

**T.C.  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ  
KESİN RAPORU**

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

**Proje Yürütücüsü:  
Prof. Dr. Mümtaz İşcan**

**Proje No: 20070803005HPD**

**Başlama Tarihi: 1. 08. 2007**

**Bitiş Tarihi: 1. 08. 2008**

**Rapor Tarihi: 24. 11. 2008**

**Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Ankara- 2008**

## I. PROJENİN TÜRKÇE VE İNGİLİZCE ADI VE ÖZETLERİ

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

#### ÖZET:

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

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

## THE ROLE OF METABOLIC POLYMORPHISM (CYP1A1) IN DRUG RESISTANCE IN LUNG

### SUMMARY :

Lung cancer is an increasing worldwide public health problem particularly in men. The 28 % of deaths arising from cancers are caused by lung cancer. Lung cancer has two histological types namely small cell lung carcinoma (SCLC) and non small cell lung carcinoma (NSCLC). Approximately 80% of lung carcinomas are NSCLC and response to chemotherapy is rather poor, only 30–50%, in these patients. Thus, the investigation of the reasons behind this failure of chemotherapy in these patients is very important.

There are various factors playing role in the resistance of lung cancer cells especially to platinum compounds. For example, in recent years, the association between gene polymorphisms of CYP1A1 which bioactivities polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to mutagenic and carcinogenic metabolites in cigarette smoke and lung cancer has been reported. In addition, the mutations in CYP1A1 gene have been suggested to be responsible for decreasing of the survival rates of patients with NSCLC by forming aggressive tumors by P53 inactivation and thereby altering sensitivity to chemotherapy.

However, only two studies exist in this regard and their results are contradictory. Moreover, these studies did not provide data with respect to their relation to response to therapy.

Furthermore, although another CYP1 subfamily CYP1B1 activates PAHs more efficiently than CYP1A1, no data exist for the role of this gene polymorphism in this regard. In this study, the association between CYP1A1 (Ile462Val) and CYP1B1 (Asn453Ser) polymorphisms, and response to platinum based chemotherapy and survival in 138 (126 men and 12 women) NSCLC patients who are treated with platinum based drugs have been investigated. Genetic polymorphism analyses were determined by using the PCR/RFLP method by using lymphocyte DNA. The polymorphisms of CYP1A1 (Ile462Val) and CYP1B1 (Asn453Ser) did not significantly influence the responses to platinum based chemotherapy. No significant associations were noted between the responses of genotypes to chemotherapy and age, sex, smoking status, chemotherapy treatment status, tumor stage and histology. Significant survival was not observed in patients with CYP1A1 genotypes (median survival of 18 months for wild type (Ile/Ile)

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

## II. AMAÇ VE KAPSAM

Akciğer kanseri özellikle erkeklerde dünyada görülen en sık kanser türü olup kanserden ölümlerde birinci sırada yer almaktadır. Benzer durum Türkiye’de de gözlenmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri, 1999). Akciğer kanserli hastaların üçte ikisi ameliyat edilemeyen lezyonlara sahiptirler. Bu hastalara ağır kemoterapi uygulansa dahi çoğu bir yıl içinde ölmektedir. Özellikle kanser olgularının % 80-85’ini oluşturan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir (Bai ve ark., 1995; Giovino, 2002; Rosell ve ark., 2004). Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

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

Akciğer kanserlerinin erkeklerde % 90’nının ve kadınlarda % 78’inin sigara içimine bağlı olduğu bildirilmektedir (Siemiatycki ve ark., 1995; Shopland ve ark., 1991). Türkiye’de de akciğer kanseri hastaların çoğunun sigara içtiği bildirilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri, 1999). Sigara dumanında bulunan ve karsinojenik etkiden sorumlu polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) genotoksik etki gösterebilmeleri için metabolitlerine dönüşmeleri gerekmektedir. Sitokrom P450 (CYP) enzim sistemi PAH’lar dahil çok sayıda çevresel kimyasal maddeleri toksik ve karsinojenik metabolitlerine dönüştürür. Bu enzim sisteminin en önemli bileşeni olan CYP çok sayıda izozimi olup her biri farklı gen tarafından ekspres edilmektedir (Nelson ve ark., 1996). CYP1 ailesinden CYP1A1 PAH’ları mutajenik ve karsinojenik etkili metabolitlerine dönüştürür. Örneğin PAH’lardan biri olan benzo(a)pireni (BaP) güçlü karsinojenik metaboliti olan benzopiren 7,8-dihidrodiol-9,10-epoksite (BPDE) dönüştürmede CYP1A1 önemli görev üstlenir. Nitekim sigara içenlerde artan akciğer kanser riski CYP1A1

tarafından katalizlenen B(a)P hidroksilaz aktivitesinin yüksek oranda indüklenebilirliğine ve bu aktivite ile BPDE katım ürünü arasındaki pozitif ilişkiye bağlanmaktadır (Kellerman ve ark., 1973; Bartsch ve ark., 1992; Bartsch ve ark., 1995). CYP1A1 'nin yanısıra diğer CYP'lerden 1B1'in PAH'ların aktivasyonundan önemli derecede sorumlu oldukları belirlenmiştir (Einolf ve ark., 1997; Kim ve ark., 1998; Luch ve ark., 1998). Bu CYP'lerin polimorfik regülasyon altında oldukları bilinmektedir.

