

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**SİSPLATİN KEMOTERAPİSİNE BAĞLI BULANTI - KUSMADA  
GRANİSETRON ETKİSİNİN CYP1A1 VE CYP3A4  
POLİMORFİZMİ İLE İLİŞKİSİ**

**Sema GÜLER**

Danışman  
Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

İkinci Danışman  
Prof. Dr. Hasibe VURAL

**Konya 2022**

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**SİSPLATİN KEMOTERAPİSİNE BAĞLI BULANTI - KUSMADA  
GRANİSETRON ETKİSİNİN CYP1A1 VE CYP3A4  
POLİMORFİZMİ İLE İLİŞKİSİ**

**Sema GÜLER**

Danışman  
Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

İkinci Danışman  
Prof. Dr. Hasibe VURAL

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 191418002 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Konya 2022**

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Sema Güler**'in “**Sisplatin Kemoterapisine Bağlı Bulantı - Kusmada Granisetron etkisinin Cyp1A1 ve Cyp3A4 Polimorfizmi İle İlişkisi**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/25.02.2022

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN N.E.Ü. Meram Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı	İmzası
İkinci Danışman	Prof. Dr. Hasibe VURAL N.E.Ü. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	İmzası
Üye	Prof. Dr. Neyhan ERGENE Ankara Medipol Ü. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı	İmzası
Üye	Prof. Dr. Hülagü BARIŞKANER Selçuk Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	İmzası
Üye	Prof. Dr. Muaz BELVİRANLI Selçuk Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Üye	İmzası
Üye	Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN N.E.Ü. Meram Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı	İmzası

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 09/03/2022 tarih ve 06/01sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK  
Enstitü Müdürü  
İmzası

## **BEYANAT**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

04.02.2022

Sema GÜLER

## BENZERLİK RAPORU

**Tez Adı:** Sisplatin Kemoterapisine Bağlı Bulantı - Kusmada Granisetron Etkisinin Cyp1a1 Ve Cyp3a4 Polimorfizmi İle İlişkisi

**Öğrenci Adı Soyadı:** Sema GÜLER

**Toplam Sayfa:** 74

ORJİNALLİK RAPORU

% <b>17</b> BENZERLİK ENDEKSİ	% <b>17</b> İNTERNET KAYNAKLARI	% <b>3</b> YAYINLAR	% <b>3</b> ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>archive.org</b> İnternet Kaynağı	% <b>8</b>
<b>2</b>	<b>www.thefreelibrary.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>3</b>	<b>app.trdizin.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>4</b>	<b>www.slideserve.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>tr.wikipedia.org</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>www.drceyhunnuri.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>acikerisim.erbakan.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>8</b>	<b>pharmacy.erciyes.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
	<b>www.slideshare.net</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>9</b>		% <b>1</b>
<b>10</b>	<b>Submitted to Marmara University</b> Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>11</b>	<b>aves.istanbul.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>

Alıntılarını çıkart

Bibliyografyayı Çıkart

Kapat

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

< %1

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

İmza :

## **ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR**

Farmakoloji eğitimi ve tezimin hazırlanma sürecinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her konuda desteğini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca çalışmamın proje ve deney aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana yardım eden, gerek bilimsel yaklaşımı gerekse güler yüzüyle desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Hasibe VURAL'a, Doktora eğitimime devam edebilmemde beni cesaretlendiren ve destekleyen Prof. Dr. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK'a, Doç Dr. Salim Yalçın İNAN ve Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN'a tez çalışmam için gerekli numunelerin toplanmasında emeği geçen Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji bölümü hemşirelerine çok teşekkür ederim.

Beni yetiştirip bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan anneme, hep yanımda olan ve gerektiğinde bilimsel önerileri ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili eşim Dr. Tunç GÜLER'e ve sevgisiyle hep yanımda olan, varlıklarıyla bana enerji veren çok sevgili kızım ve oğluma çok teşekkür ederim.

Bu tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından NEÜ-BAP-191418002 numaralı proje ile desteklenmiştir.

**Dr. Sema GÜLER**

## İÇİNDEKİLER

Tez Kapağı ve İç Kapak.....	i
Tez onay sayfası.....	ii
Tez Beyan_Beyan .....	iii
Benzerlik Raporu .....	iv
Önsöz ve Teşekkür.....	v
İçindekiler .....	vi
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi .....	viii
Şekiller Listesi.....	ix
Tablolar Listesi.....	x
<b>ÖZET</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1. Kusma Patofizyolojisi .....	2
2.1.1. Kemoterapi İle İlişkili Bulantı - Kusma (CINV) .....	2
2.2. CINV Gelişimine Neden Olabilecek Faktörler.....	4
2.3. Sisplatin.....	5
2.3.1. Antiemetik Tedavi Çeşitleri .....	5
2.3.2. 5 - HT3 Reseptör Antagonistleri .....	6
2.3.3. Granisetron .....	7
2.3.4. Sisplatine Bağlı Bulantı Ve Kusmada Granisetron.....	7
2.4. Sitokrom P450 Enzimleri .....	8
2.4.2. CYP3A Enzimleri.....	12
2.4.3. İlaç Etkileşimlerinde CYP Enzimlerinin Rolü .....	12
2.4.4. Granisetron Metabolizmasında CYP Enzimlerinin Rolü.....	13
2.5. Farmakogenetik.....	15
2.5.1. İlaç Yanıtındaki Değişkenlikte Farmakogenetiğin Önemi.....	16
2.5.2. Tek Nükleotid Polimorfizmi .....	16
2.5.3. Farmakogenetik Çalışma Tasarımı .....	17

2.5.4. Farmakogenetik Fenotipler .....	18
2.5.5. İlaç Reseptörü / Hedefindeki Değişmeler .....	19
2.6. Klinik Uygulamada Farmakogenetik .....	19
2.7. Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi .....	20
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>22</b>
3.1. Çalışma Popülasyonu .....	22
3.2. Dışlama Kriterleri .....	22
3.3. Bulantı - Kusma Değerlendirmesi .....	23
3.4. Moleküler Yöntemler .....	23
3.4.1 DNA İzolasyonu .....	23
3.4.2. DNA Saflık Tayini .....	23
3.4.3. PZR-RFLP Yöntemi İle Polimorfizm Analizi .....	24
3.4.4. HRM Yöntemi İle Polimorfizm Analizi .....	26
3.5. İstatistiksel Analiz .....	28
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>29</b>
4.1. PZR-RFLP Sonuçları .....	30
4.2. HRM Analizi Sonuçları .....	31
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>37</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>45</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>46</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>52</b>
<b>9. EKLER .....</b>	<b>55</b>
Ek 1. Etik Kurul Kararı .....	55
Ek 2. FLIE Emesis Skalası .....	56

## **KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ**

<b>CINV</b>	: Kemoterapi İlişkili Bulantı ve Kusma
<b>CTZ</b>	: Kemoreseptör Tetikleme Bölgesi
<b>CYP</b>	: Sitokrom p450 enzimleri
<b>GIS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>HEC</b>	: Yüksek Emetojenik Kemoterapi
<b>HRM</b>	: Yüksek Çözünürlüklü Erime - High Resolution Melting
<b>NCCN</b>	: National Comprehensive Cancer Network.
<b>NCI</b>	: National Cancer Institute
<b>NK1</b>	: Nörokinin-1
<b>OD</b>	: Optik Dansite
<b>PAH</b>	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
<b>PZR; PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu.
<b>SNP</b>	: Tek Nükleotit Değişiklikleri

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b><u>Şekil No:</u></b>	<b><u>Sayfa No:</u></b>
Şekil 2.1. Granisetron Metabolizması.....	14
Şekil 4.1. CYP1A1*2A (rs4646903) polimorfizmi için örnek PZR-RFLP jel görüntüsü.....	30
Şekil 4.2. CYP1A1*2C (rs1048943) polimorfizmi için örnek PZR-RFLP jel görüntüsü.....	31
Şekil 4.3. CYP3A4*22 (rs3559967) polimorfizmi için örnek PZR-RFLP jel görüntüsü.....	31
Şekil 4.4. Polimorfizmleri için HRM analizi sonuçları .....	32

## TABLolar LİSTESİ

<b><u>Tablo No:</u></b>	<b><u>Sayfa No:</u></b>
<b>Tablo 3.1.</b> Hedef Bölgelere Yönelik Primer Dizileri.....	24
<b>Tablo 3.2.</b> PZR İçin Hazırlanan Reaksiyon Karışımı.....	25
<b>Tablo 3.3.</b> PZR Protokolü .....	25
<b>Tablo 3.4.</b> RFLP Analizinde Kullanılan Kesim Enzimleri.....	25
<b>Tablo 3.5.</b> RFLP Analizi İçin Oluşturulan Reaksiyon Karışımı .....	26
<b>Tablo 3.6.</b> RFLP Analizi Reaksiyon Koşulları.....	26
<b>Tablo 3.7.</b> HRM Analizi İçin Hazırlanan Reaksiyon Karışımı .....	27
<b>Tablo 3.8.</b> HRM (Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi) Protokolü .....	27
<b>Tablo 4.1.</b> Hasta Özellikleri.....	29
<b>Tablo 4.2.</b> Örneklerin İlgili Polimorfizmler Bakımından Genotip Frekansları .....	32
<b>Tablo 4.3.</b> Tek Nükleotid Polimorfizmi İçin Hazırlanan Primer dizileri.....	32
<b>Tablo 4.4.</b> Örneklerin RFLP Görüntüleri Analiz Edilerek Elde Edilen Genotip Bilgileri .....	33
<b>Tablo 4.5.</b> Örneklerin Genotiplerine Göre Hesaplanan Genotip Frekansları.....	34
<b>Tablo 4.6.</b> RS1 için bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanı analizi .....	34
<b>Tablo 4.7.</b> RS2 için bulantı, kusma ve bulantı – kusma toplam puanı analizi .....	35
<b>Tablo 4.8.</b> RS3 için bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanı analizi .....	36

## ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### **Sisplatin Kemoterapisine Bağlı Bulantı - Kusmada Granisetron Etkisinin Cyp 1A1 ve Cyp 3A4 Polimorfizmi İle İlişkisi**

Sema GÜLER

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi / Konya – 2022

Bu çalışmada Sisplatin ile tedavi edilen kanser vakalarında kemoterapiye bağlı gelişen bulantı - kusmada antiemetik bir ilaç olan Granisetron etkisinin CYP1A1 ve CYP3A4 polimorfizmi ile ilişkisi araştırılmıştır

NEU Meram Tıp Fakültesi ve KTO Karatay Üniversitesi Medicana Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Kliniğine başvuran, daha önce kemoterapi almamış,  $\geq 18$  yaş ve Karnofsky performans skalası  $\geq 50$  olan; Sisplatin bazlı tek ajan veya kombinasyon kemoterapisi olarak 50 mg/m<sup>2</sup> ya da üzerindeki dozda kemoterapötik ajan alan 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastalara Sisplatin öncesi bulantı - kusmanın önlenmesi amacıyla premedikasyonda Granisetron (3 mg) ve Deksametazon (8 mg) intravenöz olarak uygulanmıştır. Hastalar gecikmiş bulantı - kusmanın engellenmesi amacıyla kemoterapi sonrası 4 gün daha Granisetron'u oral yolla kullanmaya devam etmişlerdir. Her hasta sitotoksik ilaç başlanmasından itibaren 5 gün boyunca günlük olarak takip edilmiştir. Kanser tedavisi sırasında kemoterapi ilişkili bulantı ve kusma (CINV) şiddetini değerlendirmek için hastalara FLIE işlevsel yaşam indeksi skalası kullanılmıştır. Tedavinin hemen öncesinde hastalardan alınan kan örneklerinden izole edilen DNA örneği kullanılmıştır. Çalışmada, CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943) CYP3A4\*22 (rs35599367) polimorfizmlerin belirlenmesinde PZR tabanlı RFLP tekniğinin yanı sıra gen polimorfizmlerinin validasyon amaçlı gerçek zamanlı PZR'a dayalı HRM tekniği de kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre örneklerin ilgili polimorfizmler bakımından genotip frekansları CYP1A1\*2A (rs4646903) için %80 Wild Type, %18 Heterozigot, %2Homozigot, CYP1A1\*2C (rs1048943) için %92 Wild Type, %8 Heterozigot,

CYP3A4\*22 (rs35599367) için %96 Wild Type, %4 Heterozigot varyant aleli olarak bulunmuştur. Bu çalışmada Sisplatin tedavisi alan kanser hastalarında kemoterapiye bağlı olarak gelişen bulantı - kusmayı önlemek için uygulanan Granisetron tedavisinin etkinliği ile CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943), CYP3A4\*22 (rs35599367) polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Örnek grubunda Granisetron tedavisinin etkinliğini değiştirecek herhangi bir genotipik farklılık bulunmamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Bulantı-Kusma, Granisetron, Polimorfizm, Sisplatin,

## **ABSTRACT**

REPUBLIC OF TURKEY  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

### **Association Between Antiemetic Response of Granisetron and Genetic Polymorphisms of CYP1A1 and CYP3A4 in Cancer Patients Treated With Cisplatin**

Sema GÜLER

Department of Pharmacology

PhD Thesis / Konya-2022

In this study, 50 patients,  $\geq 18$  years old with Karnofsky performance scale  $\geq 50\%$  received Cisplatin-based chemotherapy as a single agent or combination at a dose of 50 mg/m<sup>2</sup> or more before admission to the medical oncology clinics of Meram Medical Faculty of NEU and Medicana Medical Faculty of KTO Karatay University, were included. In order to prevent nausea and vomiting before Cisplatin, Granisetron (3 mg) and Dexamethasone (8 mg) were administered intravenously in premedication to these patients. Patients continued to use Granisetron orally for 4 days after chemotherapy to prevent delayed nausea and vomiting. Each patient was followed up daily for 5 days from the initial dose of the cytotoxic drug. FLIE Functional Living Index was used to evaluate the severity of chemotherapy-related nausea and vomiting (CINV) during cancer treatment. CINV is one of the most common side effects observed after chemotherapy. Granisetron is an antiemetic drug that is a 5-hydroxytryptamine (5HT<sub>3</sub>) receptor blocker used to prevent chemotherapy-induced nausea and vomiting.

