	0	0	0	0	0	0	
	Yok	2(%100)	5(%100)	0	2(%100)	7(%100)	6(%100)	
Folfiri Saltz	Var	0	3(%27,3)	5(%71,4)	4(%40)	9(%69,2)	3(%42,9)	0,159
	Yok	2(%100)	8(%72,7)	2(%28,6)	6(%60)	4(%30,8)	4(%57,1)	
Folfiri	Var	3(%50)	4(%66,7)	0	3(%50)	7(%70)	2(%40)	0,782
	Yok	3(%50)	2(%33,3)	0	3(%50)	3(%30)	3(%60)	
Saltz	Var	0	0	0	1(%20)	2(%66,7)	1(%33,3)	0,291
	Yok	2(%100)	5(%100)	1(%100)	4(%80)	1(%33,6)	2(%66,7)	
Campto Cetuximab	Var	1(%100)	2(%100)	0	1(%100)	1(%50)	2(%100)	0,489
	Yok	0	0	0	0	1(%50)	0	
Oral 5 Floraursil	Var	0	1(%33,3)	0	0	0	1(%33,3)	0,539
	Yok	0	2(%66,7)	2(%100)	2(%100)	4(%100)	2(%66,7)	

TS del fenotipleri ile toksisite ilişkileri ele alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 13).

Tablo 13 TS delesyon polimorfizmi ve toksisite ilişkisi

Kemoterapotik İlaçlar	Toksisite	İTSdel			p değeri
		İns/İns (+6/+6) n(%)	İns/Del (+6/-6) n(%)	Del/Del (-6/-6) n(%)	
Folfox	Var	8(%72,7)	12(%75)	9(%90)	0,573
	Yok	3(%27,3)	4(%25)	1(%10)	
Fufa (Mayo)	Var	0	0	0	
	Yok	6(%100)	14(%100)	2(%100)	
Folfiri Saltz	Var	8(%57,1)	11(%40,7)	5(%55,6)	0,537
	Yok	6(%42,9)	16(%59,3)	4(%44,4)	
Folfiri	Var	6(%75)	9(%50)	4(%57,1)	0,492
	Yok	2(%25)	9(%50)	3(%42,9)	
Saltz	Var	2(%33,3)	1(%10)	1(%33,3)	0,460
	Yok	4(%66,7)	9(%90)	2(%66,7)	
Campto Cetuximab	Var	3(%75)	4(%100)	7(%87,5)	0,285
	Yok	1(%25)	0	1(%12,5)	
Oral 5 Floraursil	Var	1(%16,7)	1(%20)	0	0,719
	Yok	5(%83,3)	4(%80)	3(%100)	

TS fenotiplerinin ortak etkilerinin toksisite ile ilişkisi ele alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 14).

Tablo 14 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapotik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve TS Polimorfizmlerinin Ekspresyona Etkisi Arasındaki Frekans Dağılımı

Kemoterapotik İlaçlar	Toksikite	(TSER+TSdel) TS Ortak Etki			p değeri
		Yüksek n(%)	Orta n(%)	Düşük n(%)	
Folfox	Var	2(%66,7)	23(%82,1)	4(%66,7)	0,618
	Yok	1(%33,3)	5(%17,9)	2(%33,3)	
Fufa (Mayo)	Var	0	0	0	
	Yok	2(%100)	10(%100)	10(%100)	
Folfiri Saltz	Var	1(%33,3)	17(%47,2)	6(%54,5)	0,796
	Yok	2(%66,7)	19(%52,8)	5(%45,5)	
Folfiri	Var	15(%57,7)	4(%57,1)	19(%57,6)	0,652
	Yok	11(%42,3)	3(%42,9)	14(%42,4)	
Saltz	Var	1(%33,3)	1(%10,1)	2(%40)	0,317
	Yok	2(%66,7)	10(%90,9)	3(%60)	
Campto Cetuximab	Var	5(%83,3)	2(%100)	7(%87,5)	0,750
	Yok	1(%16,7)	0	1(%12,5)	
Oral 5 Floraursil	Var	0	2(%22,2)	0	0,523
	Yok	2(%100)	7(%77,8)	3(%100)	

UGT1A1 -3156 G>A polimorfizminin toksisite ile ilişkisi ele alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 15).

Tablo 15 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapotik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve UGT1A1 -3156 Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı

Kemoterapotik İlaçlar	Toksosite	UGT3156			p değeri
		GG n(%)	GA n(%)	AA n(%)	
Folfiri Saltz	Var	14(%58,3)	7(%43,8)	2(%66,7)	0,593
	Yok	10(%41,7)	9(%56,2)	1(%33,3)	
Folfiri	Var	12(%75)	5(%55,6)	2(%66,7)	0,606
	Yok	4(%25)	4(%44,4)	1(%33,3)	
Saltz	Var	2(%25)	2(%25)	0	0,849
	Yok	6(%75)	6(%75)	1(%100)	
Campto Cetuximab	Var	3(%100)	3(%75)	0	0,571
	Yok	0	1(%25)	0	
	Yok	5(%83,3)	0	1(%100)	

UGT1A1*28 polimorfizminin toksisite ile ilişkisi ele alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 16)

Tablo 16 Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapotik İlaç Kullanımına Bağlı Toksikite ve UGT1A1 *28 Gen Polimorfizmine ait Genotiplerin Arasındaki Frekans Dağılımı

Kemoterapotik İlaçlar	Toksikite	UGT1A1*28			p değeri
		76/76 n(%)	76/78 n(%)	78/78 n(%)	
Folfiri/Saltz	Var	29 (%59,2)	13 (%26,5)	7 (%14,3)	0,712
	Yok	1 (%100)	0	0	
Folfiri	Var	19 (%59,4)	7 (%21,9)	6 (%18,8)	0,364
	Yok	11 (%61,1)	6 (%33,3)	1 (%5,6)	
Saltz	Var	10 (%52,6)	7 (%36,8)	2 (%10,5)	0,382
	Yok	20 (%64,5)	6 (%19,4)	5 (%16,1)	
Campto Cetuximab	Var	5 (%62,5)	2 (%25)	1 (%12,5)	0,986
	Yok	25 (%59,5)	11 (%26,2)	6 (%14,3)	

5. TARTIŞMA

Farmakogenetiğe ilgi her geçen gün artmaktadır. Farmakogenetik testlerin tedaviye sağlayabileceği faydalar da ülkemizde hekimlerin dikkatini çekmeye başlamıştır. Kemoterapi gibi oldukça dikkatli davranılması gereken tedavilerde, kimi ilaçlarla ilgili olarak hekimler hastaların tedaviye verecekleri cevapları öngörememekteler. Bu noktada da hastanın neoplastik ajanları diğer bireylerden farklı derecede metabolize edişi aşırı toksik etki yaratması sebebiyle hastanın hayatına mal olabilmektedir. Diğer yandan hızlı metabolize etmeleri durumunda doz yetersiz olabilmekte ve tedavi etkinliği görülemeyebilmektedir. Önceden de belirtildiği üzere farmakogenetik testler ışığında hastaların ilgili ilaçları ne derece metabolize ettikleri saptanarak en etkili dozun tespit edilmesine yönelik öneriler sunulabilmektedir. Böylece tedavi sürecinde bireye özgü tedaviler, deneme yanılma yönteminin ya da tedavi belirsizliklerinin yerine geçebilecektir.

İrinotekan ve 5FU kolon kanseri tedavisinde primer olarak kullanılan ilaçlardır. Farklı doz ve diğer ilaçlarla kombinasyonları bulunmaktadır. Hastanın mevcut genel sağlık durumu, kullandığı diğer ilaçlar gibi etkiler göz önüne alınarak kombinasyonlara karar verilmektedir.