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

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

Son yıllarda küçük hücreli dışı akciğer kanserinde CYP1A1 Msp1 mutasyonunun kanser riskini arttırdığı ve hastaların sağ kalım süresini azalttığı bildirilmektedir (Goto ve

ark., 1996). İlaveten, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde CYP1A1 aktivasyonunun p53 inaktivasyonuna neden olduğu (Pryzgodzki ve ark.'ları, 1998) ve koruyucu p53 gen ekspresyonu azalması ile düşük sağ kalım süresinde anlamlı bir ilişki olduğu da bildirilmektedir (Goto ve ark., 1996). Bu da daha agresiv tümörlerin oluşumuna neden olarak kemoterapiye yanıtı direnci artırarak sonuçta daha kısa sağ kalım süresine neden olmasına bağlanmaktadır.

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

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



### **III. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **III.1. Hastalar**

Çalışmada Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma hastanesinde primer küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanısı, görüntüleme yöntemleri ve patolojik olmak üzere iki şekilde, konmuş olan ve platin bazlı kemoterapi alan, 126 erkek ve 12 kadın olmak üzere toplam 138 hastadan alınan kan örnekleri ile çalışıldı. Erkeklerin yaş ortalaması  $56 \pm 9$  (ortalama  $\pm$  SH, aralık 34-75), kadınların yaş ortalaması  $58 \pm 8$  (ortalama  $\pm$  SH, aralık 44-69) ve çalışmaya alınan bütün hastaların yaş ortalaması  $56 \pm 8$  (ortalama  $\pm$  SH, aralık 35-75)'dir. Bütün hastalar Şubat 2002 ve Kasım 2005 yılları arasında takip edilmiştir. Hastaların onayı alındıktan sonra, dirsek ön yüzü toplardamarlarından bir seferde 7 ml'lik kan örneği araştırma grubumuz içinde bulunan doktor gözetiminde alınmıştır. Sonuçların ayrıntılı bir biçimde değerlendirilebilmesi için her bir bireye ait beslenme, sigara ve kahve alışkanlıkları, geçirdiği hastalıklar ve gerekli diğer bilgileri içeren bilgilendirilmiş gönüllü onay formları ve anket formları doldurulmuştur. Bu işlemlerden sonra, örnekler buz içinde laboratuvarımıza getirilmiştir. Çalışma için gerekli etik kurul kararı da örneklerin alındığı Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Hastanesi etik kurulunda alınmıştır.

#### **III.2. DNA izolasyonu**

Kan örneklerinin metabolik genotipleme için lenfositlerden Miller ve ark.'nın (1988) yöntemine göre yapılmış olan kit kullanılarak hazırlanan DNA, kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}$  C'de saklanmıştır.

#### **III.3. CYP1 mutasyonlarının saptanması**

Her bir polimorfik bölgenin PCR yöntemi ile çoğaltılması için spesifik primerler ve RFLP için spesifik kesim enzimleri kullanılmıştır. CYP1 ile 462Val mutasyonu Cascorbi ve

ark' larının (1996) ve CYP1B1Asn453Ser mutasyonu ise Bailey ve ark' larının (1998) PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak saptanmıştır.

### III.3.1. CYP1A1 İle462Val mutasyonunun saptanması

50 µl toplam PCR reaksiyonu karışımı 24 µl PCR master mix (0,05 U/µl Taq DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, 4mM MgCl<sub>2</sub> , 0,4 mM dNTP karışımı), 24µl nukleaz içermeyen su, 100 pmol CYP1B1 primerleri sense-ileri (5'-GTG GTT TTT GTC AAC CAG TGG-3') ve antisense-geri (5'-GCC CAC TGA AAA AAT CAT CAC TCT GCT GGT CAG GTG C-3'), 150ng DNA içermektedir.

PCR koşulları, 30 PCR döngüsü erime (95<sup>0</sup>C 60 saniye), yapışma (62<sup>0</sup>C 60 saniye) sentez

(72<sup>0</sup>C 60 saniye)'dir. CYP1A1 İle462Val genine ait PCR ürünü % 2' lik agaroz jelde elektroforez edildikten sonra 204 bç'de bant izlendikten sonra RFLP uygulamasına geçildi.

Kodon 462'deki İle-Val değişimi PCR reaksiyonunu takiben 65<sup>0</sup>C' de gece boyu 2U BsrDI enzimi ile kesilerek belirlenmiştir. Enzimle kesim işleminden sonra yapılan elektroforetik analiz sonucunda 55 ve 149 bç' lik iki bant İle/İle (yabanıl tip) genotipini, 204 ve 149 bç' lik iki bant İle/ Val (heterozigot) genotipini, 204 bç' lik tek bant ise Val/Val (homozigot mutant) genotipi göstermektedir.

### III.3.2. CYP1B1 Asn453Ser mutasyonunun saptanması

50 µl toplam PCR reaksiyonu karışımı 24 µl PCR master mix( 0,05 U/µl Taq DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, 4mM MgCl<sub>2</sub> , 0,4 mM dNTP karışımı), 24 µl nukleaz içermeyen su, 100 pmol CYP1B1 primerleri sense-ileri (5'-GTG GTT TTT GTC AAC CAG TGG-3') ve antisense-geri (5'-GCC CAC TGA AAA AAT CAT CAC TCT GCT GGT CAG GTG C-3')), 150ng DNA içermektedir.

PCR koşulları, 30 PCR döngüsü erime (95<sup>0</sup>C 60 saniye), yapışma (62<sup>0</sup> C 60 saniye) ve sentez (72<sup>0</sup>C 60 saniye)'dir. CYP1B1 Asn453Ser genine ait PCR ürünü % 2' lik agaroz jelde elektroforez edildikten sonra 143 bç'de bant izlendikten sonra RFLP uygulamasına

geçildi

Kodon 453'deki Asn-Ser değişimi ise PCR reaksiyonunu takiben 55<sup>0</sup>C'de gece boyu Cac8I enzimi ile kesilerek belirlenmiştir. Enzimde yapılan kesim işleminden sonra yapılan elektroforetik analiz sonucunda 143 bç'lik tek bant Asn/Asn (yabanıl tip) genotipini, 143 ve 105 bç'lik iki bant Asn/Ser (heterozigot) genotipini, 105 bç'lik tek bant ise Ser/Ser (homozigot mutant) genotipi belirlemektedir.