It is known that CINV persists in 30-50% of patients taking Granisetron. Unlike 1A-HT<sub>3</sub>RA, Granisetron is metabolized by the liver through N-demethylation, aromatic ring oxidation and conjugation mediated by the P450 isoenzymes CYP3A and CYP1A1. There is no study showing the association between the effect of Granisetron on CINV and the enzyme polymorphism. In this study, polymorphisms that may change the effectiveness of Granisetron therapy were investigated. A DNA sample isolated from blood samples taken from patients was

used just before the treatment. In this study, the PCR-based RFLP technique was used to determine the CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943), CYP3A4\*22 (rs35599367) polymorphisms, as well as the real-time PCR-based HRM technique for the validation of gene polymorphisms. According to the results, samples in terms of genotype frequencies of relevant polymorphisms CYP1A1\*2A (rs4646903) for 80 % of the Wild type, 18 % Heterozygous, %2 Homozigot, CYP1A1\*2C (rs1048943) for 92% of Wild Type, 8% Heterozygous, CYP3A4\*22 (rs35599367) for at 96% for the Wild type, 4% of the variant allele was found to be heterozygous. In this study, a significant relationship between effectiveness of Granisetron treatment on chemotherapy induced nausea and vomiting in cancer patients receiving Cisplatin treatment and polymorphisms of CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943), CYP3A4\*22 (rs35599367) has not been determined. There were no genotypic differences in the sample group that would change the effectiveness of Granisetron therapy. The polymorphism of the CYP3A4 gene rs270574 did not show a significant effect on the cases. when evaluated for the interaction of Cisplatin and Granisetron analyzed.

As a conclusion; to prevent nausea and vomitting related with chemotherapy in cancer patients receiving Cisplatin therapy, no significant relationship found between the effectiveness of Granisetron therapy and the polymorphisms of CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943), CYP3A4\*22 (rs35599367).

**Key Words:** Cisplatin, Granisetron, Nausea & Vomiting, Polymorphism

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser tedavisi sırasında kemoterapi ile ilişkili bulantı ve kusma (CINV) en sık görülen yan etkilerdendir. CINV, hastaların kemoterapiye olan uyumunu ciddi şekilde etkileyerek progresyonsuz sağ kalımı ve genel sağ kalımı kısaltmaktadır. Granisetron, CINV 'nin önlenmesi amacıyla kullanılan 5 - HT3 reseptör blokörü olan bir antiemetiktir. Granisetron, N-demetilasyon, aromatik halka oksidasyonu ve diğer 5-HT3RA 'lardan farklı olarak P450 CYP3A4 ve CYP1A1 izoenzimlerinin aracılık ettiği konjugasyon yoluyla karaciğer tarafından metabolize edilmektedir. Sisplatin gibi yüksek emetojenik potansiyeli olan ilacı alan hastalarda, kemoterapiye başlanmadan önce Granisetron'un hastadaki etki seviyesinin belirlenmesinde, etkinlik üzerinde rol oynayan genetik faktörlerin saptanması önemlidir.

Granisetron eliminasyonunun hızlı olduğu kişilerde ilaçtan elde edilecek antiemetik etki yetersiz kalacağından dozun artırılması gerekecektir. Verilecek dozun ayarlanmasında farmakogenetik farklılıklar önemlidir. Böylece etkin antiemezis sağlanmasına, hastanın tedaviye uyumuna ve ayrıca muhtemel hastalıkla ilişkili komplikasyonların azalmasına neden olacaktır.

Onkolojide, antiemetikler ile ilgili farmakogenetik çalışmalar az sayıdadır. Bu çalışmalarda genellikle 5-HT3RA 'ların farmakogenetik özelliklerinden; Çoklu İlaç Direnci 1 (MDR1) geni, 5-HT3A, B, C Reseptör genleri ve CYP2D6 genleri araştırılmıştır (Perwitasari ve ark. 2011). CYP3A4 ve CYP1A1 genleri ile ilişkili bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Sisplatin ile tedavi edilen kanser vakalarında kemoterapiye bağlı gelişen bulantı - kusmada antiemetik bir ilaç olan Granisetron etkisinin CYP1A1 ve CYP3A4 polimorfizmi ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bireyselleştirilmiş tedavinin değerlendirilmesi açısından bu çalışma önem taşımaktadır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kusma Patofizyolojisi**

Kusma, beyin tarafından kontrol edilen çok aşamalı bir reflex yolunun uyarılmasından kaynaklanmaktadır (Navari ve ark. 2016; American Gastroenterological Association Medical Position Statement 2001; Herrstedt ve ark. 2008). Kemoreseptör Tetikleme Bölgesi (CTZ), farenks ve gastrointestinal sistemden (GIS) gelen vagal afferent lifler ile, medullada bulunan kusma merkezi de beyin korteksinden gelen afferent impulslar ile tetiklenir. Efferent impulslar kusma merkezinden tükürük bezleri, karın kasları, solunum merkezi ve kranial sinirlere gönderildiğinde kusma oluşur (Craig ve Powell 1987).

CTZ, kusma merkezi ve GIS birçok nörotransmitterle ilgili reseptöre sahiptir. Kemoterapötik ajanlar veya bunların metabolitleri tarafından bu reseptörlerin aktivasyonu, kemoterapinin neden olduğu kusmadan sorumlu olabilir. Kusmada rol oynayan başlıca nöroreseptörler ise Serotonin (5-hidroksitriptamin; 5-HT<sub>3</sub>) ve Dopamin reseptörleridir; 5-HT<sub>3</sub> reseptörlerinin aktive edilmesi akut kusma ile ilişkilidir ( Seigel ve Longo 1981; Navari ve ark. 2016). Kusmada rol alan diğer nöroreseptörler ise Asetilkolin, Kortikosteroid, Histamin, Kanabinoid, Opioid ve Nörokinin-1 (NK1) reseptörleri olup beynin kusma ve vestibüler merkezlerinde yerleşmişlerdir (Dodds 1985). NK1 reseptörlerinin aktive edilmesi ise gecikmiş kusma ile ilişkilidir (Navari ve ark. 2016).

Antiemetik ajanlar farklı nöronal yolları bloke edebilir veya diğer antiemetik ajanlarla sinerjistik olarak etkileşebilirler. Belirli bir konsantrasyonda kullanıldığında her bir antiemetik madde, ağırlıklı olarak bir reseptör tipini bloke etmektedir. Bu nedenle tek bir ajan, kemoterapinin tüm emetik fazlarını etkilemekte yetersiz kalmaktadır (Navari ve ark. 2016).

#### **2.1.1. Kemoterapi İle İlişkili Bulantı - Kusma (CINV)**

Kanser tedavisi sırasında CINV en sık görülen yan etkilerdendir. Hasta anketlerinde CINV, tedaviye bağlı en ciddi ve sorun teşkileden istenmeyen durumlar arasında yer almaktadır (O'Brien ve ark. 1993; Griffin ve ark. 1996). CINV, hastaların kemoterapiye olan uyumunu ciddi şekilde azaltmakta ve böylece

progresyonsuz sağ kalımı ve genel sağ kalımı etkilemektedir. Bununla birlikte bulantı - kusma; dehidratasyon, metabolik dengesizlikler, kişisel bakım ve fonksiyonel yeteneklerin dejenerasyonu, beslenmede azalma, anoreksi, hastanın performans durumunun ve zihinsel durumunun bozulması, yara açılması, özofagus yırtıkları ve kanser tedavisinin bırakılması gibi istenilmeyen durumlarla sonuçlanabilir (Mc Donagh ve ark. 2010).

Kemoterapi, radyoterapi veya kemoradyoterapi alan hastalarda bulantı - kusmanın insidansı ve şiddeti, aşağıdakileri de içeren birçok faktörden etkilenir:

- 1) Kullanılan spesifik terapötik ajanlar,
- 2) Ajanların dozu,
- 3) Ajanların uygulama planı ve yolu,
- 4) Radyoterapinin hedefi (örneğin tüm vücut, üst karın),
- 5) Bireysel hasta değişkenliği (örneğin, yaş, cinsiyet, önceki kemoterapi, alkol kullanım öyküsü) (Hesketh ve ark. 2006; Herrstedt 2008).

Yüksek emetojenik kemoterapi (HEC-High Emetogenic Chemotherapy) alan hastaların % 90 'ından fazlasında kusma nöbetleri olmaktadır. Bununla birlikte, eğer hastalar HEC tedavisi öncesinde profilaktik antiemetik rejimler alırlarsa, bu hastaların sadece yaklaşık % 30 'unda kusma görölmektedir (Hesketh ve ark. 1997; Herrstedt ve ark. 2008; Roila ve ark. 2010). Kusma, profilaktik antiemetik rejimleri kullanarak sıklıkla önlenabilir veya büyük ölçüde azaltılabilirse de, bulantı – kusmayı kontrol etmek daha zordur (Roscoe ve ark. 2010; Ng ve ark. 2015).

CINV; genel olarak akut, gecikmiş ve beklentisel olmak üzere üç ayrı klinik olgudur. Akut başlangıçlı bulantı - kusma genellikle ilacın uygulanmasından birkaç dakika ile birkaç saat arasında ortaya çıkar ve ilk 24 saat içinde düzelir.

Akut başlangıçlı bulantı - kusmanın veya CINV 'in yoğunluğu çoğunlukla 5 ila 6 saat sonra zirve yapmaktadır. Kemoterapiye bağlı akut kusmayı etkileyen faktörler arasında bulantı - kusma öyküsü, kemoterapinin uygulandığı ortam, emetojenik ajanın dozu ve antiemetik rejimin etkinliği yer almaktadır (Warr ve ark. 2011).

Geç başlangıçlı CINV, kemoterapi uygulamasından 24 saat sonra gelişmektedir (Kris ve ark. 1985; Roila ve ark. 1991). Genellikle Sisplatin, Karboplatin, Siklofosfamid ve/veya Doksorubisin verilmesiyle ortaya çıkar. Sisplatine bağlı kusma, uygulanmasından 48 ila 72 saat sonra maksimum yoğunluğa ulaşır ve akut kusmadan daha az şiddetli fakat daha uzun süre (6-7 gün) devam edebilir. Antiemetik tedavi yokluğunda Sisplatin alan hastaların %90 'ından fazlasında gecikmiş CINV gelişmektedir (Roila ve ark. 2006).

Beklentisel CINV ise hastalar bir sonraki kemoterapi tedavisini almadan önce görülmektedir. Öncelikle koşullandırılmış bir cevap olarak kabul edildiğinden, beklentisel bulantı-kusma tipik olarak kemoterapiyle ilgili olumsuz geçmiş bir deneyimin ardından ortaya çıkmaktadır. Beklentisel CINV insidansı % 18 ile % 57 arasında değişir ve bulantı - kusmaya göre daha sık görülmektedir (Moher ve ark. 1984; Jacobsen ve ark. 1988). Genç hastalar, genellikle daha agresif kemoterapi almaları ve daha kötü kusma kontrolüne sahip olmaları nedeniyle beklentisel CINV gelişimine daha yatkın olabilirler (Morrow 1984).

Ayrıca; son yıllarda tanımlanan kaçak (Breakthrough) CINV ise profilaktik tedaviye rağmen ortaya çıkan ve/veya antiemetik ajanlarla kurtarma tedavisi gerektiren bulantı - kusmayı ifade etmektedir (Kris ve ark. 2006). Refrakter CINV ise; antiemetik profilaksi ve/veya kurtarma tedavisinin ilk kemoterapi döngülerinde etkili olamayıp sonraki kemoterapi döngülerine kadar devam eden bulantı – kusmayı ifade eder (Roila ve ark. 2006).