5FU, deoksiuridilik asit metilasyonunu engellemek suretiyle DNA sentezini bozan bir primidin antimetabolitidir. 5FU sitotoksik etkisini, 5 florouridin monofosfat (5-FUMP)' a iki basamaklı dönüşüm aşamasının hemen ardından göstermektedir. Ardından 5-FUMP, timidilat sentazın geri dönüşümsüz olarak inhibisyonunu sağlayan 5-florodeoksiuridin monofosfat (5-FdUMP)' a dönüştürülür. Bu durum nükleotit havuzunun dengesini bozarak dTTP eksikliğine sebep olur ve bu da hücrenin apoptoza gitmesi ile sonlanır. 5FU mekanizmasından anlaşılabilceği üzere hücrenin S-fazı olarak adlandırılan sentez aşamasında spesifik bir ilaçtır (81). Özetle, 5FU'nun etkinliği hücre içinde 5-floronükleotitlere dönüşmesi ile sonlanan biyoaktivasyonunun sonucunda normal DNA ve RNA sentezine karışarak hücreleri apoptoza itilmesi ile gösterilmektedir (83).

TS enzimi, 5-FU tarafından ciddi şekilde inhibe edildiğinden hedef enzim olarak değerlendirilmektedir. Enzim, DNA sentezi için esansiyel olan timidilat'ın yegane de novo kaynağı olan hücre içinde deoksiüridilat'ın deoksitimidilat'a dönüşümünü katalize etmekle görevlidir (150). 5FU aktif metaboliti olan 5FdUMP TS inhibisyonunu, TS'ye bağlanarak stabil bir üçlü kompleksin oluşmasına sebep olarak göstermektedir (14) (151). TS ekspresyonunda farklılıklar yaratan TS genotipleri incelendiğinde 5FU toksisitesi ve cevabı öngörülelebilmektedir (108).

TS enziminin polimorfik olduğu bilinmektedir. Genin 5' düzenleyici bölgesinde yer alan 28 bç 'lik sıralı tekrarın 3'lü yada 2'li olması gen ifadesini ciddi oranda etkilemektedir. Tekrarların 3'lü olması TS gen ekspresyonu ve aktivitesi üzerinde artırıcı bir etki ortaya koymaktadır (107). In vitro ekspresyon çalışmaları 3'lü tekrarın varlığında 2'li tekrara kıyasla 2.6 kat daha fazla TS mRNA ekspresyonu olduğunu ortaya koymuştur (105). KRK olan 52 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada da homozigot 3'lü tekrar taşıyan bireylerde homozigot 2'li tekrar taşıyan bireylere kıyasla 3.6 kat, homozigot 3'lü tekrar taşıyıcılarının ise heterozigot taşıyıcılara kıyasla 1.7 kat daha fazla daha yüksek mRNA seviyeleri görüldüğü belirtilmiştir (108).

Mandola et al 3'lü tekrarın ikinci tekrarının 12. nükleotitinde bir G>C değişimi tanımlamıştır (10). Bu baz transversiyonu USF E-kutusu konsensus elementinde kritik rezidünün değişimine sebep olarak USF-1 transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesini ve dolayısı ile transkripsiyonel aktivite artışını ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca daha sonra TS 2R varyantının her iki tekrarının da 12.nükleotitinde sitozin nükleotidine de rastlanmıştır (152). Bu varyantında benzer transkripsiyonel etkiyi ortaya koyduğu gözlenmiştir (153). Bu varyantı taşıyan bireylerin USF-1 bağlanma bölgesinin yok olması durumu göz önüne alındığında en düşük transkripsiyonel aktiviteye sahip olması beklenmektedir (154).

TS geninde yer alan bir diğer polimorfizm ise 3'UTR 1494. bç de yer alan 6bç'lik delesyondur. mRNA stabilitesini dolayısı ile proteine translasyon oranını azaltan bu varyant TS ekspresyonunu düşürmektedir. Homozigot 6bp delesyonu taşıyan hastaların homozigot 6bp insersiyon taşıyan hastalara kıyasla 3 kat daha az TS mRNA eksprese ettiği gösterilmiştir. Heterozigot bireylerin ise ortalama ekspresyon seviyeleri göstermiştir (119). Son veriler delesyon alleli ve 5FU kemoterapisine daha düşük cevap verilmesi ile ilişkilendirilmiştir.

Tüm TS varyantlarının tek başına ve ortak etkilerinin frekansları hem hasta hem kontrol gruplarında incelendiğinde diğer çalışmalarda (111) da olduğu gibi benzer bulunmuştur (TSER tekrar sayısı X^2 : 0,895 , p:0,639; TS G>C değişimi X^2 : 12,946 , p:0,073; delesyon X^2 : 0,058 , p:0,971 ve ortak etki X^2 : 3,825 , p:0,148). Bu veriler TS varyantlarının kolon kanseri gelişiminde bir etkisi olmadığını göstermektedir. Ancak TSER genotipinin 5FU toksisitesi ve etkinliği üzerinde etkili olduğu üzerine bulgular literatürde bulunmaktadır (111).

Marsh ve arkadaşlarının (155) 96 beyaz birey üzerinde gerçekleştirdiği çalışmasında 2R/2R, 2R/3R ve 3R/3R frekansları sırası ile %19, 43 ve 38, bizim çalışmamızda ise hasta grubunda sırasıyla %16.3, 46.5 ve 37.2, hasta ve kontroller beraber ele alındığında ise %15.1, 44.1 ve 40.9 olarak belirlenmiştir. Dolayısı ile Türk populasyonunun sıralı tekrar polimorfizmi açısından frekansının genel beyaz populasyonuna benzer olduğu görülmektedir.

TS G>C değişimi frekansları Kawakami ve arkadaşlarının (152) Asya populasyonu üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada 2R/2R, 2R/3R, 2R/3C, 3G/3G, 3G/3C ve 3C/3C sırası ile % 3.4, 10.7, 16.2, 20.2, 34.1 ve 14.6 olarak belirlenmiştir. Marleen ve arkadaşlarının beyaz populasyon üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada aynı sırada ile frekanslar %32, 21, 21, 10, 3 ve 10 olarak belirlenmiş ayrıca 2C/2G varyantını da %3 olarak gözlemlenmiştir. Bizim alışmamızda ise sadece hastalarda %4.7, 20.9, 26.7, 12.8, 18.6, 4, hasta ve kontrol beraber genel populasyonda % 13.4, 13.4, 32.3,14, 19.4, 5.4 olarak belirlenmiş ve kontrol grubunda %3 (3 kişi) sıklıkla 2C/2G varyantına ve %0.5 (1 kişi) sıklıkla 3C/2C varyantına rastlanmıştır. Türk populasyonunda genel beyaz ırka kıyasla daha fazla 2C varyantı varlığı dikkat çekmektedir.

TSdel frekansları, Ulrich ve arkadaşlarının (12) beyaz populasyonda gerçekleştirdiği çalışmada ins/ins, ins/del ve del/del frekansları sırasıyla % 48,44 ve 7, bizim çalışmamızda ise hastalarda % 37.2, 46.5 ve 16.3 ve hasta ve kontrollerde beraber %29.6, 50.3 ve 20.4 olarak belirlenmiştir. Frekans farklılıkları ırklara yada örnek sayısına bağlı olarak değişkenlik göstermiş olabilir.

TS varyantlarının tamamının ortak etkileri göz önüne alındığında yüksek, ortalama ve düşük TS ekspresyonu beklenen bireyler sırasıyla % 7.5, 62.4 ve 30.1 olarak belirlenmiştir.