#### **III.4. Kemoterapi protokolleri**

Çalışmaya alınan hastalar Platin bazlı kemoterapi uygulanan 138 kişilik hasta grubu kemoterapi rejimlerine göre hasta sayısından dolayı iki gruba ayrıldı. Bu gruplardan ilki platin ve etoposid ve ikincisi platin ve diğer kemoterapik ilaçlar kullananlardır.

Hastalara verilen ilaçlar aşağıdaki dozlarda ve intravenöz olarak uygulanmıştır.

Etoposid ve sisplatin grubu:

1.gün cisplatin (80 mg/m<sup>2</sup>), etoposid (100 mg/m<sup>2</sup>) verilir. 2. ve 3. günler sadece etoposid yine aynı dozlarda verilir. (n=87)

Platin ve diğer kemoterapikler grubu:

Gemsitabin-sisplatin; 1.gün sisplatin (80 mg/m<sup>2</sup>), gemsitabin (1250 mg/m<sup>2</sup>), 8. gün gemsitabin (1250 mg/m<sup>2</sup>) verilir (n=12).Doksetaksel-sisplatin; Sisplatin (75 mg/m<sup>2</sup>) ve dosetaksel (75 mg/m<sup>2</sup>) verilir (n=7). Vinorelbin-sisplatin; 1.gün sisplatin (80 mg/m<sup>2</sup>), vinorelbin (30 mg/m<sup>2</sup>) ve 8. gün vinorelbin (30 mg/m<sup>2</sup>) verilir (n=9). Paklitaksel-karboplatin; 1.gün paklitaksel (225 mg/m<sup>2</sup>/2), karboplatin 5 AUC (Glomerüler Filtrasyon Hızı + 25 mg) ve 8. gün paklitaksel (225 mg/m<sup>2</sup>/2) verilir(13). Paklitaksel-sisplatin; 1. gün paklitaksel (225 mg/m<sup>2</sup>/2) ve 2. gün sisplatin (80 mg/m<sup>2</sup>) verilir (10).

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

#### **III.5. Kemoterapiye karşı alınan yanıtların değerlendirilmesi**

Kemoterapiye karşı alınan yanıtlarda DSÖ kriterleri (akciğer kanseri tedavi sonrası radyolojik değerlendirme) kullanılmıştır (World Health Organization, 1979). Kısaca; Tam yanıt: En az 4 hafta süreyle asıl tümör ve bütün metastaslarda tam olarak yok olma görülür. Kısmi (Parsiyel) yanıt: En az 4 hafta süreyle bütün metastaslar ve asıl tümörde % 50'den fazla azalma görülür. Stabil hastalık: Mevcut lezyonda % 25'den az büyüme, % 50'den az küçülme görülür. Progresyon: Bir veya daha fazla ölçülebilir lezyon tarafında % 25'den daha büyük bir artış veya yeni lezyon oluşumu görülür. Değerlendirmede; Yanıt verenler (YV) grubuna, Tam Yanıt ve Kısmi Yanıt veren hastalar, Yanıt vermeyenler (YM) grubuna, Stabil Hastalık ve Progresyon gözlenen hastalar alınmıştır.

### **III.6. İstatistiksel analiz**

Genotiplerin dağılımı ve aralarındaki karşılaştırmalarla kemoterapiye karşı alınan yanıtların karşılaştırılmaları ki-kare veya Fischer'in exact testi ile yapılmıştır. Sağ kalım süreleri tanı tarihinden her hasta için izlenen sürede ölüm tarihine veya son izlendiği tarihte sağ oluşlarına kadar geçen süre (ay) olarak hesaplanmıştır. CYP1A1 İle462 Val ve CYP1B1 Asn453 Ser genotipleri ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki Kaplan-Meier testi ile log rank metodu kullanılarak belirlenmiştir. Hazard oranları (Hazard ratio-HR) yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojisi için düzeltilmiş çoklu regresyon Cox proportional hazard modeli ile belirlenmiştir. Değerlendirmelerde  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Hesaplamalarda SPSS programının 11.0 sürümü kullanılmıştır.

## **IV. BULGULAR**

### **IV.1. Hasta Özellikleri**

Çalışmada yer alan KHDAK 138 hastanın hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, ilaç rejimi, sigara içme durumu ve içilen sigara miktarı gibi özelliklerine göre kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtları Çizelge IV.1.'de verilmektedir. Buna göre tedaviye karşı alınan yanıtlarda yaş, cinsiyet, hastalığın evresi, tümör histoloji, uygulanan ilaç rejimi, sigara içme durumu ve içilen sigaranın miktarı gibi özelliklerin etkisi olmadığı gösterilmiştir ( $p>0.05$ ).

**Çizelge IV.1.** Hasta Özelliklerinin Kemoterapiye Verilen Yanıt Durumuna Göre Dağılımı.

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

\* Ki- kare testi kullanılmıştır

a. Sisplatin ve etoposid

b. Sisplatin - Gemsitabin, Sisplatin - Doseetaksel, Sisplatin - Öinorelbin, Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.

#### IV.2. CYP1A1 İle462Val Genotip Bulguları

138 kişilik KHDAK'li hasta grubunda CYP1A1 İle462Val, İle/İle (yabanıl tip) genotipe sahip bireylerin sayısı 113 (% 81.9), İle/Val (heterozigot) ve Val/Val (homozigot mutant) genotipe sahip bireylerin sayısı 25 (% 18.1) olarak saptanmıştır. Bu 25 bireyden 3 tanesi Val/Val (homozigot mutant) genotipe sahiptir.