## **2.2. CINV Gelişimine Neden Olabilecek Faktörler**

CINV gelişimine neden olabilecek hastaya ait faktörler olarak; aldığı kemoterapi rejimi başta olmak üzere cinsiyet, yaş, etanol tüketim öyküsü ve önceki kemoterapi uygulamaları ile ilişkili bulantı – kusma öyküsü sayılabilir. CINV için bilinen tüm faktörlerden en önemlisi, kullanılan kemoterapötik maddenin emetojenitesidir. En çok kullanılan emetojenite sınıflaması, Hesketh sınıflaması olup kemoterapötik ajanları, profilaktik olarak antiemetik ilaç almadıklarında akut kriz yaşayan hastaların yüzdesine göre yüksek (> %90), orta (%30 - %90), düşük (% 10 - %30), minimal (< %10) emetik riske sahip olmak üzere 4 seviyede sınıflamıştır. Bu sınıflamaya göre Sisplatin, Mekloreタミン, Streptozotosin, Siklofosfamid, Karmustin,

ve Dakarbazin yüksek emetojenik potansiyele sahip antineoplastik ilaçlardandır (Hesketh ve ark. 1997). Bu sınıflandırma, NCCN (National Comprehensive Cancer Network) kılavuzlarında kullanılmakta ve her yıl güncellenmektedir.

### **2.3. Sisplatin**

Sisplatin, alkilleyicilerden olan Platinium grubu bir antineoplastik ilaçtır. İntravenöz infüzyonundan sonra Sisplatin dokulara çabuk diffüze olur ve 4 saat içinde Platinin %90 'dan fazlası plazma proteinlerine kovalent olarak bağlanır. Ultrafiltrelenebilir Platinin kaybolması hızlı ve bifazik bir şekilde olur. Plazma yarılanma ömürleri, başlangıç ve terminal fazlar için sırasıyla 10-30 dakika ve 0.7-0.8 saat olarak belirlenmiştir. Sisplatin eliminasyonu başlıca renal yoldan olur. İnfüzyondan 24 saat sonra idrarla atılan Platin miktarının %23 - %40 arası olduğu saptanmıştır. Toplam Platinin çok az miktarı da safra ile atılmaktadır (NCCN Guidelines Antiemesis Version 3.2018).

Sisplatinin yan etkileri (tek dozu 50 mg/m<sup>2</sup> 'nin üstünde olmak üzere) bulantı - kusma, nefrotoksisite, ototoksisite, nöropati ve miyelosupresyondur. Nadir görülen yan etkiler ise görmede bozulma, nöbetler, aritmiler, akut iskemik vasküler olaylar, glukoz intoleransı ve pankreatittir. Bulantı - kusma, 5-HT<sub>3</sub> antagonistleri ve beraberinde genellikle glikokortikoid verilerek etkili bir şekilde tedavi edilebilir (NCCN Guidelines Antiemesis Version 3.2018).

Bazı hastaların kanser tipleri, Sisplatin rejimine dirençli olduğu için tedavi sonrası nüksedebilir. Bu nedenle Sisplatinin diğer antineoplastik ilaçlarla kombine edildiği tedavi protokolleri, kanser tedavisindeki yaygın bir uygulamadır. Yapılan çalışmalarda Sisplatin ile diğer bileşiklerin kombine kullanılmasının ilaç direncinin üstesinden gelmede ve istenmeyen yan etkileri azaltmada en iyi terapötik yaklaşım olduğu öne sürülmüştür (Dasari ve Tchounwou 2014).

#### **2.3.1. Antiemetik Tedavi Çeşitleri**

NCCN Kılavuzları, yüksek emetojenik ajanları alan hastalar için birkaç farklı antiemetik rejim seçeneği önermektedir. Bu rejimler; 5-HT<sub>3</sub> antagonistleri, Deksametazon, NK1 reseptör antagonistleri (örneğin Aprepitant- Fosaprepitant ve Rolapitant) ve Olanzapin'i içermektedir.

Genel olarak, CINV 'e karşı maksimum koruma sağlamak için kemoterapinin öncesinde antiemetik tedaviye başlanmalı ve kullanılan kemoterapötik ajanın emetik etkisinin süresi kadar tedaviye devam edilmelidir. Antiemetik ajanlar oral, dilaltı, rektal, intravenöz, intramüsküler, subkutan veya transdermal yoldan uygulanabilir. Oral ve intravenöz 5-HT3 antagonistleri, uygun dozlarda kullanıldığında eşdeğer etkinliğe sahiptir (Roila ve ark. 2010; Hesketh ve ark. 2017).

### **2.3.2. 5 - HT3 Reseptör Antagonistleri**

5-HT3 reseptör antagonistleri (Serotonin reseptör antagonistleri veya Serotonin blokörleri olarak da bilinir) özellikle kemoterapi, radyoterapi veya postoperatif gelişen bulantı - kusmanın önlenmesi ve tedavisi için kullanılan bir ilaç sınıfıdır. GIS 'i kaplayan hücreler, kemoterapi ve radyoterapi ile hasar gördüğünde Serotonin salgırlar. Bu Serotonin, impulsları beyindeki kusma merkezine ileten sinirler üzerindeki Serotonin reseptörlerine bağlanır ve bu da kusma refleksinde yer alan diğer sinirleri uyarır. 5-HT3 reseptör antagonistleri, Serotonin'in incebağırsakta 5-HT3 reseptörlerine bağlanmasını önleyerek bulantı - kusma olasılığını azaltırlar. 5-HT3 reseptör antagonistlerinin tümü (Dolasetron mesilat, Granisetron, Ondansetron ve Palonosetron) CINV'yi kontrol etmede etkili bulunmuştur (Hesketh ve Gandara 1991; Andrews ve ark. 1992).

Granisetron, Ondansetron ve Dolasetron mesilat birinci kuşak 5-HT3 reseptör antagonistleridir. Kimyasal yapılarındaki ve emilim oranlarındaki değişikliklere rağmen, hepsi aynı şekilde çalışır ve iyi tolere edilir. Oral formülasyonlar, bulantı - kusmayı önlemede intravenöz formlar kadar etkilidir. Bir metaanalizde birinci nesil 5-HT3 reseptör antagonistleri arasında etkinlik açısından fark bulunamamıştır (Jordan ve ark. 2007). Bir başka metaanalizde ise Ondansetron ile Granisetron karşılaştırılmış, akut ve gecikmiş CINV 'i kontrol etmede ve güvenlik profillerinde benzer oldukları gösterilmiştir (Billio ve ark. 2010).

Palonosetron, Serotonin reseptörlerine karşı birinci nesil ajanlardan daha fazla afiniteye sahip ikinci nesil bir Serotonin blokörüdür, ve bu da etki süresini artırır. Palonosetron ile birinci nesil 5-HT3 reseptör antagonistlerini karşılaştıran bir metaanalizde ise Palonosetro'nun hem yüksek hem de orta derecede emetojenik

kemoterapi alan hastalarda, akut ve gecikmiş CINV 'i önlemede daha etkili olduğu gösterilmiştir (Botrel ve ark. 2011).

### **2.3.3. Granisetron**

Granisetron (BRL 43694), muhtemelen abdominal vagal afferentler üzerinde ve CTZ (Chemoreceptor Trigger Zone) veya yakınında etkili olan, güçlü antiemetik aktiviteye sahip oldukça selektif bir 5-HT<sub>3</sub> reseptör antagonistidir. Kanser hastalarındaki klinik çalışmalar, plasebo ile karşılaştırıldığında Granisetron'un yüksek doz Sisplatin uygulanmasından sonraki 24 saat boyunca bulantı-kusma insidansını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Geniş kapsamlı karşılaştırmalı çalışmalarda, Sisplatin veya diğer kemoterapi protokollerinin uygulanmasından önce Granisetron alan hastaların %70 'inde antineoplastik ilaç uygulanmasından sonra 24 saat boyunca bulantı veya kusma olmamıştır. Bu sonuçlara göre yüksek doz Metoklopramid ile birlikte Deksametazon alımı ile elde edilen yarar benzer bulunurken, Klorpromazin ile birlikte Deksametazon veya Proklorperazin ile birlikte Deksametazon ve de Metilprednizolon monoterapisinin bir kombinasyonundan elde edilen sonuçlardan ise daha üstün bulunmuştur (Plosker ve Goa 1991).

Granisetron uygulanmasıyla ilişkili en sık bildirilen yan etki, hastaların yaklaşık % 10-15 'inde görülen baş ağrısıdır. Kabızlık, uyku hali, ishal ve kan basıncında geçici küçük değişiklikler ise daha az sıklıkta görülmektedir. Yüksek doz Metoklopramid ile oluşabilen ve kullanımında sınırlayıcı bir faktör olabilecek ekstrapiramidal etkiler, Granisetron uygulaması ile kaydedilmemiştir. Bu nedenle Granisetron, CINV profilaksisinde etkili, iyi tolere edilen ve kolayca uygulanan bir ilaç olup potansiyel olarak daha kabul edilebilir bir antiemetik tedavi sağlar (Plosker ve Goa 1991).

### **2.3.4. Sisplatine Bağlı Bulantı ve Kusmada Granisetron**

Granisetron, kanser kemoterapisi uygulamalarında en yaygın kullanılan antiemetik ilaçlardan biridir ve bulantı-kusma şikayeti olan hastalara geleneksel veya yüksek dozlarda uygulanmaktadır. Onkoterapi sırasında ortaya çıkan komplikasyonların tedavisi için kullanılan diğer ilaçlar ile etkileşimde bulunabilir.

Olumsuz yan etkilerin önlenmesi için kullanılan ilaçların eşzamanlı metabolizmasının da bilinmesi önemlidir.

Bir çalışmada, yüksek doz Sisplatin'in neden olduğu bulantı ve kusmanın önlenmesinde tek doz 10, 20 veya 40 mikrogram/kg'lık Granisetron dozlarının etkinliği ve güvenilirliği araştırılmıştır. Granisetron'un, 81 mg/m<sup>2</sup>'den daha yüksek dozlarda Sisplatin alan hastaların %57 ila %60 'ında kusmayı kontrol etmede etkili olduğu ve %40 ila 47 'sinde kusmayı tamamen önlediği gösterilmiştir. 10µg/kg doz ile 20µg/ kg ve 40µg/ kg dozlar arasında etkinlik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamış ve Granisetron tüm dozlarda iyi tolere edilmiştir (Navari ve ark.1994)

Sisplatin kaynaklı kusmanın profilaksisinde Granisetron ve Ondansetron etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; 10 µg/ kg veya 40 µg/ kg, tek doz Granisetron, üç kez 0.15 mg/ kg Ondansetron dozu kadar etkili olmuştur. Sırasıyla Granisetron 10 µg/ kg, Granisetron 40 µg/ kg ve Ondansetron alan tüm hastalarda % 38, % 41 ve %39 'u bulan tam bir bulantı - kusma kontrolü sağlanmıştır. Granisetron 10 µg/ kg, Granisetron 40 µg/ kg ve Ondansetron alan hastaların sırasıyla % 47 'sinde, % 48 'inde ve % 51 'inde kusma olmamış veya ek bir antiemetik tedavi gerekmemiştir. Üç tedavi rejiminin tamamı iyi tolere edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, Granisetron'un 10 µg/ kg veya 40 µg/kg 'lık tek dozunun, Sisplatin kemoterapisinin neden olduğu bulantı - kusmanın önlenmesinde üç doz Ondansetron 0,15 mg/ kg kadar etkili olduğunu göstermektedir (Navari ve ark. 1995).

#### **2.4. Sitokrom P450 Enzimleri**

Karaciğerin oksidasyon yapan mikrozomal enzimleri tam olarak tanımlanmamış bir grup enzimden oluşur. Bunlar Sitokrom p450 enzimleri (CYP) diye adlandırılır. CYP'ler birçok ilaç, steroid ve karsinojenik maddenin yanında safra ve yağ asitleri, prostaglandinler, biyojenik aminler gibi endojen maddelerin ve bunlardan bazılarının prekürsörlerinin oksidatif metabolizmasında ve biyosentezinde rol alır (Guengerich 1992; Nelson ve ark. 1993).

CYP 'ler, çok sayıda enzimden ve onların izoenzimlerinden oluşan geniş bir enzim süperfamilyasını teşkil eder. Bu enzimlerin çoğunun sentezini kontrol eden bireysel genlerin yapısı ile kromozomal ve subkromozomal yerleşimleri

belirlenmiştir. Belirli bir enzim proteini kural olarak belirli bir gen tarafından kodlanır. Bu nedenle enzim süperfamilyası yanında Sitokrom p450 genleri süperfamilyasından da söz edilir (Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji, 13. Basım,2012, Cilt 1, s: 43).