Toksisite ve genotip karşılaştırması yapıldığında muhtemelen toksisite görmüş ve görmemiş hastaların yetersiz sayıda olması nedeni ile anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır. Kombine etkiye bakıldığında düşük doz 5FU içeren FUFU rejiminde hiçbir hastada toksiste görülmemiştir. Ancak daha yüksek dozda 5FU içeren FOLFOX rejiminde en yüksek toksisite düşük TS mRNA seviyelerine sahip grupta beklenirken, ortalama TS mRNA seviyeleri beklenen grupta görülmüştür. İrinotekan ve 5FU'nun beraber yer aldığı FOLFIRI ve SALTZ rejimlerini beraber ele aldığımızda ise orta ve düşük seviyede mRNA beklenen grupta benzer oranlarda toksisiteye rastlanmıştır. Bu durum beklenenden çok da uzak bir sonuç değildir.

TSER sıralı tekrarlarında da tüm rejimler için ekspresyon seviyelerinin ortalama olduğu grupta toksisite en fazla oranda görülmüştür. TSER G>C değişimi ve FOLFOX rejimine baktığımızda, 3C/3C, 3G/G ve 3G/2G genotiplerini taşıyan bireylerin tamamının toksisite görmüş olması dikkat çekmektedir. 3C/3C genotipinin 2G/2G gibi davranması beklenirken 2G/2G genotipi taşıyan bireylerin %66'sı toksisite görmüştür. TSdel varyantlarına geldiğimizde ise FOLFOX rejiminde del/del genotipini taşıyan bireylerin %90'ı toksisite görmüştür. Diğerleri açısından bu ins/ins için %72, ins/del için %75 oranındadır. Homozigot delesyon taşıyan bireylerde toksisitenin yüksek olması beklenen bir durumdur.

Varyantların ayrı ayrı ve ortak etkilerinin toksisite ilişkisi göz önüne alındığında ortaya çıkan farklılık bu varyantların toksisite oluşması üzerine tek başlarına değerlendirilmesinin sağlıklı olmadığını ve ayrıca elimizdeki farklı profillerdeki hastaların sayısının çok az olmasından dolayı sağlıklı istatistik analiz yapılamadığını göstermektedir.

İrinotekan birçok farklı solid tümör tipi için kullanılan bir neoplastik ajandır (156). İrinotekan, karboksilesterazlar tarafından aktif metaboliti olan SN-38'e dönüştürülen bir ön-ilaçtır. Antitümöral etkinliğini bir topoizomerez I inhibitörü olarak göstermektedir (122). Endojen substratı bilirubin olan (139) hepatik UDP- glukuronosiltransferaz 1A1 (UGT1A1) aktif form olan SN-38'i daha polar bir form olan SN-38 glukuronid'e dönüştürüp inaktif hale getirerek safra ve idrar ile atılır hale getirmektedir (157). Doz kısıtlayıcı toksisitesi yüksek oranda aktif metabolit formasyonu ile ilişkilendirilen 3. ve 4. seviye ishal ve nötropeni şeklinde ortaya çıkmaktadır (157).

UGT1A1 ekspresyonu çok değişken olduğundan in vitro çalışmalarda SN-38 glukuronidasyonu seviyelerinde bireyler arasında 17 ila 52 kat farklılık gösterebildiğini göstermiştir (132) (158) (159). İrinotekan cevabının da glukuronidasyon seviyeleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Homozigot UGT1A1 *28 allel taşıyıcılarında UGT1A1 aktivitesinde %70'e varan bir azalma gözlenmiştir (160). 2000 yılında irinotekan ile tedavi edilmiş 118 ileri seviye KRK hastası üzerindeki ilk retrospektif çalışma yayımlanmıştır. Bu hastalardan 26'sı ciddi yan etkiler görmüştür. Tüm hastaların UGT1A1*28 profillendirilmesi gerçekleştirilmiş ve %15'te homozigot %31'inde heterozigot toksisite görmemiş grupta ise sırasıyla %3 ve %11 oranında UGT1A1*28 varyantına rastlanmıştır. Bu veriler, UGT1A1*28 allelinin toksisite için ciddi bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (135). Ardından birçok farklı çalışma da, UGT1 geninin değişmiş irinotekan metabolizması ile ilişkili olduğu ve seviye 3-4 nötropeni ile ishalin oluşmasında etkili olduğu desteklenmiştir (161) (14) (162). UGT1A1*28 en sık Afrika populasyonunda (%45) ve en az da Asya populasyonlarında (%7-17) görülmektedir. Beyazlarda sıklılığı ise %22-39 olarak rapor edilmiştir (160) (163) (164). Bizim çalışmamızda ise 76/76, 76/78 ve 78/78 varyantlarının genel toplum frekansı sırasıyla %56,2, 30 ve 13,8 olarak belirlenmiştir.

Le Yi ve arkadaşları çalışmalarında TA7/7 (UGT1A1*28) varyantını taşıyan karaciğer örneklerinde TA6/6 ve TA 6/7 varyantlarına kıyasla ciddi oranda düşük UGT1A1 mRNA seviyeleri tespit etmişlerdir ($p < 0.01$). -3156 A/A taşıyan karaciğer örneklerinde de -3156 G/G ve -3156 G/A varyantlarına kıyasla aynı şekilde ciddi oranda düşük UGT1A1 mRNA

seviyeleri tespit etmişlerdir ($p = 0.05$). Buna ek olarak ortak etkilerini incelediklerinde ise sadece 7/7 ve A/A kombinasyonunda anlamlı bir mRNA düşüşü görmüşlerdir (165).

Bizim çalışmamızda -3156 varyantına ait GG, GA ve AA genotipleri sırasıyla kadınlarda % 41.9, 41.9 ve 16.1 ve erkeklerde ise %34.5, 49.1 ve 16.4 oranlarında görülmüştür. UGT1A1 seviyelerinde ciddi düşüşe sebep olan AA varyantı incelendiğinde irinotekan ve 5FU içeren rejimlerde diğer varyantlara kıyasla daha yüksek toksisite olduğu görülmektedir. Sadece irinotekan içeren rejimlerde ise bu durumun aksine GG genotipi taşıyan bireylerde toksisite AA'ya kıyasla daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Bu durumun örnek sayısının yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda incelenen varyantların ilgili ilaçların metabolizmalarındaki önemi birçok çalışmada gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda anlamlı sonuçların elde edilememesinin, dağınık hasta ve toksisite profillerinden kaynaklı sağlıklı istatistik analizler için yeterli hasta sayısına ulaşılamamasından ileri geldiği düşünülmektedir. Çalışmamız hasta sayılarının artırılması ile devam edecektir.

KAYNAKLAR

1. **Tenesa A, Dunlop MG.** New insights into the aetiology of colorectal cancer from genome-wide association studies. *Nat Rev Genet.* 2009, 10:353–358.
2. **AK, Rustgi.** The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev.* 2007, 21:2525–2538.
3. **Lakatos PL, Lakatos L.** Risk for colorectal cancer in ulcerative colitis: changes, causes and management strategies. *World J Gastroenterol.* 2008, 14:3937–3947.
4. **DG, Haller.** Update on chemotherapy for advanced colorectal cancer. *Oncology (Huntingt).* 2001, 15:11-15.
5. **Leichman CG, Lenz HJ, Leichman L, et al.** Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J Clin Oncol.* 1997, 15:3223-3229.
6. **B. Van Triest, G.J. Peters.** Thymidylate synthase: a target for combination therapy and determination of chemotherapeutic response in colorectal cancer. *oncology.* 1999, 57:179-194.
7. **Yamachika T, Nakanishi H, Inada K-I, Tsukamoto T, Kato T, Fukushima M, Inoue M, Tatematsu M.** A new prognostic factor for colorectal carcinoma, thymidylate synthase, and its therapeutic significance. *Cancer.* 1998, 82:70–77.
8. **Pestalozzi BC, Johnston PG, Allegra CJ et al.** Prognostic importance of thymidylate synthase expression in early breast cancer. *J Clin Oncol.* 1997, 15:1923–1931.
9. **Horie N, Aiba H, Oguro K, Hojo H, Takeishi K.** Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struct Funct.* 1995, 20: 191–197.
10. **Mandola MV, Stoehlmacher J, Muller-Weeks S et al.** A novel single nucleotide polymorphism within the 5' tandem repeat polymorphism of the thymidylate synthase gene abolishes USF-1 binding and alters transcriptional activity. *Cancer Res.* 2003, 63: 2898–2904.
11. **Gusella M, Bolzonella C, Crepaldi G, Ferrazzi E, Padrini R.** A novel G/C single-nucleotide polymorphism in the double 28-bp repeat thymidylate synthase allele. *Pharmacogenomics J.* 2006, 6:421–4.
12. **Ulrich CM, Bigler J, Velicer CM, Greene EA, Farin FM, Potter JD.** Searching expressed sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in the thymidylate synthase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000, 9: 1381–1385.