#### IV.3. CYP1B1 Asn453Ser Genotip Bulguları

138 kişilik KHDAK'li hasta grubunda CYP1B1 Asn453Ser, Asn/ Asn (yabanıl tip) genotipe sahip bireylerin sayısı 96 (% 69,4), Asn/Ser (heterozigot) ve Ser/Ser (homozigot mutant) genotipe sahip bireylerin sayısı 42 (% 30,4) olarak saptanmıştır. Bu 42 bireyden sadece 1 tanesi Ser/Ser (homozigot mutant) genotipe sahiptir. IV. 4. Hasta Özelliklerinin Genotiplere Göre Dağılımları hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre ve sigara içme durumlarına göre her bir genotipin dağılımı çizelge IV.2. ve IV.3'de gösterilmektedir. Genotiplerin bu kategorilerin alt grupları arasında dağılımında CYP1A1 için evre ve CYP1B1 için ilaç haricinde istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ). Çizelge IV.2.'de heterozigot (İle/Val) ve mutant (Val/Val) ve çizelge IV.3'de heterozigot (Asn/Ser) ve mutant (Ser/Ser) genotiplerine sahip hastalar varyant genotip adı altında birleştirilerek (hasta sayısının azlığından dolayı) aynı değerlendirme yapılmış ve bir anlamlılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Çalışmada yer alan 138 KHDAK'li hastanın 25'i varyant (İle/Val + Val/Val), 42'si varyant (Asn/Ser + Ser/Ser) genotipe sahiptir.

Çizelge IV. 2. Hasta Özelliklerinin CYP1A1 İle462Val Genotiplerine Göre Dağılımı

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

\* Ki- kare testi kullanılmıştır

<sup>a</sup>. Sisplatin ve etoposid

<sup>b</sup>. Sisplatin - Gemsitabin, Sisplatin - Dosetaksel, Sisplatin - Vinorelbin, Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.



**Çizelge IV. 3.** Hasta Özelliklerinin CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerine Göre Dağılımı

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

\* Ki- kare testi kullanılmıştır

<sup>a</sup>. Sisplatin ve etoposid

<sup>b</sup>. Sisplatin - Gemcitabin, Sisplatin - Dosetaksel, Sisplatin - Öinorelbin,  
Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.

#### IV. 5. CYP1A1 İle462ValveCYP1B1Asn453Ser Genotiplerinin Kemoterapiye Karşı

##### Verilen Yanıtlara Etkisi

Çizelge IV.4.'te CYP1A1 İle/İle, İle/Val + Val/Val ve CYP1B1 Asn/Asn, Asn/Ser+ Ser/Ser genotiplerini taşıyan hastaların kemoterapiye karşı verdikleri yanıtlar incelenmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda hastaların kemoterapiye karşı verdikleri yanıtların CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1Asn453Ser genotipleri ile ilişkili olmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). İlave ten benzeri ilişki her iki genin varyant allelini taşıyan hastalarda da kemoterapiye karşı verdikleri yanıtlar üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

**Çizelge IV.4.** CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin yanıtlarla ilişkisi.

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

#### IV. 6. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerinin Kemoterapiye

##### Karşı Verilen Yanıtlarla sağ kalım arasındaki ilişki

Çizelge IV.5 'te CYP1A1 İle/İle ve CYP1A1 İle/Val + Val/Val, CYP1B1Asn/Asn, CYP1B1 Asn/Ser + Ser/Ser genotiplerini taşıyan hastaların kemoterapiye verdikleri yanıtlarla sağ kalım süreleri görülmektedir. İstatiksel değerlendirme sonucunda hastaların genotiplerinin kemoterapiye verdikleri yanıt ile sağ kalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. ( $p>0.05$ ). Fakat CYP1B1 mutasyonları her iki grupta da sağ kalım süresini anlamlı olmasa da azaltma eğiliminde olduğu görülmektedir.

**Çizelge IV.5.** CYP1A1 ve CYP1B1 genotip yanıtlarının sağ kalım ile ilişkisi.

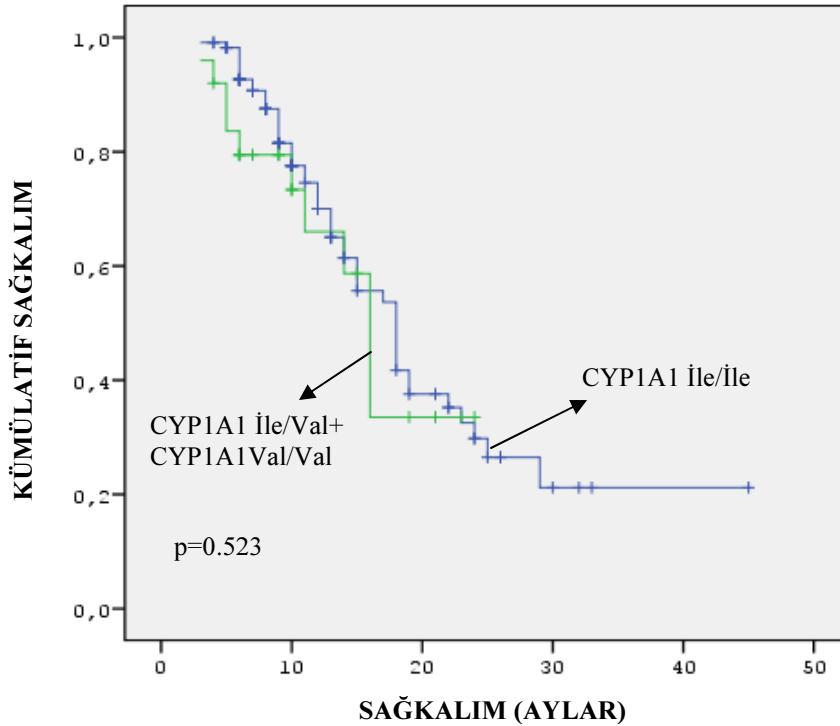
Kemoterapiye Yanıt	Genotip	Sağ kalım (ay) (ortalama± SS)	p değeri*
Yanıt veren	CYP1A1 İle/İle	17 ± 2	0.72
	CYP1A1 İle/Val+Val/Val	16 ± 7	
Yanıt vermeyen	CYP1A1 İle/İle	18 ± 3	0.52
	CYP1A1 İle/Val+Val/Val	16 ± 1	
Yanıt veren	CYP1B1 Asn/Asn	18 ± 3	0.61
	CYP1B1 Asn/Ser + Ser/Ser	13 ± 1	
Yanıt vermeyen	CYP1B1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