Çeşitli CYP izozimleri için mevcut isimlendirme sisteminde, moleküler biyoloji konvansiyonlarına dayanan üç katmanlı bir sınıflandırma kullanılır; aile (aynı ailenin üyeleri, aminoasit sekanslarında > %40 homoloji gösterir), alt aile (%55 homoloji) ve bireysel gen (Nebert ve ark. 1991). Bu adlandırmada CYP, Sitokrom p450 'yi ifade eder; bundan sonra gelen sayı familya numarasını gösterir ve bunu izleyen harf ise alt-familiyayı belirler. Daha sonraki sayı, bu alt-familiya içindeki enzimlerin numarasını yani bireysel enzimleri gösterir. Bazı familyalarda ise tek bir üye bulunduğu için familya numarasından sonra başka bir açıklayıcı işaret bulunmaz (Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji, 13. Basım,2012, Cilt 1, s: 43).

İnsanda ilaç metabolizmasından sorumlu yaklaşık 30 ayrı CYP enzimi vardır ve bunlar 1-4 ailelerine aittir. Bununla birlikte ilaç oksidasyon reaksiyonlarının yaklaşık % 90 'ından altı tane CYP enziminin sorumlu olduğu öne sürülmüştür. Bunlar; CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 ve 3A4 enzimleridir (Bertilsson 1992). Son yıllarda, CYP3A4, CYP2C9 / 19 ve CYP2D6 gibi majör CYP enzimlerinin, ilaçların ilk geçiş metabolizmasında önemli bir rol oynadığı açıkça gösterilmiştir. İlaçların yaklaşık % 10 'unun metabolizmasında rol oynayan CYP1A1 ve CYP1A2 enzimleri klinik açıdan önemli olmalarına rağmen, ilaçların farmakokinetiği ve etkileşimleri ile ilgili olarak diğer enzimlerle karşılaştırıldığında bunlarla ilgili daha az çalışma yapılmıştır (Klomp ve ark. 2020). Miktar bakımından en önemli CYP izoenzimleri, CYP3A4 ve CYP2D6'dır. CYP3A4 sadece karaciğerde değil, aynı zamanda bağırsak duvarında da bulunmaktadır (Bibi 2008).

CYP'lerin karaciğerde değişik miktarlarda bulunması, farklı enzimlerle yıkılan ilaçların metabolizma hızlarının farklı olmasına yol açan önemli bir faktördür. CYP enziminin karaciğerdeki miktarı kişinin diyetine, maruz kaldığı çevresel etkenlere, cinsiyetine ve beslenme durumuna göre bireyler arasında önemli derecede değişkenlik göstermektedir. Ayrıca bireyler arasında enzim miktarı ve etkinliği bakımından genetik polimorfizme bağlı değişkenlik de vardır (Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji, 13. Basım,2012, Cilt 1, s: 43).

#### 2.4.1. CYP1A Enzimleri

Sık reçete edilen, terapötik indeksi dar ve advers etkileri ciddi olan birçok ilaç, CYP1A enzimleri ile metabolize edilmektedir. Bu nedenle CYP1A ekspresyonunda ve işlevinde inhibisyon veya indüksiyon olması bu ilaçların yan etkilerini artırmaktadır (Klomp ve ark. 2020). CYP1A ailesi, 1A1 ve 1A2 olmak üzere iki izoenzimden oluşmaktadır. CYP1A2, insan karaciğerinde yapısal olarak yüksek seviyelerde eksprese edilirken, CYP1A1' in belirgin şekilde daha düşük seviyelerde eksprese edildiği ancak akciğer, bağırsak, prostat, böbrek ve plasenta dahil ekstrahepatik dokularda da bulunduğu gösterilmiştir (Schweikl ve ark.1993; Ding ve ark. 2003; Nishimura ve ark. 2003; Stiborová ve ark. 2005; Paine ve ark. 2006; Bièche ve ark. 2007; Zhou ve ark. 2010; Lang ve ark. 2019). Bağırsakta en fazla bulunan CYP enzimleri olan CYP3A4 ve CYP2C9 ile karşılaştırıldığında, CYP1A1 ekspresyonu oldukça az ve değişkendir (Paine ve ark. 2006; Miyauchi ve ark. 2016; Drozdik ve ark. 2018).

CYP1A1 esas olarak akciğerlerde, meme bezlerinde, plasenta ve lenfositlerde bulunur. Prokarsinojenlerin inaktivasyonunda rol oynayan bir enzimdir ve sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) tarafından yüksek oranda indüklenir (Wrighton ve ark. 1993). CYP1A1 aktivitesi ile akciğer kanseri riski arasında güçlü bir ilişki vardır (Mehgoub ve ark. 1977). Bu enzimin deneysel indükleyicileri 3 - metlikolantren,  $\beta$ -naftoflavon ve 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksindir (TCDD) (Edwards ve ark. 2003; Madan ve ark. 2003). Granisetron'a (Lang ve ark. 2019) ek olarak, tirozinkinaz inhibitörleri olan Aksitinib, Erlotinib, Gefitinib ve Ningetinib ile Toll benzeri reseptör agonistleri olan İmikumod ve Conivaptan (antidiüretik hormon inhibitörü) da CYP1A1 'in substratları olarak bildirilmiştir (Kroemer ve ark. 1993; Wild ve ark. 1999; Lang ve ark 2019). CYP1A'nın endojen substratları arasında ise araşidonik asit, bilirubin, prostaglandinler, östrojenler, melatonin ve retinoik asit bulunmaktadır (Nebert ve ark. 2006; Zhou ve ark. 2010). Albendazol, Karbamazepin, Omeprazol, Lansoprazol, Primakuin ve Rosiglitazonun da CYP1A1 ve CYP1A2 'nin ekspresyonunun ve metabolik aktivitelerinin güçlü indükleyicileri olduğu gösterilmiştir (Bapiro ve ark. 2002; Roymans ve ark. 2004; Yoshinari ve ark. 2008; Sugiyama ve ark. 2016).

Faz I metabolik enzim olan CYP1A1, ksenobiyotik metabolizmasında önemlidir ve kanser riski biyobelirteçleri olarak kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. CYP1A1 polimorfiktir ve dört varyantı bulunmaktadır. Bunlar; CYP1A1 \* 2 A, CYP1A1 \* 2C, CYP1A1 \* 3 ve CYP1A1 \* 4 iken diğer isimleriyle sırasıyla m1, m2, m3 ve m4 olarak belirlenmiş ve kanser ile bağlantıları incelenmiştir. CYP1A1 'in varyantlarının da kemoterapötik ilaçların yan etkileri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak bu çalışmaların sonuçları, örneklem büyüklüğünün küçük olması ve istatistiksel güç eksikliği nedeniyle büyük ölçüde çelişkili kalmıştır (Nakamura ve ark. 2005).

En iyi bilinen CYP1A inhibitörleri, *in vitro* olarak yaygın kullanılan 7-hidroksiflavon ve  $\alpha$ -naftoflavondur (Bapiro ve ark. 2002; Roymans ve ark. 2004; Yoshinari ve ark. 2008; Sugiyama ve ark. 2016). Güçlü bir CYP3A4 ve P-glikoprotein inhibitörü olan Ketokonazol'un de önemli bir şekilde CYP1A1'i inhibe ettiği gösterilmiştir (Paine ve ark. 1999). Bazı ilaçların ise (örneğin Amiodaron, Karbamazepin, Duloksetin, İzoniazid, Resveratrol ve Rofekoksib) kendisi veya metabolitlerinin CYP enzimlerine geri dönüşümsüz olarak bağlanarak enzimi inhibe ettiği tanımlanmıştır (Zhou ve ark. 2010). CYP1A1' in çeşitli bileşikler tarafından inhibe edilebildiği ve indüklenebildiği *invitro* deneylerde gösterilmiş olmasına rağmen, spesifik CYP1A1 inhibisyonu veya indüksiyonu ile ilişkili klinik ilaç-ilaç etkileşimi bildirilmemiştir.

CYP1A2 esas olarak karaciğerde eksprese edilir ve sigara içimi ile indüklenir (Eichelbaum ve ark.1979). Aynı zamanda turpgillerden olan sebzeler gibi bazı gıda maddelerinin yanı sıra mangalda veya kömürde pişirilmiş yiyeceklerin yenmesi ile de indüklenir (Brásen ve ark. 1989). Omeprazol gibi bazı ilaçlar CYP1A2 aktivitesini indükleyebilir (Meyer ve ark. 1990).

CYP1A2 tarafından metabolize edildiği bilinen ilaçlar Teofilin, Kafein, İmipramin, Parasetamol ve Fenasetindir (Eichelbaum ve ark. 1990). CYP1A2 aktivitesindeki değişiklik, örneğin sigara içilmesi, astımlılarda Teofilin (Lennard ve ark. 1990) ve psikiyatri hastalarında Haloperidol alınması (Gonzalez ve ark. 1991), gereksinimlerini değiştirebilir. Kafein metabolizması sigara ile indüklenir ve bu nedenle sigara içenlerde Kafeine tolerans artışı olduğu gösterilmiştir (Okuda ve ark. 1997).

#### **2.4.2. CYP3A Enzimleri**

CYP3A4, 120'den fazla farklı ilacın parçalanmasından sorumlu olan, insanda en bol eksprese edilen enzim olup ilaçların yaklaşık % 45-55 'inin metabolizmasına katkıda bulunur ve bu nedenle enzim bazlı ilaç etkileşimleri açısından önemli bir çalışma alanıdır.

Karaciğerdeki CYP3A4 enziminin miktarları, bireyler arasında 20 kattan fazla değişkenlik gösterebilir. CYP3A4 barsak epitel hücrelerinde de bulunur; burada bireyler arasındaki miktarın değişkenliği de benzer şekilde olmakla birlikte genetik polimorfizme bağlı değişkenlik de bireyler arasındaki enzim miktarı ve etkinliğini değiştirmektedir (Kayaalp 2012. Cilt1, Sayfa 46 – 49).

CYP3A4 ile metabolize edilen ilaçlar arasında Midazolam, Triazolam ve Diazepam gibi sedatifler, Amitriptilin ve İmipramin gibi antidepresanlar, Amiodaron, Kinidin, Propafenon ve Disopiramid gibi antiaritmikler, Terfenadin, Astimemizol, Loratidin gibi antihistaminikler, Diltiazem ve Nifedipin gibi çeşitli kalsiyum kanal blokörleri, çeşitli antimikrobiyaller ve proteaz inhibitörleri yer alır (Bertilsson ve ark. 1992).

Aminoglutetimid, Barbitüratlar, Deksametazon ve diğer birtakım Kortikosteroidler, Fenitoin, Griseofulvin, Karbamazepin, Pioglitazon, Rifampisin ve Rifobutin, CYP3A4 'ün iyi bilinen indükleyicileridir. Antidepresanlar (Fluvoksamin, Nefazodon), azol antifungaller ( İtrakonazol, Ketakonazol, Mikonazol, Oksikonazol, Flukonazol), Danazol, Eritromisinler, Etinil - Estradiol, bazı kortikosteroidler (Metilprednizolon, Prednizolon), greyfrut suyu, kırmızı şarap, İzoniazid, kalsiyum kanal blokörleri (Nifedipin, Nikardipin, Diltiazem, Verapamil), Kinin ve Norfloksasin ise CYP3A4'ün inhibitörleri arasında yer alır (Kayaalp 2012. Cilt1, Sayfa 46 – 49).