13. **J-F Cote, Kirzin S et al.** UGT1A1 polymorphism can predict hematologic toxicity in patients treated with irinotecan. *Clin Cancer Res.* 2007 Jun, 1;13(11):3269-75.
14. **Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, et al.** Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Onco.* 2004, 22:1382-1388.
15. **Iyer L, Das S, Janisch L, et al.** UGT1A1*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J.* 2002, 2:43-47.
16. **Ando Y, Ueoka H, Sugiyama T, et al.** Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase and pharmacokinetics of irinotecan. *Ther Drug Monit.* 2002, 24:111-116.
17. **Rouits E, Boisdron-Celle M, Dumont A, et al.** Relevance of different UGT1A1 polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: A molecular and clinical study of 75 patients. *Clin Cancer Res.* 2004, 10:5151-5159.
18. **Marcuello E, Altes A, Menoyo A, et al.** UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2004, 91:678-682.
19. **Stewart CF, Panetta JC, O'Shaughnessy MA et al.** 1) UGT1A1 promoter genotype correlates with SN-38 pharmacokinetics, but not severe toxicity in patients receiving low-dose irinotecan. *J Clin Oncol.* 2007 Jun, 20;25(18):2594-600.
20. **Hunt SC, Wu LL, Hopkins PN, et al.** Evidence for a major gene elevating serum bilirubin concentration in Utah pedigrees. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996, 16:912-917.
21. **Hunt SC, Kronenberg F, Eckfeldt JH, et al.** Association of plasma bilirubin with coronary heart disease and segregation of bilirubin as a major gene trait: The NHLBI family heart study. *Atherosclerosis.* 2001, 154:747-754.
22. **Lin JP, Cupples LA, Wilson PW, et al.** Evidence for a gene influencing serum bilirubin on chromosome 2q telomere: A genomewide scan in the Framingham study. *Am J Hum Genet.* 2003, 72:1029-1034.
23. Oxford Text book of Medicine fifth edition 15.1 structure and function of the gut.
24. **J A Bridgewater, S P Pereira.** 15.16 Cancers of the gastrointestinal tract. [yazan] Timothy M Cox, John D Firth David A Warrell. *Oxford Textbook of Medicine.* s.l. : Oxford, 5th edition.
25. **Korinek V, Barker N, Morin PJ, et al.** *Science.* 1997, 275:1784-1787.
26. <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>.
27. **McMurrick P, Dorien S, Shapiro J.** Bowel cancer - guide for the GP. *Aust Fam Physician.* 2006 Apr, 35(4):192-7.

28. **W, Willett.** The search for the causes of breast and colon cancer. *Nature*. 1989, 338:389–94.
29. **Tomatis L, editor.** Cancer: causes, occurrence and control. *IARC Sci Publ No. 100*. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. 1990.
30. **Haenszel W, Kurihara M.** Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J Natl Cancer Inst*. 1968, 40:43–68.
31. **Doll R, Peto R.** The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst*. 1981, 66:1191–308.
32. **N, Nelson.** Is chemoprevention overrated or under-funded? [news]. *J Natl Cancer Inst*. 1996, 88:947–9.
33. **Potter JD, Slattery ML et al.** Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiol Rev*. 1993, 15:499-545.
34. **Howe GR, Benito E, Castelleto R et al.** Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case–control studies. *J Natl Cancer Inst*. 1992, 84:1887–96.
35. **Pietinen P, Malila N et al.** Diet and risk of colorectal cancer in a cohort of Finnish men. *Cancer Causes Control*. 1999, 10:387–96.
36. **Steinmetz KA, Kushi LH et al.** Vegetables, fruit, and colon cancer in the Iowa Women’s Health Study. *Am J Epidemiol*. 1994, 139:1–15.
37. **Fuchs CS, Giovannucci EL.** Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med*. 1999, 340:169–76.
38. **Giovannucci E, Rimm EB et al.** Intake of fat, meat, and fiber in relation to risk of colon cancer in men. *Cancer Res*. 1994, 54:2390–7.
39. **Slavin JL, Martini MC,.** Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *Am J Clin Nutr*. 1999, 70(3 Suppl):459S–463S.
40. **Thun MJ, Calle EE et al.** Risk factors for fatal colon cancer in a large prospective study. *J Natl Cancer Inst*. 1992, 84:1491–500.
41. **Govers MJ, Gannon NJ, et al.** Wheat bran affects the site of fermentation of resistant starch and luminal indexes related to colon cancer risk: a study in pigs. *Gut*. 1999, 45:840–7.
42. **Kestell P, Zhao L.** Studies on the mechanism of cancer protection by wheat bran: effects on the absorption, metabolism and excretion of the food carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ). *Carcinogenesis*. 1999, 20:2253–60.
43. **Bruce WR, Wolever TM.** Mechanisms linking diet and colorectal cancer: the possible role of insulin resistance. *Nutr Cancer* . 2000, 37:19–26.

44. **Friedenreich CM, Orenstein MR.** Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr.* 2002, 132(11suppl):3456–64S.
45. **Colditz GA, Cannuscio CC, Frazier AL.** Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. *Cancer Causes Control.* 1997, 8:649–67.
46. **Vainio H, Bianchini F, eds.** Weight control and physical activity Lyon. *IARC Handbooks of Cancer Prevention.* s.l. : IARC Press, 2002.
47. **KC, Westerlind.** Physical activity and cancer prevention—mechanisms. *Med Sci Sports Exerc.* 2003, 35:1834–40.
48. **Quadrilatero J, Hoffman–Goetz L.** Physical activity and colon cancer. A systematic review of potential mechanisms. *J Sports Med Phys Fitness.* 2003, 43:121–38.
49. **P, Greenwald.** Cancer prevention clinical trials. *J Clin Oncol.* 2002, 20(18suppl):14–22S.
50. **Manson JE, Willett WC et al.** Body weight and mortality among women. *N Engl J Med.* 1995, 333:677–85.
51. **Murphy T, Calle E et al.** Body mass index and fatal colon cancer in a large prospective study [abstract]. *Am J Epidemiol.* 1998, 147:541.
52. **Giovannucci E, Ascherio A.** Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med.* 1995, 122:327–34.
53. **Kissebah AH, Vydellingum N et al.** Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982, 54:254–60.
54. **P, Bjorntorp.** “Portal” adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis.* 1990, 10:493–6.
55. **Krotkiewski M, Bjorntrop P et al.** Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest.* 1983, 72:1150–62.
56. **E, Giovannucci.** Insulin and colon cancer. *Cancer Causes Control.* 1995, 6:164–79.
57. **Singh P, Rubin N.** Insulinlike growth factors and binding proteins in colon cancer. *Gastroenterology.* 1993, 105:1218–37.
58. **Tran TT, Medline A.** Insulin promotion of colon tumors in rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996, 5:1013–5.
59. **Pollard M, Luckert PH.** Indomethacin treatment of rats with demethylhydrazine-induced intestinal tumors. *Cancer Treat Rep.* 1980, 64:1323-7.
60. **Idem.** Effect indomethacin on intestinal tumors induced in rats by the acetate derivative of demethylnitrosamine. *Science.* 1981, 214:558-9.
61. **Pollard M, Luckert PH et al.** The suppressive effect of piroxicam on autochthonous intestinal tumors in the rat. *Cancer Lett.* 1983, 21:57-61.