\* Kaplan-Meier - log rank ile hesaplanmıştır.

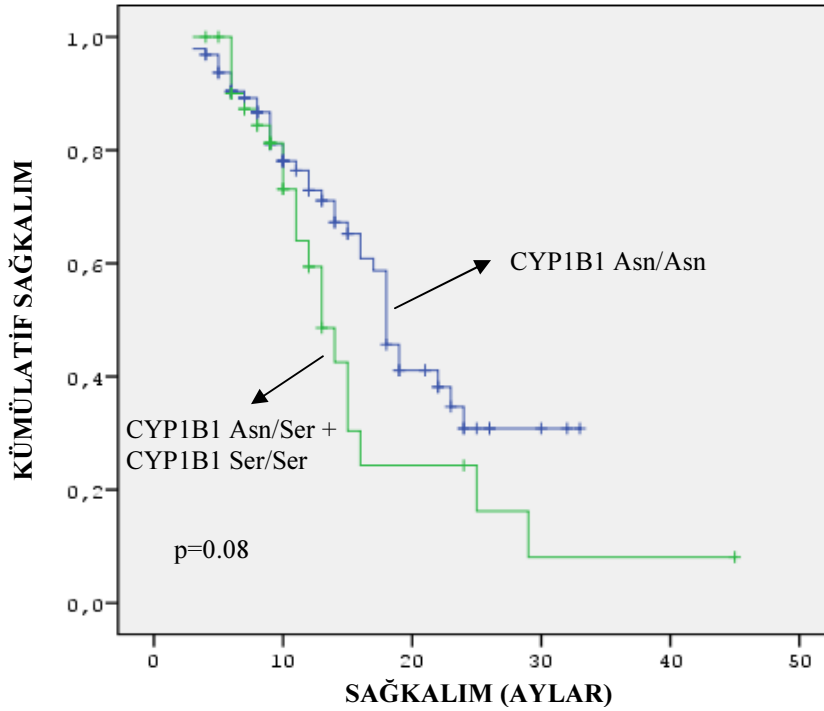
#### IV. 7. CYP1A1 İle462Val ve CYP1B1 Asn453Ser Genotiplerinin, Yanıt Verme

##### Durumunun ve İlaç Rejiminin Hastaların Sağ Kalım Sürelerine Etkisi

Çalışmada yer alan 138 hastanın sağ kalım süreleri, hastalara KHDAK tanısı konulan tarihten itibaren hesaplanmıştır. Takip süresi boyunca 138 KHDAK'li hastanın 59'u ölmüştür. CYP1A1 İle462Val, CYP1B1 Asn453Ser ve CYP1A1 + CYP1B1 genotiplerine göre sağ kalımlar Kaplan-Meier testi ile hesaplanmıştır ve genotiplerin sağ kalım sürelerine etkisi Şekil IV.1. ve IV.2.'de gösterilmiştir. Bu değerlendirmenin sonucuna göre CYP1A1 varyant (İle/Val + Val/Val) genotipin sağ kalım süresi üzerinde anlamlı etkisi olmadığı saptanmıştır (log-rank ). CYP1A1 yabancıl (İle/İle) genotipe sahip hastalar için ortalama sağ kalım süresi 18 ay, varyant (İle/Val + Val/Val) genotipe sahip hastalar için ise 16 aydır. Fakat CYP1B1 Asn453Ser, varyant genotipinin sağ kalım süresini anlamlılığa oldukça yakın verdiği saptanmıştır. (p=0,08) Bu varyant genotip sağ kalım süresini önemli sayılacak düzeyde azalttığı saptanmıştır. (18 aydan 13 aya, %28). Ayrıca CYP1A1 ve CYP1B1 genlerinin varyant alellerini birlikte içeren hastalarında sağ kalım süreleri önemli ölçüde kısalmış olduğu gözlenmiştir (18 aydan 11 aya %39). Ancak büyük olasılıkla bu genotipteki hasta sayısını az olmasına bağlı olarak (n= 6) istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır.