#### **2.4.3. İlaç Etkileşimlerinde CYP Enzimlerinin Rolü**

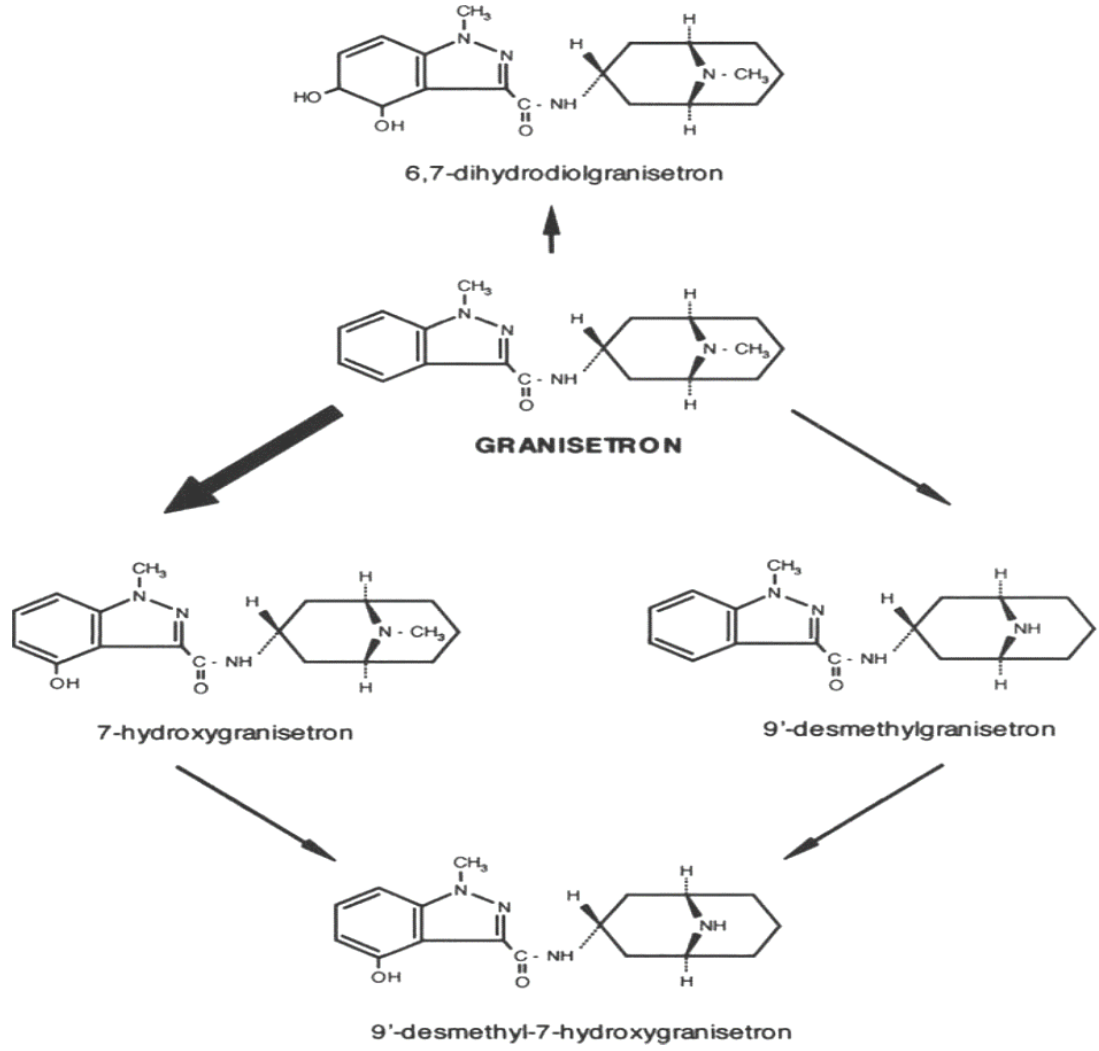
Birçok ilacın oral biyoyararlanımı, insan bağırsağı ve karaciğerde gerçekleşen ilk geçiş metabolizması ile belirlenir. Bu bağlamda uygulanan dozun büyük bir kısmı, intestinal ve hepatik Faz I ve/veya Faz II reaksiyonları ile metabolize edilmektedir. Sitokrom p450 enzimleri Faz I enzimlerinin önemli bir grubunu oluşturur ve klinik olarak reçetelenen ilaçların %90 'ından fazlasının

metabolizmasından sorumludur. Bu enzimlerin inhibisyonu veya indüksiyonu, ilacın metabolizmasını değiştirmektedir. Enzim inhibisyonuna bağlı olarak ilacın plazma düzeyi ve yan etkileri artabilir ya da enzimin indüksiyonuna bağlı olarak plazmada subterapötik ilaç seviyeleri oluşabilir (Tanaka ve ark. 1988; Palleria 2013). p450 izozimlerinin ortak substratları, inhibitörleri ve indükleyicileri mevcuttur. Çoklu ilaç tedavilerinin giderek daha fazla kullanılması sonucu enzim inhibisyonu ya da indüksiyonuna bağlı ilaç-ilac etkileşimleri daha sık ortaya çıkmaktadır.

İlaç-ilac etkileşimleri, ilaç tedavisinin güvenilirliği açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Birçok ilaç-ilac etkileşimi, karaciğerde ve karaciğer dışı dokularda bulunan metabolik enzimlerdeki değişikliklerle açıklanabilmektedir. Birlikte uygulanan ilaçlardan bazıları güçlü enzim indükleyicileri olarak hareket ederken diğerleri inhibitör etki gösterebilir. Enzim inhibisyonu ile ilgili çalışmalar çok daha yaygındır (Hakkola ve ark. 2020). Çoklu ilaç tedavisi yapılırken enzim inhibisyonu veya indüksiyon mekanizmalarının dikkate alınması hasta güvenliğinin sağlanması açısından son derece önemlidir. Gelecekte ilaç etkileşimleri ve yan etkiler açısından en yüksek risk altında olan bireylerin belirlenmesine yardımcı olabilir (Bibi 2008).

#### **2.4.4. Granisetron Metabolizmasında CYP Enzimlerinin Rolü**

Granisetron, sitokrom P450 mono-oksijenaz enzimleri ile metabolize edilmektedir. İnsana oral veya intravenöz yolla verilen dozun yaklaşık %10'u değişmeden atılmakta, geri kalan kısım hidrosilasyon veya N-demetilasyon yollarıyla metabolize edilmektedir. İnsanlarda Granisetron'un majör metabolitinin 7 - hidroksigranisetron olduğu ve ayrıca: 9'- desmetil-granisetron, 9'-desmetil-7-hidroksigranisetron ve 6,7 - dihidroiolgranisetron 'un da oluştuğu gösterilmiştir (Şekil 2.1) (Clarke ve ark. 1994; Nakamura ve ark. 2005).



**Şekil 2.1.** Granisetron Metabolizması

Bloomer ve arkadaşlarının (1994), insan karaciğer mikrozoamlarında yaptığı bir çalışmada Granisetron metabolizması üzerinde etkili olan insan Sitokrom p450 enzim sisteminin spesifik formları araştırılmıştır. Çalışmada Granisetron'un insan karaciğer mikrozoamları ile inkübasyonunu takiben başlıca metabolizma ürünleri olarak 7-hidroksi ve 9'-desmetil Granisetron tanımlanmış ve metabolizmada baskın oksidatif yolun substrat konsantrasyonuna bağlı olduğu yayınlanmıştır. Granisetron'un 5 µM'dan daha yüksek konsantrasyonlarda major metaboliti 9'-desmetil granisetron iken; klinik olarak anlamlı miktardaki düşük konsantrasyonlarında 7-hidroksi metaboliti daha fazla oluşmaktadır. Araştırmacılar, CYP3A4 enziminin ise ikincil metabolik reaksiyon olan 9'-demetilasyon yolağının ana katalizörü olduğunu ve bu CYP izoformunun, insan karaciğer mikrozoamlarını

kullanan inhibisyon çalışmalarına ve korelasyon çalışmalarına dayanan bazı 7-hidroksilasyon reaksiyonlarında yer alabileceğini bildirmişlerdir.

Nakamura ve ark. (2005), 7-hidroksilasyondan sorumlu ana CYP izoformlarını araştırmak için, Beyaz Irk ve Japonlardan temin edilen karaciğer mikrozoamlarından böceklere eksprese edilen 16 farklı örnekte CYP izoformlarını çalışmıştır. Sonuçta, 7 - hidroksi granisetronun genellikle sadece CYP1A1 tarafından oluşturulduğu, 9'- desmetilgranisetronun ise CYP3A4 tarafından üretildiği saptanmış, insan karaciğer mikrozoamlarında 7-hidroksigranisetron ve 9'-desmetilgranisetron oluşum oranında belirgin bireysel farklılıklar gözlenmiştir. Bu veriler, CYP1A1'in 7-hidroksilasyon yolu ve alternatif 9'-demetilasyon yoluyla Granisetron metabolizmasından sorumlu önemli bir enzim olduğunu göstermektedir.

## **2.5. Farmakogenetik**

Bazı kişilerde genetik yapıdaki değişikliğe bağlı olarak belirli protein tiplerinin, bu arada enzimlerin yapısının bozulduğu ya da eksik oldukları ve bunun sonucunda da bazı metabolik hastalıkların oluştuğu eskiden beri bilinmektedir. İlaçların eliminasyonu da büyük ölçüde, enzimler aracılığı ile yapılan metabolik değişmelere bağlı olduğundan genetik yapıdaki değişiklikler, bazı kişilerde ilaçların farmakokinetiğinde anormal değişmelere neden olabilmektedir. Farmakogenetik, ilaç kinetiğinin ve hastaların ilaçlara verdiği yanıtın genetik yapıya göre bireyler ve etnik gruplar arasında değişmesi ile uğraşan bir bilim dalıdır (Kayaalp Tıbbi Farmakoloji, Cilt 1, Sayfa 123).

Farmakogenetik, ilaç yanıtındaki çok-gen ile yönetilen (Multigenik) belirleyicileri saptamak için tüm genomu incelemeye yönelik gereçler kullanan farmakogenomiği de içerir. Birey yaklaşık her 300 – 1000 nükleotidde bir olarak birbirinden fark gösterir ve toplam 10 milyon adet tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphisms - SNP'ler; bir toplumda >% 1 sıklıkta bulunan tek baz çifti yer değiştirmeleri) ve genomda binlerce değişken kopya olduğuna tahmin edilmektedir. Modern farmakogenetiğin görevi, bu varyantlardan ya da varyant kombinasyonlarından hangilerinin işlevsel sonuçlarının ilaç tesirlerinde etkili olduğunu tanımlamaktır.

### **2.5.1. İlaç Yanıtındaki Değişkenlikte Farmakogenetiğin Önemi**

İlaç yanıtı, bir gen-çevre etkileşmesi fenotipi olarak değerlendirilir. Bir bireyin bir ilaca verdiği yanıt; diyet, yaş, enfeksiyonlar, ilaçlar, egzersiz düzeyi, meslek, toksinlere maruz kalımı, tütün ve alkol kullanımı gibi çevresel, cinsiyet, ilaç taşıyıcısı varyantları, eksprese edilen ilaç metabolize edici enzimler gibi genetik etkenler arasındaki etkileşime bağlıdır. Bu nedenle ilaç yanıtındaki değişkenlikler, çevresel ve genetik etkenlerdeki değişkenliklerle açıklanabilir.

İlaç eliminasyon hızının genetik yapıya göre değişmesinin ana nedeni, ilaç metabolizmasında rol alan enzimlerin sentez hızının ve/veya niteliğinin genetik polimorfizm göstermesidir. Enzim polimorfizmi, o enzimi sentez ettiren genin noksan veya inaktif olması şeklindeyse, bu enzim üzerinden olan ilaç metabolizması meydana gelmez. Eğer enzim sentezi azalmış ise ilaçların metabolizma hızı da azalmıştır. Diğer bir durum, genetik polimorfizmin sentez hızına dokunmaksızın sentez edilen enzimde fonksiyonel bozukluğa yol açmasıdır; bu durumda ilacın substrata özgülüğü değişir. İlaçların metabolizmasından sorumlu olan enzimlerin sentezinin veya yapısının bozulmuş olduğu fenotipe yavaş metabolizör, normal olduğu fenotipe ise hızlı metabolizör adı verilir. Yavaş metabolizörlerde ilaç eliminasyon hızı azalır, genellikle ilacın etkisi şiddetlenir ve toksik belirtiler ortaya çıkabilir. Bazen de gen duplikasyonu sonucu enzim aşırı miktarda oluşur ve substrat ilacın yıkılması çok hızlanır; bu özelliği gösteren bireylere ise çok hızlı metabolizör denilir. İlacın polimorf enzim varyantı ile metabolizma hızının azalması genellikle etkinin şiddetlenmesi ve toksik belirtilerin ortaya çıkması ile sonuçlanır (Kayaalp Tıbbi Farmakoloji, Cilt 1, Sayfa 124).

“Tek-genle yönetilen (Monogenik)” fenotipik özellikler için, genotipe dayanarak fenotipi öngörmek çoğu kez mümkündür. İlaç metabolize eden enzimlerdeki çeşitli genetik polimorfizmler tek-genle yönetilen özelliklere neden olmaktadır.

### **2.5.2. Tek Nükleotid Polimorfizmi**

Polimorfizm (çok-biçimlilik/mevcut popülasyonda farklı allellerin bulunması durumu), bir toplumda %1 veya daha yüksek bir alel sıklığında bulunan bir DNA dizisi değişkenliğidir. Dizi değişkenliğinin başlıca iki tipi insan fenotipindeki

değişkenlikle ilişkilendirilmiştir: SNP'ler ve ekleme / çıkarmalar (insersiyonlar / delesyonlar). Bir toplumda >%1 sıklıklarda bulunan tek baz çifti yer değiştirmeleri SNP olarak adlandırılır ve insanlar arasındaki en yaygın genetik varyasyon türüdür. Her bir SNP, nükleotid adı verilen tek bir DNA yapı bloğundaki bir farkı temsil eder. Örneğin bir SNP, belirli bir DNA uzantısında bir nükleotid sitozini (C), bir nükleotid timin (T) ile değiştirebilir.