62. **Reddy BS, Nayini J et al.** Chemoprevention of colon carcinogenesis by concurrent administration of piroxicam a nonsteroidal antiinflammatory drug with D,L-diflouromethylornithine, an ornithine decarboxylase inhibitor, in diet. *Cancer Res.* 1990, 50:2562-8.
63. **Moorghen M, Ince P et al.** The effect of sulindac on colonic tumor formation in the methylhydrazine -treated mice. *Acta Histochem Suppl.* 1990, 39:195-9.
64. **Rosenberg L, Palmer JR et al.** A hypothesis nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduced the incidence of large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1991, 83:355-8.
65. —. Responce. *J Natl Cancer Inst.* 1991, 83:1183.
66. **Smith, C.A., Smith, G. et al.** Genetic polymorphisms in xenobiotic metabolism. *European Journal of Cancer.* 1994, 30, 1921-1935.
67. **Turesky, R.J.** The role of genetic polymorphisms in metabolism of carcinogenic heterocyclic aromatic amines. *Current Drug Metabolism.* 2004, 5,169-180.
68. **F. Vogel.** Moderne probleme der humangenetik. *Ergebnisse Inneren Medizin und Keinderheilkunde.* 1959, 12 52–125.
69. **A.S. Alving, P.E. Carson, C.L. Flanagan, C.E. Ickes.** Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science.* 1956, 124 484–485.
70. **F.J. Gonzalez, R.C. Skoda, S. Kimura, M. Umeno, U.M.Zanger, D.W. Nebert, et al.,** Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature.* 1988, 331 442–446.
71. **Board RE, Valle JW.** Metastatic colorectal cancer: current systemic treatment options. *Drugs.* 2007, 67: 1851–1867.
72. **Chung HY, Saltz LB.** Adjuvant therapy of colon cancer: current status and future directions. *CancerJ.* 2007, 13: 192–197.
73. **ES, Vesell.** Advances in pharmacogenetics and pharmacogenomics. *journal of Clinical Pharmacology.* 2000, 40, 930–938.
74. —. Genetic and environmental factors causing variation in drug response. *Mutation Research.* 1991, 47, 241–257.
75. —. Pharmacogenetic perspectives gain from twin and family studies. *Pharmacology and Therapeutics.* 1999, 41, 535–552.
76. **M-AGI, Cancer.** Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration Schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol.* 1998, 16: 3537–41.
77. **Pinedo HM, Peters GF.** Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol.* 1988, 6: 1653–1664.

78. **Scott J, Weir D.** Folate/vitamin B12 inter-relationship. *Essays Biochem.* 1994, 28: 63–72.
79. **ABP, van Kuilenburg.** Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *Eur J Cancer* . 2004, 40: 939–950.
80. **Wurzer JC, Tallarida RJ, Sirover MA.** New mechanism of action of the cancer chemotherapeutic agent 5-fluorouracil in human cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994, 269:39–43.
81. **Sobrero AF, Aschele C, Bertino JR.** Fluorouracil in colorectal cancer: a tale of two drugs. Implications for biochemical modulation. *J Clin Oncol.* 1997, 15:368-81.
82. **Lu Z, Zhang R, Diasio RB.** Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver: population characteristics, newly identified deficient patients, and clinical implication in 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer Res* . 1993, 53:5433-8.
83. **Heggie GD, Sommadossi JP et al.** Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine, and bile. *Cancer Res.* 1987, 47:2203-6.
84. **Fleming RA, Milano G, Thyss A, et al.** Correlation between dihydropyrimidine dehydrogenase activity in peripheral mononuclear cells and systemic clearance of fluorouracil in cancer patients. *Cancer Res.* 1992, 52:2899-902.
85. **Takimoto CH, Lu Z-H, Zhang R et al.** 1) Severe neurotoxicity following 5-fluorouracil-based chemotherapy in a patient with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Clinical Cancer Research.* 1996, 2:477–481.
86. **Lu Z-H, Zhang R, Diasio RB.** Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver :population characteristics, newly identified deficiency patients and clinical implication in 5-fluorouracil chemotherapy. . *Cancer Research.* 1993, 53:5433-5438.
87. **Mikano G, Etienne MC, Pierrefite V et al.** Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and fluorouracil- related toxicity. *British Journal of Cancer.* 1999, 79:627–630.
88. **CJ, Allegra.** Dihydropyrimidine dehydrogenase activity :prognostic partner of 5-fluorouracil? *Clinical Cancer Research.* 1999, 5:1947–1949.
89. **Innocenti F, Iyer L, Ratain MJ et al.** Pharmacogenetics: a tool for individualizing antineoplastic therapy. *Clinical Pharmacokinetics.* 2000, 39:315–325.
90. **Milano G, McLeod HL.** Can dihydropyrimidine dehydrogenase impact 5-fluorouracil-based treatment? *European Journal of Cancer.* 2000, 36:37–42.
91. **Eriksson S, Arner E et al.** Properties and levels of deoxy-nucleoside kinases in normal and tumor cells: Implications for chemotherapy. *Adv Enzyme Regul.* 1994, 34:13–25.

92. **WL, Washtein.** Increased levels of thymidylate synthetase in cells exposed to 5-fluorouracil. *Mol Pharmacol.* 1984, 25:171–177.
93. **Spears SP, Gustavsson BG et al.** Thymidylate synthase inhibition in malignant tumors and normal liver of patients given intravenous 5-fluorouracil. *Cancer Res .* 1984, 44:4144–4150.
94. **Johnston PG, Drake JC et al.** Immunological quantitation of thymidylate synthase using the monoclonal antibody TS 106 in 5-fluorouracil-sensitive and -resistant human cancer cell lines. *Cancer Res.* 1992, 52: 4306–4312.
95. **Johnston PG, Lenz HJ et al.** Thymidylate synthase gene and protein expression correlate and are associated with response to 5-fluorouracil in human colorectal and gastric tumors. *Cancer Res .* 1995, 55: 1407–1412.
96. **Lenz HJ, Leichman CG et al.** Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J Clin Oncol.* 1996, 14: 176–182.
97. **Aschele C, Debernardis D et al.** Immunohistochemical quantitation of thymidylate synthase expression in colorectal cancer metastases predicts for clinical outcome to fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1999, 17: 1760–1770.
98. **Johnston PG, Fisher ER et al.** The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol .* 1994, 12: 2640–2647.
99. **Kornmann M, Link KH et al.** Thymidylate synthase is a predictor for response and resistance in hepatic artery infusion chemotherapy. *Cancer Lett.* 1997, 118: 29–35.
100. **Chu E, Voeller D, Koeller DM, et al.** Identification of an RNA binding site for human thymidylate synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993, 90:517-521.
101. **Chu E, Cogliati T, Copur SM, et al.** Identification of in vivo target RNA sequences bound by thymidylate synthase. *Nucleic Acids Res .* 1996, 24:3222-3228.
102. **LF, Johnson.** Posttranscriptional regulation of thymidylate synthase gene expression. *J Cell Biochem.* 1994, 54:387-392.
103. **Kaneda S, Takeishi K, Ayusawa D, et al.** Role in translation of a triple tandemly repeated sequence in the 5'-untranslated region of human thymidylate synthase mRNA. *Nucleic Acids Res.* 1987, 15:1259-1270.
104. **Kaneda S, Horie N, Takeishi K, et al.** Regulatory sequences clustered at the 5' end of the first intron of the human thymidylate synthase gene function in cooperation with the promoter region. *Somat Cell Mol Genet.* 1992, 18:409-415.