Şekil IV.1. KHDAK'li hastalarda CYP1A1 İle/Val + Val/Val genotiplerinin sağ kalım üzerine etkisi



**Şekil IV.1.** KHDAK'li hastalarda CYP1B1 Asn/Asn ve Asn/Ser + Ser/Ser genotiplerinin sağ kalım üzerine etkisi

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

#### **IV. 8. Genotip ve Diğer Faktörlerin Sağ Kalım Üzerine Etkisinin Hazard Oranı (HR) İle Değerlendirilmesi**

Çizelge IV.7.'de CYP1A1 ve CYP1B1 genotipleri ile ölümlerin ilişkisi çoklu regresyon analizi ile düzeltilmiş hazard oranına göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme veya yanıt durumları için düzeltme yapılarak hazard oranları (HR) hesaplanmıştır. CYP1A1 varyant (İle/Val + Val/Val) genotipine sahip hastaların yabancı (İle/İle) genotipe sahip olanlarla

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

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

**Çizelge IV. 7.** CYP1A1 ve CYP1B1 genotiplerinin sağ kalımla ilişkisi

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

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

CYP1A1 için kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlarla sağ kalım arasındaki ilişki irdelenmiş ve , hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve genotipleri için düzeltme yapılarak hazard oranı 1,50 HR(%95 GA, 0,85 - 2,68 ,  $p>0.05$ ) olarak saptanmıştır. Bu veriler yanıt ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir. Benzer çalışma CYP1B1 içinde yapıldı. Bu genotipinin yanıtlarının sağ kalımla ilişkisi anlamlılık görülmedi. (HR: 1,44 %95 GA, 0,81 - 2,56) ( $p=0,211$ )

#### **IV. 9. Kullanılan Kemoterapik İlaçlara Göre CYP1A1 ve CYP1B1 Genotiplerinin Sağ Kalımla İlişkisi**

Çalışmada yer alan KHDAK 138 hastadan 87'si platin ve etoposid 57'si ise platin ve etoposid harici (sisplatin ve gemitabin, sisplatin ve dosetaksel, sisplatin ve vinorelsoin, sisplatin ve poklitaksel) ilaçlarla tedavi almıştır. Çizelge IV.8'de polimorfizmlerin (gerek tek başlarına veya birlikte) sağ kalım üzerine etkilerinin farklı ilaç kombinasyonları ile tedavi edilen hastalarda değişmediği belirlenmiştir.

**Çizelge 3.6.** Kullanılan Kemoterapik İlaçlara Göre CYP1A1 ve CYP1B1 Genotiplerinin Sağ Kalımla İlişkisi

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

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

a. Sisplatin ve etoposid

b. Sisplatin - Gemsitabin, Sisplatin - Doseetaksel, Sisplatin - Öinorelbin, Karboplatin - Paklitaksel, Sisplatin - Paklitaksel.



#### IV. SONUÇ VE ÖNERİLER

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

CYP1A1 polimorfizmleri ile KHDAK hastalarda sağ kalım süresi arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır (Goto ve ark., 1996; Pryzgodzki ve ark.'ları, 1998). Goto ve ark.'ları (1996) Msp1 mutasyonunun 3 yıllık takip sonrasında ileri evre (III ve IV) hastaların sağ kalım sürelerini anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir (ortanca yaklaşık 24 aya karşı 10 ay, HR=1,98: %95 G.A. 1.24- 3,17.  $p=0.005$ ). Bu araştırmacılar başka bir çalışmalarında bu varyant alelle sahip hastaların p53 gen mutasyonunun 4,5 kat daha yüksek olduğunu saptamışlardır (Kawajiri ve ark.'ları, 1996). Benzeri bulgu Pryzgodzki ve ark.'ları (1998) tarafından da bildirilmiştir. Bilindiği gibi özellikle sigara içimine bağlı olarak gelişen p53 gen mutasyonu genin inaktivasyonu ile gelişen hücre döngüsü regülasyonun bozulmasına bağlı olarak sağ kalım süresinin azalmasına neden olabilmektedir (Eposito ve ark.'ları, 1997). Dolayısıyla sigara dumanındaki karsinojenlerin daha fazla aktivasyonuna neden olan bu CYP1A1 gen mutasyonu ile p53 gen mutasyonu arasında doğrudan bir ilişki bulunduğu bildirilmektedir (Goto ve ark., 1996; Pryzgodzki ve ark.'ları, 1998). Akciğer kanser riskinde bu polimorfizmler arasında ilişkiler de gösterilmiştir (Okada ve ark.'ları, 1994; Goto ve ark., 1996). Benzer ilişki bu CYP mutasyonu ile K-ras mutasyonlarında da görülmüştür (Kawajiri ve ark.'ları, 1996).

Akciğer kanseri ile ilişkilendirilen diğer CYP1A1 gen polimorfizmi CYP1A1 İle462Val polimorfizmidir. Bu CYP1A1 İle462Val gen polimorfizminin KHDAK hastalarda sağ kalım süresi üzerinde yapılan çalışmada farklı sonuca ulaşılmıştır. Pryzgodzki ve

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

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

Bu çalışma ile ilk kez her iki CYP polimorfizmi ile kemoterapiye yanıt arasında bir ilişki olmadığı ileri evre KHDAK hastalarında gösterilmektedir. Ayrıca gerek platin ve etoposid gerekse platin ve diğer kemoterapitikleri alan hastalarda da genotip ile kemoterapiye yanıt arasında bir ilişki görülmemiştir. CYP1B1 Asn453Ser polimorfizminin sağ kalım üzerine önemli ölçüde olumsuz etkisi gözönüne alındığında böyle bir ilişkiye yatkınlık beklenebilirdi. Ancak farklı kanserlerde bazı gen polimorfizmleri ile sağ kalım arasında görülen ilişki hasta genotipi ile kemoterapiye karşı alınan yanıt arasında da görülmemektedir. Örneğin KHDAK hastalarda GSTP1 exon 6 polimorfizminde sağ kalım ile gen polimorfizmleri arasında pozitif ilişki saptanmış olmasına karşın gen polimorfizmi ile genel ve farklı

kemoterapi rejimine karşı alınan yanıtlar arasında ilişki gözlenmemiştir (Hançer F, 2006). Benzeri durum yumurtalık kanserinde de bildirilmektedir (Beeghly ve ark.'ları, 2006). Bu sonuçlar CYP1A1 Ile462Val ve CYP1B1 Asn453Ser polimorfizmlerinin uygulanan bu platin bazlı kemoterapi rejimlerine karşı alınan yanıtın öngörülmesinde gösterge olarak kullanılamayacağını ortaya koymaktadır.