SNP'ler normal olarak bir kişinin DNA'sında meydana gelir. Ortalama olarak her 1000 nükleotidde neredeyse bir kez meydana gelirler ve bu da bir kişinin genomunda yaklaşık 4 ila 5 milyon SNP olduğu anlamına gelir. Bu varyasyonlar benzersiz olabilir veya birçok kişide ortaya çıkabilir; dünya genelindeki popülasyonlarda 100 milyondan fazla SNP bulunmuştur. En yaygın olarak, bu varyasyonlar genler arasındaki DNA'da bulunur. Biyolojik belirteçler olarak hareket ederek araştırmacıların hastalıkla ilişkili genleri bulmalarına yardımcı olabilirler. SNP'ler bir gen içinde veya bir genin yakınında düzenleyici bir bölgede meydana geldiğinde, genin işlevini etkileyerek oluşacak hastalıkta daha doğrudan bir rol oynayabilir.

Çoğu SNP'nin sağlık veya gelişim üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Bununla birlikte bu genetik farklılıklardan bazılarının insan sağlığı çalışmasında çok önemli olduğu kanıtlanmıştır. Araştırmacılar, bir bireyin belirli ilaçlara tepkisini, toksinler gibi çevresel faktörlere duyarlılığını ve belirli hastalıkları geliştirme riskini tahmin etmeye yardımcı olabilecek SNP'ler bulmuşlardır. SNP'ler aynı zamanda aileler içindeki hastalık genlerinin kalıtımını izlemek için de kullanılabilir. Gelecekteki çalışmaların kalp hastalığı, diyabet ve kanser gibi karmaşık hastalıklarla ilişkili SNP'leri tanımlamak için yapılacağı öngörülmektedir.

### **2.5.3. Farmakogenetik Çalışma Tasarımı**

Bir farmakogenetik özellik, bir ilaçla ilişkili olan ölçülebilir veya fark edilebilir herhangi bir özelliktir. Dolayısıyla enzim etkinliği, plazmadaki veya idrardaki ilaç ya da metabolit düzeyleri, kan basıncının veya lipit düzeyinin bir ilaç tarafından azaltılması ve ilaçla oluşturulan gen ekspresyonu kalıpları farmakogenetik özelliklere örnektir. Bir özelliği (örn; enzim etkinliği) doğrudan ölçmek, tüm genlerin o özelliği etkileyen katkılarının net etkisini fenotipik ölçütte yansıtmaya avantajına

sahiptir. Ancak, genetik olmayan etkileri (örn; beslenme, ilaç etkileşimleri, diüurnal veya hormonal dalgalanma) de yansıtma dezavantajına sahiptir. Farmakogenetik özelliklerin çoğu monogenik olmaktan ziyade multigeniktir ve ilaç yanıtındaki değişkenliği etkileyen önemli polimorfizmleri tanımlamak için çok büyük çaba harcanmaktadır.

İnsan genlerindeki polimorfizmler ve mutasyonlar hakkında bilgi içeren çeşitli veritabanları mevcuttur. Bu veritabanları, bildirilen polimorfizmler hakkında araştırmacıya gen düzeyinde araştırma yapma olanağı sağlar. Bu veritabanlarının bazıları, örneğin Farmakogenetik ve Farmakogenomik Bilgi Tabanı (PharmGKB), genotip bilgilerinin yanında fenotip bilgilerini de kapsar.

Polimorfizmler iki gruba ayrılır. Bunların ilki kodlanan proteinin (örn., ilacı metabolize eden bir enzim veya ilaç reseptörü) ekspresyon düzeyini veya işlevini kendi içinde ve kendiliğinden değiştirmeyen polimorfizmlerdir. Bu polimorfizmler daha ziyade işlev değişikliği oluşturan varyant alel (ler)le bağlantılıdır. Polimorfizmin ikinci tipi, doğrudan fenotipi oluşturan nedensel polimorfizmdir. Örneğin, nedensel bir SNP, evrim boyunca yüksek düzeyde korunmuş bir yerdeki bir amino asit rezidüsünü değiştirebilir. Bu yer değişimi işlevsiz ya da işlevi azalmış bir protein ile sonuçlanabilir. Eğer belli bir polimorfizmin işlevi değiştirdiğini gösteren biyolojik bilgi mevcutsa, bu polimorfizm bir ilişkilendirme ve ilaç etkileşimi çalışmasında kullanılmak üzere mükemmel bir adaydır.

Polimorfizmlerin çoğu için henüz işlevsel bilgi yoktur. Bu nedenle, nedensel olma olasılığı bulunan polimorfizmleri seçmek için bir polimorfizmin bir proteinin ekspresyon düzeyinde veya proteinin işlevinde, kararlılığında veya hücre-altı yerleşiminde değişikliğe neden olup olmayabileceğini öngörmek önemlidir.

Tanımlanmış SNP'lerin sayısının giderek artmasıyla, SNP'lerin işlevsel sonuçlarını öngörmek için ölçüsel yöntemlerin gerektiği açıktır. Şu ana kadar, zararlı olma olasılığı bulunan aminoasit yer değiştirmelerini tanımlamak için bunu öngörececek algoritmalar geliştirilmiştir.

#### **2.5.4. Farmakogenetik Fenotipler**

Tedavi edici ve olumsuz yanıt (Yan etki) için aday genler 3 grupta toplanabilir; farmakogenetik, reseptör/ hedef ve hastalığın seyrini değiştiren genler.

Farmakokinetik değişmeler, bir ilacın farmakokinetiğinin belirleyicilerini, özellikle de metabolize edici enzimleri ve taşıyıcıları kodlayan genlerdeki eşey-dizisi değişkenliği, ilaç derişimlerini etkiler ve böylece tedavi edici ve olumsuz ilaç yanıtının başlıca belirleyicileri olurlar. Tek bir ilacın farmakokinetiğinde pek çok enzim ve taşıyıcı görev alabilir, ilaç metabolize edici enzimlerdeki çeşitli polimorfizmlerin, tek-genle yönetilen (monogenik) fenotipik özellik değişkenlikleri olduğu keşfedilmiştir.

### **2.5.5. İlaç Reseptörü / Hedefindeki Değişmeler**

İlaçlar için doğrudan hedef olan gen ürünleri farmakogenetikte önemli role sahiptir. Bazı genlerde belirgin işlevsel sonuçlar oluşturan yüksek genetik geçişli (penetran) varyantlar, negatif seçici baskınlığı sunan hastalık fenotiplerine neden olabilir, aynı genlerdeki daha hafif değişkenlikler toplumda herhangi bir hastalığa neden olmaksızın sürdürülebilir, fakat yine de ilaç yanıtında değişkenliğe neden olurlar.

### **2.6. Klinik Uygulamada Farmakogenetik**

Bir polimorfizmin klinik uygulamada yer alması için başlıca üç tür kanıt olmalıdır:

- 1- Polimorfizm ile fenotipik özellik arasında bağlantı olduğunu gösteren, çok sayıda insandan elde edilen doku taramaları,
- 2- Polimorfizmin olasılıkla fenotip ile bağlantılı olduğunu gösteren klinik öncesi tamamlayıcı işlevsel çalışmalar,
3. Çok sayıda destekleyici klinik fenotip / genotip ilişkilendirme çalışmaları.

İnsan genomunun moleküler analizi için birçok pahalı teknolojik yöntem gereksinim duyulmaktadır. Bu yöntemlerin bütçesi yüksek olan araştırmaların dışında kullanımı, yani rutinde ve klinikte hastaların tanısında kullanımının zor olması, hastaların tedavisine yardımcı olabilmemizi kısıtlamaktadır. Bu yüzden her geçen gün maliyeti düşürmek için tanı ve tedaviye yönelik yeni analiz yöntemleri

geliştirilmektedir. Fakat doğru ve güvenilir yöntemlerin tanımlanması ve kullanılması bu hastalar için oldukça önemlidir.

## 2.7. Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi

Moleküler tanıda son derece önemli olan Yüksek Çözünürlüklü Erime (High Resolution Melting- HRM) analizi HRM kapalı tüp sisteminde, Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PZR; PCR) dayalı genetik varyasyonları belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Kısaca PZR, dizisi bilinen özgün bir DNA bölgesinin, in-vitro koşullarda enzimatik olarak çoğaltılması (amplifiye edilmesi) için kullanılan bir tekniktir. RT-PCR 'a dayalı HRM analizi ise; çift sarmallı DNA örneklerindeki mutasyonların, polimorfizmlerin ve epigenetik farklılıkların tespiti için moleküler biyolojide kullanılan güçlü bir tekniktir. Bu amaçlarla kullanımının yanı sıra tek nokta mutasyonlarını belirleme, patojen belirleme, DNA hasarı belirleme, metilasyon tespiti, SNP analizi, kromozom bozukluklarının tespiti gibi çalışmalarda da kullanım alanları mevcuttur. HRM'nin çalışma prensibi, nükleik asit örneklerinin erime sıcaklığı noktasına dayanmaktadır. Çift zincirli DNA 'nın denatürasyonu ve de erime sıcaklığının artmasıyla oluşan floresan değişikliklerin saptanmasıyla belirlenir. Wild Tip ve heterozigot örneklerinin farklılıkları, erime grafiklerinde kolaylıkla saptanabilmektedir. Bu yöntemde, erime eğrisi analiziyle daha fazla bilgi ve detay elde edilebilmektedir.

HRM analizi, örneklerin sekans, uzunluk, Guanin-Sitozin (GC) içeriğine göre ayrımını yapabilmektedir. Popülasyonda yaygın görülen tek nükleotit değişikliklerinin (SNP) tespiti, hastalıklarla ilişkili gen mutasyon taramaları ve DNA metilasyon analizleri, HRM yöntemi ile hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanabilmektedir. PZR ürünlerindeki nükleotit dizi değişimleri ve çeşitli varyasyonlar, DNA erime eğrisi şekilleriyle HRM yönteminde saptanabilmektedir. Kombine yeni nesil DNA boyaları ve geliştirilen gen tarama yazılımları sayesinde güçlü analiz yapabilme kapasitesinin yanı sıra kolay uygulanabilirliği ve düşük maliyetli olma özelliği ile gerçek zamanlı HRM yöntemi pek çok klinik uygulamada ön plana çıkmaktadır.

HRM yöntemi, moleküler biyoloji çalışmalarında mutasyon (bilinen/bilinmeyen), polimorfizm, epigenetik ve epidemiyolojik alandaki

uygulamalar için güvenilir ve güçlü bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntem diğer genotipleme tekniklerine kıyasla özellikle çok verimli olması, basit çalışma prensibi, hızlı ve güçlü analiz imkânı vermesiyle birçok avantajı yapısında barındırmaktadır. En önemli özelliklerinden biri de kontaminasyon riskinin az olmasıdır ve düşük maliyet, kullanım kolaylığı, yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olması da HRM yönteminin kullanımını yaygınlaştıracaktır (Dirican ve ark. 2017).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Çalışma Popülasyonu**

Bu proje Necmettin Erbakan Üniversitesi (NEÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. NEU Meram Tıp Fakültesi ve KTO Karatay Üniversitesi Medica Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Kliniğine başvuran hastalardan aşağıda belirtilen dışlama kriterlerine göre uygun olanlar seçilmiş ve onamları alınarak çalışmaya başlanmıştır. Çalışmaya daha önceden kemoterapi almamış,  $\geq 18$  yaş ve Karnofsky Performans Skalası  $\geq$  % 50 olan; Sisplatin bazlı tek ajan veya kombinasyon kemoterapisi olarak 50 mg/m<sup>2</sup> ya da üzerindeki dozlarda kemoterapötik ajan alan hastalar alınmıştır. Bu hastalara Cisplatin öncesi bulantı - kusmayı önleme amaçlı premedikasyonda intravenöz olarak Granisetron (3 mg) ve Deksmetazon (8 mg) uygulanmıştır. Hastalarda gecikmiş bulantı - kusmanın önlenmesi amacıyla kemoterapi sonrası 4 gün daha Granisetron oral yolla kullanılmaya devam edilmiştir. Dışlama kriterlerinin, geniş çaplı ve bulantı ve/veya kusmaya neden olacak birçok durumu kapsamış olması nedeniyle; çoğunlukla genel durumu iyi, çoklu ilaç kullanımı ve ek hastalığı fazla olmayan hastalar çalışmamızda yer almıştır.