105. **Kawakami K, Salonga D, Omura K, et al.** Effects of polymorphic tandem repeat sequence on the in vitro translation of messenger RNA. *Proc Am Assoc Cancer Res.* 1999, 40:436-437.
106. **Kawakami K, Omura K, Kanehira E, et al.** Polymorphic tandem repeats in the thymidylate synthase gene is associated with its protein expression in human gastrointestinal cancers. *Anticancer Res.* 1999, 19:3249-3252.
107. —. Polymorphic tandem repeats in the thymidylate synthase gene is associated with its protein expression in human gastrointestinal cancers. *Anticancer Res.* 1999, 19:3249-3252.
108. **Pullarkat S, Stoehlmacher J, Ghaderi V, et al.** Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-U chemotherapy. *Pharmacogenomics J.* 2001, 1:65-70.
109. **Takeishi K, Kaneda S, Ayusawa D, et al.** Human thymidylate synthase gene: isolation of phage clones which cover a functionally active gene and structural analysis of the region upstream from the translation initiation codon. *J Biochem (Tokyo).* 1989, 106:575.
110. **Kaneda S, Nalbantoglu J, Takeishi K, et al.** Structural and functional analysis of the human thymidylate synthase gene. *J Biol Chem.* 1990, 265:20277-20284.
111. **Marsh S, McKay JA, Cassidy J, et al.** Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region in colorectal cancer. *Int J Oncol.* 2001, 19:383-386.
112. **Luo HR, Lu XM, Yao YG et al.** Length polymorphism of thymidylate synthase regulatory region in Chinese populations and evolution of the novel alleles. *Biochem Genet.* 2002, 40: 41–51.
113. **Marsh S, Collie-Duguid ES, Li T et al.** Ethnic variation in the thymidylate synthase enhancer region polymorphism among Caucasian and Asian populations. *Genomics.* 1999, 58: 310–312.
114. **Marsh S, Ameyaw MM, Githang'a J et al.** Novel thymidylate synthase enhancer region alleles in African populations. *Hum Mutat.* 2000, 16: 528.
115. **Pullarkat S-T, Ingles S, Marsh S, Xiong YP, Habashy M, Lenz H-J.** Analysis on thymidylate synthase gene polymorphisms in the Latino population (Abstract). *Proc Am Assoc Cancer Res.* 1999, 40: 468.
116. **Ferre-D'Amare, A. R., Pognonec, P., Roeder, R. G., and Burley, S. K.** Structure and function of the b/HLH/Z domain of USF. *EMBO J.* 1994, 13: 180–189.
117. **Morganti M, Ciantelli M, Giglioni B, et al.** Relationships between promoter polymorphisms in the thymidylate synthase gene and mRNA levels in colorectal cancers. *Eur J Cancer.* 2005, 41:2176–83.

118. **Marcuello E, Altes A, del Rio E et al.** Single nucleotide polymorphism in the 50 tandem repeat sequences of thymidylate synthase gene predicts for response to fluorouracil-based chemotherapy in advanced colorectal cancer patients. *Int J Cancer* . 2004, 112:733.
119. **Lenz H-J, Zhang W, Zahedy S et al.** A 6 base-pair deletion in the 3' UTR of the thymidylate synthase (TS) gene predicts TS mRNA expression in colorectal tumors. A possible candidate gene for colorectal cancer risk (Abstract). *Proc Am Assoc Cancer Res*. 2002, 43: 660.
120. **McLeod H, Sargent D, Marsh S et al.** Pharmacogenetic analysis of systemic toxicity and response after 5-fluorouracil (5FU)/CPT-11, 5FU/oxaliplatin (oxal), or CPT-11/oxal therapy for advanced colorectal cancer (Abstract). *Proc Am Assoc Clin Oncol*. 2003, 22: 252.
121. **GG, Chabot.** Clinical pharmacokinetics of irinotecan. *Clin Pharmacokinet*. 1997, 33:245-59.
122. **Kawato Y, Aonuma M, Hirota Y, Kuga H, Sato K.** Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. *Cancer Res*. 1991, 51:4187-91.
123. **Sanghani SP, Quinney SK, Fredenburg TB, et al.** Hydrolysis of irinotecan and its oxidatively metabolized 7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin and 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-amino]-carbonyloxycamptothecin, by human carboxylesterases CES1A1, CES2 and a newly expressed carbonyloxyl. *Drug Meta Dispos*. 2004, 32:505-11.
124. **Takasuna K, Hagiwara T, Hirohashi M, et al.** Involvement of h-glucuronidase in intestinal microflora in the intestinal toxicity of the antitumor camptothecin derivative irinotecan hydrochloride (CPT-11) in rats. *Cancer Res*. 1996, 56:3752-7.
125. **de Wildt SN, Kearns GL, Leeder JS, van den Anker JN.** Glucuronidation in humans. Pharmacogenetic and developmental aspects. *Clin Pharmacokinet*. 1999, 36: 439-52.
126. Camptosar product label Europe. 2007.
127. **J.M. Hoskins, R.M. Goldberg, P. Qu, J.G. Ibrahim, H.L. McLeod.** UGT1A1*28 genotype and irinotecan-induced neutropenia: dose matters. *J Natl Cancer Inst*. 2007, 99:1290-1295 .
128. Camptosar product label USA;. 2007.
129. **J.K. Ritter, M.T. Yeatman, P. Ferreira, I.S. Owens.** Identification of a genetic alteration in the code for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in the UGT1 gene complex of a Crigler-Najjar type I patient. *J. Clin. Invest*. 90 (1992), 150-155.

130. **O. Koiwai, S. Aono, Y. Adachi, T. Kamisako, Y. Yasui, M Nishizawa, et al.** Crigler-Najjar syndrome type II is inherited both as a dominant and as a recessive trait,. *Hum. Mol. Genet.* 5 (1996) 645–647.
131. **R. Meech, P.I. Mackenzie.** Structure and function of urinine diphosphate glucuronosyltransferases. *Clinical and experimental pharmacology and physiology.* 1997, 24, 907-915.
132. **Iyer L, King CD, Whittington PF et al.** Genetic predisposition to the metabolism of irinotecan (CPT-11): Role of uridine diphosphate glucuronosyltransferase isoform 1A1 in the glucuronidation of its active metabolite (SN-38) in human liver microsomes. *J Clint Invest.* 1998, 101:847-854.
133. **Desai AA, Innocenti F, Ratain MJ.** Pharmacogenomics: road to anticancer therapeutics nirvana? *Oncogene.* 2003, 22:6621-6628.
134. **Smith NF, Figg WD, Sparreboom A.** Pharmacogenetics of irinotecan metabolism and transport: an update. *Toxicol In Vitro.* 2006, 20:163-175.
135. **Ando Y, Saka H, Ando M, et al.** Polymorphisms of UDPglucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Res.* 2000, 60:6921-6926.
136. **Sugatani J, Yamakawa K, Yoshinari K, et al.** Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter ant its assosiation w,th hyperbilirubinemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002, 292 :492-7.
137. **Iyanagi T, Emi Y, Ikushiro S. B.** Chemical and molecular aspects of genetic disorders of bilirubin metabolism. *Biochem Biophys Acta .* 1998, 1407:173-8.
138. **Wasserman E, Myara A, Lokiec F, et al.** Severe CPT-11 toxicity in patients with gilbert’s syndrome: two case reports. *Ann Oncol .* 1997, 8:1049-51.
139. **Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, et al.** The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert’s syndrome. *N Engl J Med.* 1995, 333:1171-1175.
140. **Bosma PJ, Seppen J, Goldhoorn B, et al.** Bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 is the only relevant bilirubin glucuronidating isoform in man. *J Biol Chem.* 1994, 269:17960-17964.
141. **JT, Butler JE and Kadonaga.** The RNA polymerase II core promoter: a key component in the regulation of gene expression. . *Genes Dev.* 2002, 16:2583–2592.
142. **Juven-Gershon T, Hsu JY, Theisen JW, and Kadonaga JT.** The RNA polymerase II core promote the gateway to transcription. *Curr Opin Cell Biol.* 2008 , 20:253–259.