Son yıllardaki çalışmalar birden fazla gen polimorfizmlerinin analizinin tek gen polimorfizm çalışmalarına oranla klinik sonuçlarla daha iyi ilişkilendirilebileceğini göstermektedir. Bunun nedenleri arasında örtüşen substrat seçiciliği göstermeleri ve substratlara karşı aktivitelerinin artması veya azalması olarak gösterilmektedir. Nitekim bu çalışmada ele alınan CYP'lerin her ikisi de PAH'ların aktivasyonunda görev almakta ve reaktif ara ürünlerin artmasına neden olmaktadır. Mutasyonları ise aktivitelerini arttırabilmektedir. Dolayısıyla her iki CYP'in varyant alellerini taşıyan hastaların yabancı tip aleli taşıyanlara oranla daha duyarlı olacakları ve bunun da yanıt ve sağ kalıma olumsuz etkiyeceği düşünülebilir. Nitekim bazı çalışmalar birden fazla genin varyant alellerinin

yumurtalık ve beyin kanseri hastalarının sağ kalımlarını değiştirdiğini göstermiştir (Okcu ve ark.ları, 2004; Beeghly ve ark.'ları, 2006). Bu çalışmada kemoterapiye yanıtta böyle bir ilişkiye rastlanmamıştır. Ancak sağ kalımla olan veriler biraz daha farklıdır. Her iki varyant aleli taşıyan hastalarda sağ kalım anlamlı olmasa da önemli ölçüde (18 aya karşın 11 ay) azalmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılığın görülmemesi bu grup hasta sayısının oldukça düşük olmasına bağlanabilir. Bu sonuç ile uyumluluk, anlamlı olmasa da, artan ölüm riski oranında (HR: 2,66) da görülmektedir. Daha yüksek hasta sayısı ile yapılacak çalışmalar bu konuya açıklık getirebilir.

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

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

Sonuç olarak bu çalışma ileri evreli (III ve IV) küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda a- CYP1A1 Ile462Val ve/veya CYP1B1 Asn453Ser polimorfizmlerinin platinyum bazlı kemoterapiye yanıtı değiştirmediğini,

- b- Genotiplerin kemoterapiye karşı verdikleri yanıtın yaş, cinsiyet, sigara içme durumları, uygulanan farklı ilaç rejimi, hastalığın evresi ve tümör histolojisi ile etkilenmediğini,
- c- CYP1A1 Ile462Val polimorfizminin sağ kalım üzerine etkisinin olmadığını; CYP1B1 Asn453Servaryant alelinin ise ölüm riskini önemli ölçüde arttırdığını, Her iki genin varyant alelinin birlikte ölüm riskini artırma eğiliminde olduğunu, Kemoterapiye yanıtla sağ kalım arasında bir ilişkinin bulunmadığını, ve
- f- Polimorfizmlerin (gerek tek başlarına veya birlikte) sağ kalım üzerine etkilerinin farklı ilaç kombinasyonları ile tedavi edilen hastalarda değişmediğini ortaya koymaktadır.

### **Öneriler:**

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

## VI. KAYNAKLAR

- Bai F, Nakanishi Y, Kawasaki M, Takayama K, Yatsunami J, Pei Xh, Tsuruta N, Wakamatsu K, Hara N (1996) Immunohistochemical expression of glutathione S-transferase – Pi can predict chemotherapy response in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* **78**: 416-421.
- Bailey LR, Roodi N, Dupont WD, Parl FF (1998) Association of cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphism with steroid receptor status in breast cancer. *Cancer Res*, **568**: 5038-5041.
- Bartsch H, Castegnaro M, Rojas M, Camus AM, Alexandrov K, Lang M (1992) Expression of pulmonary cytochrome P4501A1 and carcinogen DNA adduct formation in high risk subjects for tobacco-related lung cancer. *Toxicol Lett*, **64-65**: 477-483.
- Bartsch H, Royas M, Alexandrov K, Camus AM, Castegnaro M, Malaveille C, Anttila S, Hirvonen K, Husgafvel-Pursiainen K, Heitanen E (1995) Metabolic polymorphism affecting DNA binding and excretion of carcinogens in humans., *Pharmacogenetics*, **5**:584-590.
- Cascorbi I, Brockmoller J, Roots I (1996) A C4887A polymorphism in exon 7 of human CYP1A1: Population frequency, mutation linkages, and impact on lung cancer susceptibility. *Cancer Res*, **56**:4965-4969.
- Einolf HJ, Story WT, Marcus CB, Larsen MC, Jefcoate CR, Greenlee WF, Yagi H, Öerina DM, Amin S, Park SS, Gelboin H, Baird WH (1997) Role of cytochrome P450 enzyme induction in the metabolic activation of benzo(c) phenanthrene in human cell lines and mouse epidermis. *Chem Res Toxicol* **10**: 609-617.
- Eleni Aklillu, Mikael Oscarson, Mats Håstrand, Brith Leidvik, Charlotta Otter, and Magnus Ingelman-Sundberg (2001) Functional Analysis of Six Different Polymorphic CYP1B1 Enzyme Variants Found in an Ethiopian Population. *Mol Pharmacol* **61**:586-594.
- Goto I, Yoneda S, Yamamoto M, Kawajiri K (1996) Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res* **56**: 3725-3730.