#### **3.2. Dışlama Kriterleri**

Kemoterapiden 24 saat öncesinde bulantı - kusmanın olması, benzodiazepin ya da nöroleptik gibi diğer antiemetik ilaç kullanılması, kemoterapiden önceki 24 saat içinde radyoterapi alınmış olması, son 2 hafta içinde opioid kullanılmış olması, bulantı - kusmaya yol açabilecek eşlik eden hastalıkları (Üst GIS ülserasyonları veya obstrüksiyonları, ALT/AST' nin metastaz olmaksızın üst sınırın 2,5 katından yüksek olması ve metastazı bulunanlarda ise 5 katından yüksek olması, kreatinin klirensinin 60 ml/dk'nın altında olduğu böbrek yetmezlikleri, beyin metastazları) olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

### **3.3. Bulantı - Kusma Değerlendirmesi**

Her hasta günlük olarak sitotoksik ilaç başlangıcından itibaren 5 gün boyunca takip edilmiştir. CINV şiddetini değerlendirmek için hastalara FLIE işlevsel indeksi skalası kullanılmıştır.

### **3.4.Moleküler Yöntemler**

#### **3.4.1 DNA İzolasyonu**

Bu tez projesinde, tedavinin hemen öncesinde çalışmaya uygun 50 hastadan alınan kan örneklerinden izole edilen DNA örnekleri kullanılmıştır. Kan örneklerinden DNA izolasyonu, üretici firmanın (GeneAll; Exgene Blood SV, Katalog no: 105-326) talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 1.5 ml tüp içerisine 20 µl Proteinase K eklenmiş ve üzerine 250 µl tam kan ilave edilmiştir. Ardından tüp içerisine 20 µl RNase A eklenmiş ve pipetleme yapılmıştır. Oda sıcaklığında 2 dakika bekletildikten sonra tüp üzerine 200 µl BL Buffer eklenmiş ve tüp 56°C 'de 10 dakika inkübasyonda bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası tüp üzerine 200 µl absolute etanol eklenmiş ve tüp içeriği kolona aktarılarak 10,000 rpm'de 2 dakika santrifüjde bırakılmıştır. Santrifüj sonrası kolona 600µl BW Buffer eklenmiş ve 10,000 rpm 'de 2 dakika santrifüj uygulanmıştır. Sonrasında toplama tüpü yenilenmiş ve 700 µl TW Buffer eklenerek 10,000 rpm'de 2 dakika daha santrifüjde kalmıştır. Santrifüj işlemi 14,000 rpm'de 2 dakika olacak şekilde tekrarlanmıştır. Son olarak karışım temiz ve etiketlenmiş tüp içerisine alınmış ve üzerine 60 µl AE Buffer eklenmiştir. 14,000 rpm 'de 2 dakikalık santrifüj işleminin ardından DNA izolasyonu yapılmıştır. Saflığı ve konsantrasyonları belirlenen DNA örnekleri analizlerde kullanılmak üzere +4°C 'de muhafaza edilmiştir.

#### **3.4.2. DNA Saflık Tayini**

Vakalardan izole edilen DNA kalitesi ve miktar tayini için spektrofotometrik ölçüm yapabilen Nanodrop cihazı kullanıldı. Kontaminasyonu önlemek için 0,5 ml stok DNA' dan 0,1 ml' lik 50-100 ng/ml konsantrasyonda olacak şekilde çalışma stoğu hazırlandı ve tekrar Nanodrop cihazında ölçüm yapıldı. 260 nm OD (Optik Dansite) ölçümünün 280 nm OD ölçümüne oranı bize

DNA'da protein ya da RNA kontaminasyonu olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir. A260 / A280 oranının 1,8 ile 2,0 arasında olması beklenir. OD'nin 2,0'nin üzerinde olması RNA kontaminasyonuna ve 1,8'in altında olması da protein kontaminasyonuna işaret eder (Heaton ve Keer 2008). Kullanılacak DNA oranları saf değerleri gösterdiği için 1,8 -1,9 olarak ölçüldü ve doğrudan PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) uygulamasına geçildi.

### 3.4.3. PZR-RFLP Yöntemi İle Polimorfizm Analizi

Mutasyon ve polimorfizm tarama tekniklerinin birçoğu PZR/PCR temellidir. PZR-RFLP tekniği; PCR'ın ardından restriksiyon enzimlerinin kullanılmasıyla mutasyon taranmasıdır. Restriksiyon enzimleri, DNA'da özgün dizileri tanır ve o noktadaki fosfodiester bağına keserler. PZR işlemi ardından enzim kesimi sonrası; elektroforez jeldeki band profili görünümü son derece önemlidir. Örneğin, daha küçük 2 band oluşuyorsa homozigot normal, PZR ürünü kesilmeden kalıyorsa homozigot mutant, 3 band görülüyorsa (normal ve mutanttan kaynaklanan) heterozigot bir bireydir denilmektedir. Bu çalışmada, CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943), CYP3A4\*22 (rs35599367) polimorfizmleri PZR - RFLP (Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bunun için ilgili bölgelere uygun primerler (Tablo 3.1) kullanılarak PCR / PZR 2X Master (WizPure™, Katalog no: W1401) ile PZR karışımı hazırlanmıştır (Tablo 3.2).

**Tablo 3.1.** Hedef Bölgelere Yönelik Primer Dizileri.

<b>Polimorfizm</b>	<b>Primer Dizileri</b>
CYP1A1*2A (rs4646903)	F:5'-AGAGAGGGCGTAAGTCAGCA-3' R:5'-ACCCATTCTGTGTTGGGTT-3'
CYP1A1*2C (rs1048943)	F:5'-GGCAGGATCCCTTAGGCTTG-3' R:5'-TTTCTCACCCCTGATGGTGC-3'
CYP3A4*22 (rs35599367)	F:5'-CCAAAGACGCTGAGTGGAGA-3' R:5'-GTGCTGAAGAGGAATCGGCT-3'

**Tablo 3.2.** PZR İçin Hazırlanan Reaksiyon Karışımı.

<b>Reaksiyon Bileşeni</b>	<b>Hacim</b>
PCR 2X Master	10 µl
İleri primer	0,5 µl
Geri primer	0,5 µl
DNA (50 ng/µl)	2 µl
dH <sub>2</sub> O	7 µl
Toplam	20 µl

Tablo 3.2'ye göre hazırlanan karışım, PZR tüplerine aktarılmış ve ısı döngülü cihaza yerleştirilmiştir. Örneklere denatürasyon, amplifikasyon ve sonlanma basamaklarından oluşan PZR protokolü uygulanmıştır (Tablo 3.3).

**Tablo 3.3.** PZR Protokolü.

<b>Denatürasyon</b>	94°C'de 5 d
<b>Amplifikasyon (30 döngü)</b>	94°C'de 30 sn 60°C'de 30 sn 72°C'de 30 sn
<b>Sonlanma</b>	72°C'de 5 dk +4°C'de ∞

PZR ürünleri elde edildikten sonra RFLP aşamasına geçilmiştir. Polimorfizm bölgelerine yönelik kullanılan kesim enzimlerinin markası, adı ve katalog numarası Tablo 3.4' de belirtilmiştir.

**Tablo 3.4.** RFLP Analizinde Kullanılan Kesim Enzimleri.

<b>Polimorfizm</b>	<b>Enzimin Adı</b>	<b>Marka-Katalog No</b>
CYP1A1*2A (rs4646903)	AvaI	New England Bioloabs, R0618S
CYP1A1*2C (rs1048943)	HpyCH4III	New England Bioloabs, R3510S
CYP3A4*22 (rs3559967)	DraIII	New England Bioloabs, R0152S

Her bir bölge için yukarıdaki kesim enzimleri kullanılarak reaksiyon karışımları hazırlanmıştır (Tablo 3.5). Reaksiyon karışımları hazırlandıktan sonra RFLP reaksiyonuna geçilmiştir. RFLP analizi için kullanılan reaksiyon koşulları Tablo 3.6’da belirtilmiştir.

**Tablo 3.5.** RFLP Analizi İçin Oluşturulan Reaksiyon Karışımı.

<b>Reaksiyon Bileşeni</b>	<b>Hacim</b>
Kesim enzimi	1 µl
10X NEBuffer	5 µl
PZR ürünü	4 µl
dH <sub>2</sub> O	40 µl
Toplam	50 µl

**Tablo 3.6.** RFLP Analizi Reaksiyon Koşulları.

	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü</b>
İnkübasyon 1	37	8 saat	1
İnkübasyon 2	65	20 dk	1
İnkübasyon 3	4	-	1

RFLP reaksiyonu tamamlandıktan sonra ürünler %2 agaroz jelde 110V, 45 dakika koşullarında yürütülmüştür. Elektroforez sonrası elde edilen görüntülerdeki band büyüklükleri değerlendirilerek örneklerin her bir polimorfizm bölgesi için genotiplendirilmesi yapılmıştır.

#### **3.4.4. HRM Yöntemi İle Polimorfizm Analizi**

Çalışmada, CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943) CYP3A4\*22 (rs35599367) polimorfizmlerin belirlenmesinde PZR tabanlı RFLP tekniğinin yanı sıra gen polimorfizmlerinin validasyon amaçlı gerçek zamanlı PZR’a dayalı HRM tekniği de kullanılmıştır. Reaksiyon, HRM analizine imkân sağlayan BioRad Precision Melt Supermix (Katalog no:172-5110) kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Analizi için her bir bölgeye özgü primerler (Tablo 3.1) kullanılarak Tablo 3.7’de gösterilen reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

**Tablo 3.7.** HRM Analizi İçin Hazırlanan Reaksiyon Karışımı.

<b>Reaksiyon Bileşeni</b>	<b>Hacim</b>
Precision Melt Supermix (2X)	10 µl
İleri primer (50 µM)	0,25 µl
Geri primer (50 µM)	0,25 µl
DNA (50 ng/µl)	2 µl
dH <sub>2</sub> O	7,5 µl
Toplam	20 µl

Tablo.3.7 'ye göre hazırlanan karışım PZR tüplerine aktarılmış ve tüpler gerçek zamanlı PZR Sistemi / Biorad CFX Connect cihazına yerleştirilmiştir. Örneklere HRM protokolü olarak denatürasyon, amplifikasyon ve melt basamakları uygulanmıştır (Tablo 8.8). Reaksiyon sonunda BioRad Precision Melt Analiz programı kullanılarak her bir hedef bölgenin ilgili polimorfizm açısından analizi gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 3.8.** HRM (Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi) Protokolü.

Denatürasyon	95°C’de 10 dk
Amplifikasyon (35 döngü)	95°C’de 30 sn
	60°C’de 30 sn
	72°C’de 30 sn
Melting	95°C’de 30 sn
	60°C’de 1 dk
	65-95°C 0,2°C artarak

Erime (Melting) sırasında, DNA'nın 260 nm' deki absorpsiyonu (OD260) izlenir ve sıcaklığa karşı grafiğe geçirilse, DNA'nın erime profili elde edilir. Bu

profilin ya da eğrinin orta noktasına erime sıcaklığı (T<sub>m</sub>) denir ve DNA zincirinin %50'sinin açılmış ya da denatüre olduğu noktayı göstermektedir.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Veriler ortalama + / - SE şeklinde ifade edilmiştir. Analizlere geçmeden önce bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanlarının normal dağılıma uygunluğu test edilmiştir. Kolmogorov – Smirnow testinin sonuçlarına göre normal dağılım göstermeyen her üç puan için parametrik olmayan testlerden Kruskal – Wallis testi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farkın p değeri 0,05'den küçük olması durumunda anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

**Tablo 4.1.** Hasta Özellikleri.

Hasta no	Yaş	Cinsiyet	Tam	Aldığı Kemoterapötikler	Sisplatin Dozu (mg/m <sup>2</sup> )
1	63	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, VİNORELBİN	75
2	63	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
3	60	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	80
4	59	E	Non-Hodgkin Lenfoma	SİSPLATİN, RUTİKSİMAB, GEMSİTABİNE	75
5	62	K	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	50
6	46	K	Meme Ca	SİSPLATİN, DOSETAKSEL	75
7	59	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, DOSETAKSEL	75
8	58	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
9	55	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
10	65	K	Meme Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
11	65	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	75
12	64	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
13	51	E	Mesane Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
14	54	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, DOSETAKSEL	75
15	65	E	Malign Mezotelyoma	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
16	65	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
17	51	E	Nazofarenks Ca	SİSPLATİN	100
18					
19					
20	63	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	120
21	49	K	Meme Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
22	59	K	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	80
23	35	K	Meme Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
24	59	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
25	50	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	80
26	40	E	Sürrrenal Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	60
27	60	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	130
28	60	E	Akciğer ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	70
29	60	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	70
30	64	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
31	56	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	70
32	53	E	Safra kesesi Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
33	65	K	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
34	57	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
35	56	K	Meme Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
36	64	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
37					
38	63	E	Akciğer ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
39	52	E	Akciğer ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
40	61	E	Safra kesesi Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
41	49	E	Akciğer ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
42	65	E	Mesane Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
43	61	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	70
44	53	E	Akciğer ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
45	49	E	Mesane Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70
46	61	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, DOSETAKSEL	
47	38	K	Akciğer Ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
48	59	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, DOSETAKSEL	75
49	60	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	75
50	60	E	Akciğer ca	SİSPLATİN, PEMETREXED	75
51	59	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	120
52					
53	64	E	Akciğer Ca	SİSPLATİN, ETOPOSİD	70
54	56	E	Mesane Ca	SİSPLATİN, GEMSİTABİN	70

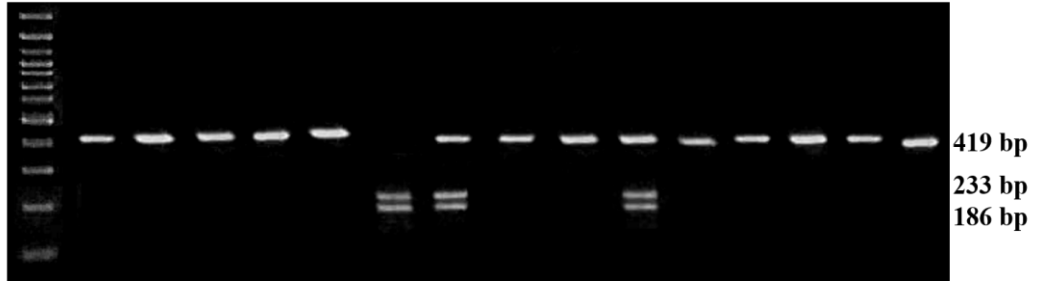
54 hastadan örnek alınmış ancak 4 hasta (18, 19, 37, 52 no'lu hastalar) anket çalışmasına devam etmediği için çalışma dışı bırakılmıştır.