143. **Carter D, Chakalova L, Osborne CS, Dai YF, and Fraser.** Long-range chromatin regulatory interactions in vivo. . *Nat Genet.* 2002, 32:623–626.
144. **Zhu X, Ling J, Zhang L, Pi W, Wu M, and Tuan D.** A facilitated tracking and transcription mechanism of long-range enhancer function. *Nucleic Acids Res.* 2007, 35:5532–5544.
145. **Côté JF, Kirzin S, Kramar A et al.** UGT1A1 polymorphism can predict hematologic toxicity in patients treated with irinotecan. . *Clin Cancer Res.* 2007 Jun, 1;13(11):3269-75.
146. **Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, et a.** Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol.* 2004, 22:1382-1388.
147. **Sugatani J, Kojima H, Ueda A, Kakizaki S, Yoshinari K, Gong QH, Owens IS, Negishi M, and Sueyoshi T.** The phenobarbital response enhancer module in the human bilirubin UDP-glucuronosyltransferase UGT1A1 gene and regulation by the nuclear receptor CAR. *Hepatology.* 2001, 33:1232–1238.
148. **Ramírez J, Komoroski BJ, Mirkov S, Graber AY, Fackenthal DL, Schuetz EG, Das S, Ratain MJ, Innocenti F, and Strom SC.** Study of the genetic determinants of UGT1A1 inducibility by phenobarbital in cultured human hepatocytes . *Pharmacogenet Genomics.* 2006, 16:79–86.
149. **Hitre E, Budai B, Adleff V, Czeglé' di F, Horva'th Z, Gyergyay F, Lo'vey J, Kova'cs T, Orosz Z, La'ng I, Ka'sler M, Kralovanszky J.** Influence of thymidylate synthase gene polymorphisms on the survival of colorectal cancer patients receiving adjuvant 5-fluorouracil. *Pharmacogenet Genomics.* 2005, 15: 723–730.
150. **Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, et al.** Fluorinated pyrimidines: a new class of tumor inhibitory compounds. *Nature.* 1957, 179:663-6.
151. **Saif MW, Syrigos K, Mattison LK, et al.** Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency (DPD) in GI malignancies: Experience of 4-years. *Pak J Med Sci Q.* 2007, 23:832-9.
152. **Kawakami K, Watanabe G.** Identification and functional analysis of single nucleotide polymorphism in the tandem repeat sequence of thymidylate synthase gene. *Cancer Res.* 2003, 63: 6004–6007.
153. **Graziano F, Kawakami K, Watanabe G, Ruzzo A, Humar B, Santini D et al.** Association of thymidylate synthase polymorphism with gastric cancer susceptibility. *Int J Cancer.* 2004, 112: 1010–1011.

154. **Gusella M, Bolzonella C, Crepaldi G, Ferrazzi E, Padrini R.** A novel G/C single-nucleotide polymorphism in the double 28-bp repeat thymidylate synthase allele. *Pharmacogenomics J.* 2006 Nov-Dec, 6(6):421-4. Epub 2006 Jul 25.
155. **Marsh S, Collie-Duguid ESR, Li T, Liu X and McLeod HL.** Ethnic variation in the thymidylate synthase enhancer region polymorphism among Caucasian and Asian populations. *Genomics.* 1999, 58: 310–312.
156. **P. Rougier, E. Van Cutsem, E. Bajetta, N. Niederle, K. Possinger, R. Labianca, et al.** Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet.* 352 (1998), 1407–1412.
157. **E. Gupta, T.M. Lestingi, R. Mick, J. Ramirez, E.E. Vokes, M.J. Ratain.** Metabolic fate of irinotecan in humans: correlation of glucuronidation with diarrhea. *Cancer Res.* 54 (1994), 3723–3725.
158. **L. Iyer, D. Hall, S. Das, M.A. Mortell, J. Ramirez, S. Kim, et al.** Phenotype-genotype correlation of in vitro SN-38 (active metabolite of irinotecan) and bilirubin glucuronidation in human liver tissue with UGT1A1 promoter polymorphism. *Clin.Pharmacol. Therap.* 65 (1999) 576–582.
159. **M.B. Fisher, M.Vandenbranden, K. Findlay, B. Burchell, K.E.Thummel, S.D. Hall, et al.** Tissue distribution and interindividual variation in human UDP-glucuronosyltransferase activity: relationship between UGT1A1 promoter genotype and variability in a liver bank, . *Pharmacogenetics .* 10 (2000), 727–739.
160. **Innocenti F, Grimsley C, Das S, Ramirez J, Cheng C, Kuttub-Boulos H, et al.** Haplotype structure of the UDP-glucuronosyltransferase. *Pharmacogenetics.* 2002, 12(9): 725-33.
161. **Carlini LE, Meropol NJ, Bever J, Andria ML, Hill T, Gold P, et al.** UGT1A7 and UGT1A9 polymorphisms predict response and toxicity in colorectal cancer patients treated with capecitabine/ irinotecan. *Clin Cancer Res .* 2005, 11(3): 1226-36.
162. **Massacesi C, Terrazzino S, Marcucci F, Rocchi MB, Lippe P, Bissoni R, et al.** Uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1 promoter polymorphism predicts the risk of gastrointestinal toxicity and fatigue induced by irinotecan-based chemotherapy. . *Cancer.* 2006, 106(5): 1007-16.
163. **Innocenti F, Liu W, Chen P, Desai AA, Das S, Ratain MJ.** Haplotypes of variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A9 and 1A1 genes. . *Pharmacogenet Genomics.* 2005, 15(5): 295-301.

164. **Kaniwa N, Kurose K, Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Saito Y, Saeki M, et al.** Racial variability in haplotype frequencies of UGT1A1 and glucuronidation activity of a novel single nucleotide polymorphism 686C> T (P229L) found in an African-American. *Drug Metab Dispos.* 2005, 33(3): 458-65.
165. **Li Y, Buckley D, Wang S, Klaassen CD, Zhong XB.** Genetic polymorphisms in the TATA box and upstream phenobarbital-responsive enhancer module of the UGT1A1 promoter have combined effects on UDP-glucuronosyltransferase 1A1 transcription mediated by constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, or. *Drug Metab Dispos.* 2009 Sep, 37(9):1978-86.
166. **Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, et al.** Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science.* 1997, 275:1787–.
167. **Bienz M, Clevers H.** Linking colorectal cancer to Wnt signaling. *Cell.* 2000, 103:311–320.
168. **Nigro ND, Singh DV, Campell RL, Sook M.** Effect of dietary beef fat on intestinal tumor formation by azoxymethane in rats. *J Natl Cancer Inst.* 1975, 54: 439-42.
169. **Reddy BS, Narisawa T, Vukusich D et al.** Effect of quality and quantity of dietary fat and dimethylhydrazine in colon carcinogenesis in rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1976, 151: 237-9.
170. **Broitman SA, Vitale JJ, Vavrousek-Jacuba E, Gottlieb LS.** Polyunsaturated fat, cholesterol and large bowel tumorigenesis. *Cancer.* 1977, 40: 2455-63.
171. **Michels KB, Giovannucci E et al.** Prospective study on fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000, 92:1740–52.
- 172.
173. **Kawakami K, Watanabe G.** Identification and functional analysis of single nucleotide polymorphism in the tandem repeat sequence of thymidylate synthase gene. *Cancer Res.* 2003, 63:6004–7.
174. **Iyanagi T, Emi Y, Ikushiro S, BBosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, et al.** The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med.* 1995, 333:1171-1175.
175. **Sobrero AF, Aschele C, Bertino JR.** Fluorouracil in colorectal cancer: a tale of two drugs. Implications for biochemical modulation. *J Clin Oncol.* 1997, 15:368-81.
176. **PV, Danenberg.** Thymidylate synthase - a target enzyme in cancer chemotherapy. *Biochim Biophys Acta.* 1977, 473:73-92.