- Hançer F, (2006) Akciğer Kanserinde GSTP1 Gen Poliformizminin İlaç Rezistansındaki Rolü, Ankara Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K (1991) Genetic linkage of lung cancer-associated Msp 1 polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P4501A1 gene. *J Biochem*, **110**: 407-411.
- Jinghua Tsai Chang, Han Chang, Po-Hung Chen, Shong-Ling Lin, and Pinpin Lin(2007), Requirement of Aryl Hydrocarbon Receptor Overexpression for CYP1B1 Up-Regulation and Cell Growth in Human Lung Adenocarcinomas, *Clin Cancer Res* **13**.
- Kawajiri, K., Eguchi, H., Nakachi, K., Sekiya, T., and Yamamoto, (1996) Association of CYP1A1 germ line polymorphisms with mutations of the p53 gene in lung cancer. *Cancer Res.*, **56**: 72-76.
- Kim JH, Stansbury KH, Walker NJ, Tursh MA, Strickland PT, Sutter TR (1998) Metabolism of benzo(a)pyrene and benzo(a)pyrene-7,8-diol by human cytochrome P450 1B1. *Carcinogenesis* **19**:1847-1853.
- Nelson DR, Kotymans L, Kamataki T (1996) P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* **6**: 1-42.
- Okcu MF, Selvan M, Wang LE, Stout L, Erana R, Airewele G, Adatto P, Hess K, Ali-Osman F, Groves M et al.: Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in primary malignant glioma. *Clin Cancer Res* 2004, **10**:2618-2625.
- Rannug A, Alexandrie AK, Persson I, Ingelman Sundberg M (1995) Genetic polymorphism of cytochromes P4501A1, 2D6 and 2E1. Regulation and toxicological significance. *J Occup Environ Med* **37**: 25-36.
- Rosell R, Felip E, Garcia-Campelo R, Balafia C (2004) The biology of non-small-cell lung cancer: identifying new targets for rational therapy. *Lung Cancer* **46**: 133-148.
- Schoket B, Papp G, Levay K, Mrackova G, Kadlubar FF, Vincze I (2001) Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat. Res* **482**:57-69.
- Shopland Dr, Eyre Hj, Pechacek TF. (1991). Smoking-attributable cancer mortality in 1991: is lung cancer now the leading cause of death among smokers in the United States? *J Natl Cancer Inst* **83**: 1142-1148.

- Siemiatycki J, Krewski D, Franco E et al., (1995) Association between cigarette smoking and each of 21 types of cancer: a multi-site case-control study. *Int J Epidemiol* **24**: 504-514.
- Spivack SD, Fasco MJ, Walker VE, Kaminsky LS (1997) The molecular epidemiology of lung cancer. *Crit Rev Toxicol*, **27(4)**: 319-365.
- Stoilov I, Akarsu AN, Alozie I, Child A, Barsoum-Homsy M, Turaçlı ME, Or M, Lewis RA, Ozdemir N, Brice G, Aktan SG, Chevrette L, Coca-Prados M, Sarfarazi M (1998) Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *Am J Hum Genet* **62**: 573-584.
- Sweeney C, Nazar-Stewart V, Stapleton PL, Eaton DL, Vaughan TL (2003) GlutathioneS-transferase M1, T1. P1 polymorphisms and survival among lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* **12**: 527-533.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri; 1999.
- World Health Organization (1979) WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva; World Health Organization, 1999.
- Wu MF, Wu Wj, Chang GC, Chen CY, Hu SW, Tsai WT, Lee H, Lin P (2004) Increased expression of cytochrome P4501B1 in peripheral leukocytes from lung cancer patients. *Toxicol. Lett.* **150**: 211-219.

## VII. EKLER

### a) Mali Bilanço ve açıklamaları

#### 1.6. PROJE BÜTÇESİ

1.6.1. TOPLAM BÜTÇE (BAP'DAN İSTENİLEN) .....4970.50 .....  
 ..... YTL

#### BÜTÇE DETAYI

ANALİTİK BÜTÇE KODU	EKONOMİK SINIFLANDIRMA	YTL
	MAKİNA - DONANIM	
	SARF MALZEMESİ	4970.50
	HİZMET ALIMI	
	MAKİNA_ TEÇHİZAT BAKIM ve ONARIMI	
	TOPLAMI	4970.50



<b>1.7.1 AYRINTILI GİDER LİSTESİ</b>					
MALZEME KODU ( sıra no)	MALZEME ADI	MALZEME MİKTARI	ÖLÇÜ BİRİMİ	TAHMİNİ BEDEL	ANALİTİK BÜTÇE KODU (Boş Bırakınız)
1	(Promega) A7933 Cell Lysis Sol. (DNA purifikasyon)	1 adet	-	330.00	
2	(Promega) M8305 Taq Polimeraz	2 adet	500 Ü	440.00	
3	NEB R0574L BsrD1 enzimi	1 adet	500 Ü	626.00	
4	NEB R0579L Cac81 enzimi	2 adet	500 Ü	1,374.00	
5	CAMBREX 50080 NuSieve GTG Agaroz	1 adet	125 g	880.00	
6	IDT Primer 100nM,50 baz	1 adet		155.00	
7	IDT Primer 25nM,50 baz	1 adet		136.00	
8	Sarı pipet ucu	5 adet	1000 adet/pk	75.00	
9	Mavi pipet ucu	5 adet	1000 adet/pk	75.00	
10	Lityum Heparinli kan tüpü, 4 ml		150 adet	71.25	
11	Enjektör iğnesi,		200 adet	200.00	
TOPLAM				4373.00 YTL	+KDV=4970.50 YTL

**b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve ilerdeki kullanımına dair açıklamalar.**

Projeden sadece sarf malzemesi satın alınmış olup bunlar da araştırmada kullanılmışlardır.

**c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan ayrıntılar)**

Yok

**d) Proje ile ilgili çeşitli Kongrelerde sunulan bildiri:**

Henüz yok