HAM VERİLER

Crosstab

			TSER			Total
			3R/3R	3R/2R	2R/2R	
Grup	Kontrol	Count	44	42	14	100
		% within Grup	44,0%	42,0%	14,0%	100,0%
		% within TSER	57,9%	51,2%	50,0%	53,8%
		% of Total	23,7%	22,6%	7,5%	53,8%
Hasta	Hasta	Count	32	40	14	86
		% within Grup	37,2%	46,5%	16,3%	100,0%
		% within TSER	42,1%	48,8%	50,0%	46,2%
		% of Total	17,2%	21,5%	7,5%	46,2%
Total		Count	76	82	28	186
		% within Grup	40,9%	44,1%	15,1%	100,0%
		% within TSER	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	40,9%	44,1%	15,1%	100,0%

Crosstab

			TSDEL			Total
			İNS+6	iNS/ DEL +6/-6	DEL/DEL -6/-6	
Grup	Kontrol	Count	29	50	21	100
		% within Grup	29,0%	50,0%	21,0%	100,0%
		% within TSDEL	52,7%	53,8%	55,3%	53,8%
		% of Total	15,6%	26,9%	11,3%	53,8%
Hasta	Hasta	Count	26	43	17	86
		% within Grup	30,2%	50,0%	19,8%	100,0%
		% within TSDEL	47,3%	46,2%	44,7%	46,2%
		% of Total	14,0%	23,1%	9,1%	46,2%
Total		Count	55	93	38	186
		% within Grup	29,6%	50,0%	20,4%	100,0%
		% within TSDEL	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	29,6%	50,0%	20,4%	100,0%

Crosstab

			TSccombined			Total
			High	intermediate	low	
Grup	Kontrol	Count	6	58	36	100
		% within Grup	6,0%	58,0%	36,0%	100,0%
		% within TSccombined	42,9%	50,0%	64,3%	53,8%
		% of Total	3,2%	31,2%	19,4%	53,8%
Hasta	Hasta	Count	8	58	20	86
		% within Grup	9,3%	67,4%	23,3%	100,0%
		% within TSccombined	57,1%	50,0%	35,7%	46,2%
		% of Total	4,3%	31,2%	10,8%	46,2%
Total	Total	Count	14	116	56	186
		% within Grup	7,5%	62,4%	30,1%	100,0%
		% within TSccombined	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	7,5%	62,4%	30,1%	100,0%

Crosstab

			UGT1A128			Total
			76/76	76/78	78/78	
Grup	Kontrol	Count	4	1	0	5
		% within Grup	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
		% within UGT1A128	14,8%	16,7%	,0%	13,5%
		% of Total	10,8%	2,7%	,0%	13,5%
Hasta	Hasta	Count	23	5	4	32
		% within Grup	71,9%	15,6%	12,5%	100,0%
		% within UGT1A128	85,2%	83,3%	100,0%	86,5%
		% of Total	62,2%	13,5%	10,8%	86,5%
Total	Total	Count	27	6	4	37
		% within Grup	73,0%	16,2%	10,8%	100,0%
		% within UGT1A128	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	73,0%	16,2%	10,8%	100,0%

Crosstab

			UGT3156			Total
			G	GA	A	
Grup	Kontrol	Count	32	39	4	75
		% within Grup	42,7%	52,0%	5,3%	100,0%
		% within UGT3156	56,1%	70,9%	57,1%	63,0%
		% of Total	26,9%	32,8%	3,4%	63,0%
Hasta		Count	25	16	3	44
		% within Grup	56,8%	36,4%	6,8%	100,0%
		% within UGT3156	43,9%	29,1%	42,9%	37,0%
		% of Total	21,0%	13,4%	2,5%	37,0%
Total		Count	57	55	7	119
		% within Grup	47,9%	46,2%	5,9%	100,0%
		% within UGT3156	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	47,9%	46,2%	5,9%	100,0%

FORMLAR

Protokol no

tarih

Genel Bilgiler

Ad Soyad:

Cinsiyet:

Yaş / Diyagnoz yaşı:

Meslek

Boy/ Kilo:

Eğitim:

Hasta hikayesi: Soygeçmiş:

Ailede bulunan tüm kanserler / Polip:

Özgeçmiş:

Kronik iltihabi bağırsak hastalığı: E H

Chron:

ülseratif colit:

Diğer hastalıklar;

Polip:

Diyabet:

Düzenli Aspirin kullanımı:

Obezite:

Anemi:

Konstitüsyonel şikayetler:

ishal

ateş

halsizlik

şişkinlik

kilo kaybı

Belirtiler/ Şikayetler

Dışkılama alışkanlığında değişiklik;

Kabız

ishal

kabız/ishal değişiklik

Dışkılama Sıklığı (önce/sonra):

Bağırsak şikayetleri çekiyormuydunuz?

Bağırsak tıkanması:

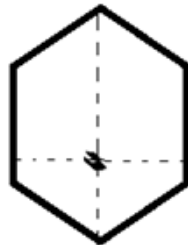
Kanama;

Sümüksü akıntı (mukus);

Tenezm (dışkılama duygusuna rağmen dışkılayamama/ Tam boşalamama duygusu):

Dışkı çapında değişiklik:

Karın ağrısı:



Diyet (porsiyon /haftalık)

Meyve tüketimi: hiç 1-2 3-4 5 ve üzeri

Sebze tüketimi: hiç 1-2 3-4 5 ve üzeri

Et tüketimi: hergün 5-6 3-4 1-2

Porsiyon:

tavuk ağırlıklı ızgara kırmızı et ağırlıklı ızgara

kızartma

kızartma haşlama

haşlama

Yağ tüketimi: kızartma yemekte katı yağ:

Sıvı yağ:

Zeytinyağı:

Tahıl / Lifli besin tüketimi: (mısır, çavdar, pirinç, buğday) hiç 1-2 3-4 5 ve üzeri

Baklagil (fasulye, bakla, nohut, mercimek, bezelye) hiç 1-2 3-4 5 ve üzeri

Kalsiyum tüketimi:

Egzersiz

Ortalama haftada kaç defa en az 20dk **güçlü yada hafif** bir egzersiz yaptınız?

Öncesi hiç 1 yada 2 3 veya daha fazla

Son 6 ay hiç 1 yada 2 3 veya daha fazla

Ortalama haftada kaç defa spor/ egzersiz amaçlı yürüyüş yaptınız?

Öncesi Hiç 1 ya da 2 3 veya daha fazla

Son 6 ay hiç 1 yada 2 3 veya daha fazla

Çevresel faktörler

Sigara: Aktif yıl: paket:

Pasif yıl: paket:

Alkol:

Kimyasallar:

Çalışmanın amacı kemoterapiye verilen cevabın anlaşılması ve yan etkilerin öngörülmesidir.

Çalışma ile ilgili bilgilendirildim. Çalışmaya gönüllü olarak katılmayı ve rutin testlerim için vermiş olduğum kan örneğimin kullanılmasını, bana hiçbir mali ve hukuki sorumluluk yüklememesi ve bilgilerimin gizli tutulması kaydıyla kabul ediyorum.

ETİK KURUL KARARI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Allison Pınar	Soyadı	Eronat
Doğ.Yeri	Richland/ Columbia/ ABD	Doğ.Tar.	18.12.1988
Uyruğu	TC/ ABD	TC Kim No	13517473618
Email	allysoneronat@gmail.com	Tel	05377965674

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	TC Haliç Üniversitesi	2009
Lise	MEV Özel İzmir Avni Akyol Anadolu Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	İyi		Toefl 92

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	81,207		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
SPSS	Orta

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):