#### 4.1. PZR-RFLP Sonuçları

CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943) CYP3A4\*22 (rs35599367) polimorfizmleri, PZR-RFLP yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu amaçla bölgeye özgü primerler ile PZR gerçekleştirildikten sonra yine bölgeye özgü kesim enzimleri kullanılarak kesim yapılmıştır. Kesim ürünlerinin agaroz jelde değerlendirilmesi ile örnekler ilgili polimorfizmler açısından genotiplendirilmiştir.

CYP1A1\*2A (rs4646903) polimorfizmi için hedef bölgeye özgü primerler ile gerçekleştirilen PZR sonrası oluşan ürün 419 bp'dir. *Ava*I enzimi ile kesilen PZR ürününe agaroz jel elektroforezi yapılmış ve elde edilen görüntülerde band büyüklükleri değerlendirilmiştir. Buna göre band büyüklüğünün 419 bp olması durumunda örnek Wild Tip (AA), 233 ve 186 bp olmak üzere 2 bandın görünmesi durumunda örnek homozigot (GG), 419 - 233 ve 186 bp olmak üzere 3 bandın varlığında ise örnek heterozigot (AG) olarak değerlendirilmiştir.

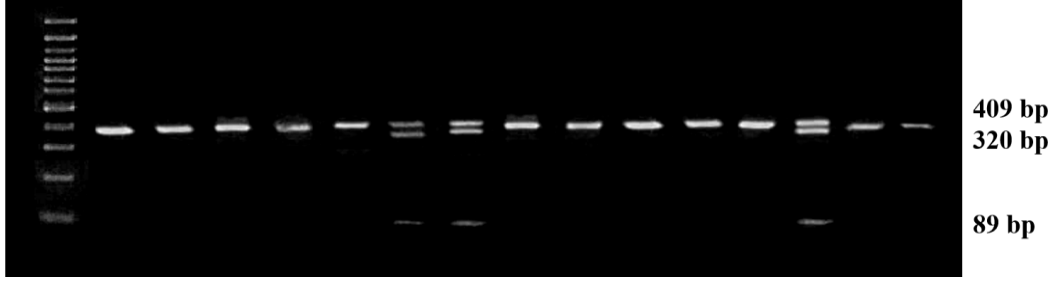
##### Marker-100 bp



Şekil 4.1. CYP1A1\*2A (rs4646903) polimorfizmi için örnek PZR-RFLP jel görüntüsü

CYP1A1\*2C (rs1048943) polimorfizmi için hedef bölgeye özgü primerler ile gerçekleştirilen PZR sonrası oluşan ürün 409 bp 'dir. *Hpy*CH4III enzimi ile kesilen PZR ürününe agaroz jel elektroforezi yapılmış ve elde edilen görüntülerde band büyüklükleri değerlendirilmiştir. Buna göre band büyüklüğünün 409 bp olması durumunda örnek Wild Tip (TT), 320 ve 89 bp olmak üzere 2 bandın görünmesi durumunda örnek homozigot (CC), 409-320 ve 89 bp olmak üzere 3 bandın varlığında ise örnek heterozigot (TC) olarak değerlendirilmiştir.

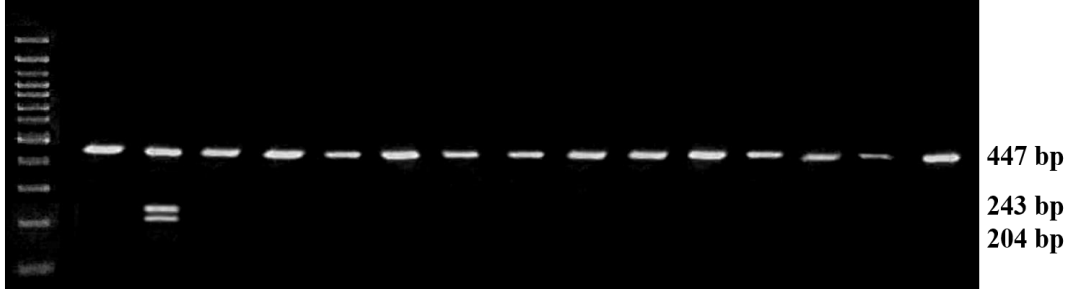
Marker-100 bp



Şekil 4.2. CYP1A1\*2C (rs1048943) polimorfizmi için örnek PZR-RFLP jel görüntüsü

CYP3A4\*22 (rs3559967) polimorfizmi için hedef bölgeye özgü primerler ile gerçekleştirilen PZR sonrası oluşan ürün 447 bp 'dir. DraIII enzimi ile kesilen PZR ürününe agaroz jel elektroforezi yapılmış ve elde edilen görüntülerde band büyüklükleri değerlendirilmiştir. Buna göre band büyüklüğünün 447 bp olması durumunda örnek Wild Tip (GG), 243 ve 204 bp olmak üzere 2 bandın görünmesi durumunda örnek homozigot (AA), 447-243 ve 204 bp olmak üzere 3 bandın varlığında ise örnek heterozigot (GA) olarak değerlendirilmiştir.

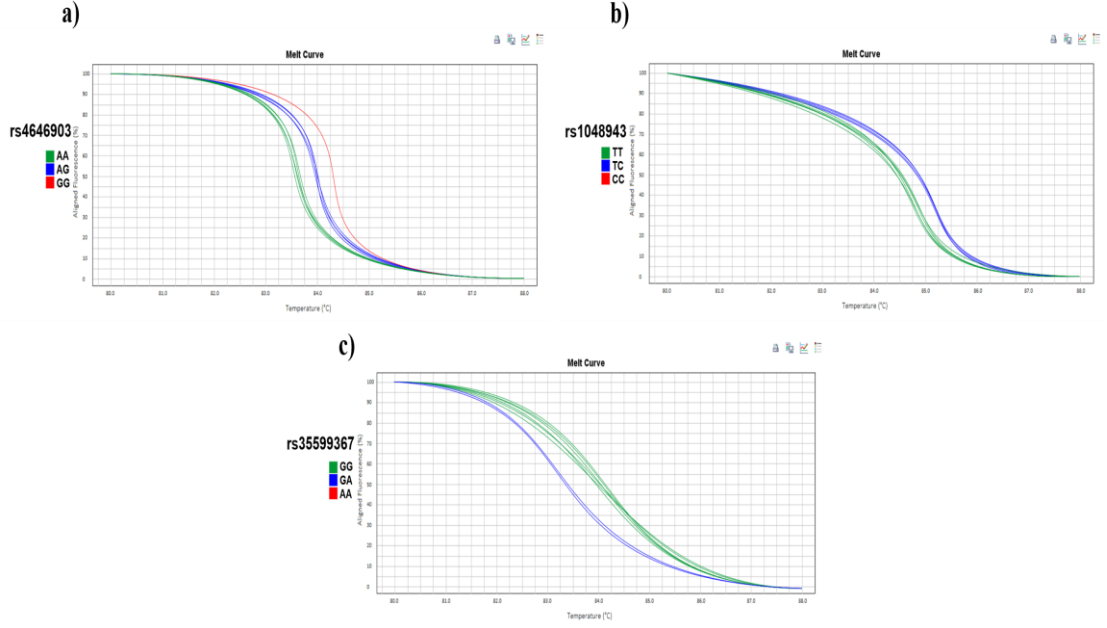
Marker-100 bp



Şekil 4.3. CYP3A4\*22 (rs3559967) polimorfizmi için örnek PZR-RFLP jel görüntüsü

#### 4.2. HRM Analizi Sonuçları

CYP1A1\*2A (rs4646903), CYP1A1\*2C (rs1048943) CYP3A4\*22 (rs35599367) polimorfizmleri PZR-RFLP yönteminin yanısıra HRM analizi ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla "Bio-Rad Precision Melt Analysis" programı kullanılarak ilgili polimorfizmlerin analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4).



**Şekil 4.4.** Polimorfizmleri için HRM analizi sonuçları

a) CYP1A1\*2A (rs4646903); b) CYP1A1\*2C (rs1048943); c) CYP3A4\*22 (rs35599367)

Elde edilen sonuçlara göre örneklerin genotiplerine göre hesaplanan genotip frekansları Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** Örneklerin İlgili Polimorfizmler Bakımından Genotip Frekansları.

Polimorfizm	Örnek Sayısı	Wild Type	Heterozigot	Homozigot
CYP1A1*2A (rs4646903)	50	40 (%80)	9 (%18)	1 (%2)
CYP1A1*2C (rs1048943)	50	46 (%92)	4 (%8)	0
CYP3A4*22 (rs35599367)	50	48 (%96)	2 (%4)	0

**Tablo 4.3.** Tek Nükleotid Polimorfizmi İçin Hazırlanan Primer dizileri.

CYP1A1*2A (rs4646903)	TTGTTTCACTGTAACCTCCACCTCC[C/T]GGGCTCACACGATTCTCCACCTCA
CYP1A1*2C (rs1048943)	CAAGCGGAAGTGTATCGGTGAGACC[A/G]TTGCCCGCTGGGAGGTCTTTCTCTT
CYP3A4*22 (rs35599367)	AGTTCAGTGTCTCCATCACACCCAG[C/T]GTAGGGCCAGCTGCATCACTGGCAC
CYP3A4*1B (rs2740574)	GAGGACAGCCATAGAGACAAGGGCA[A/G]GAGAGAGGCGATTTAATAGATTTTA

**Tablo 4.4.** Örneklerin RFLP Görüntüleri Analiz Edilerek Elde Edilen Genotip Bilgileri.

Örnek Sırası	rs1048943	rs270574	rs35599367	rs4646903
1	Wild Type	?	Wild Tip	Wild Tip
2	Wild Tip	?	Heterozigot	Wild Tip
3	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
4	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
5	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
6	Heterozigot	?	Wild Tip	Homozigot
7	Heterozigot	?	Wild Tip	Heterozigot
8	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
9	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
10	Wild Tip	?	Wild Tip	Heterozigot
11	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
12	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
13	Heterozigot	?	Wild Tip	Wild Tip
14	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
15	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
16	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
17	Wild Tip	?	Wild Tip	Heterozigot
18	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
19	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
20	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
21	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
22	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
23	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
24	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
25	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
26	Heterozigot	?	Wild Tip	Heterozigot
27	Wild Tip	?	Wild Tip	Heterozigot
28	Wild Tip	?	Heterozigot	Heterozigot
29	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
30	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
31	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
32	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
33	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
34	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
35	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
36	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
37	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
38	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
39	Wild Tip	?	Wild Tip	Heterozigot
40	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
41	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
42	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
43	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
44	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
45	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
46	Wild Tip	?	Wild Tip	Heterozigot
47	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
48	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
49	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
50	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
51	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
52	WildType	?	Wild Tip	Wild Tip
53	Wild Tip	?	Wild Tip	Heterozigot
54	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip
55	Wild Tip	?	Wild Tip	Wild Tip

**Tablo 4.5.** Örneklerin Genotiplerine Göre Hesaplanan Genotip Frekansları.

Frekans	Hasta Sayısı	WildType	Heterozigot	Homozigot
rs1048943 (CYP1A12C)	55	51 (%92,72)	4 (%7,27)	0
rs270574 (CYP3A41B)	55	?	?	?
rs35599367 (CYP3A4 22)	55	53 (%96,36)	2 (%3,63)	0
rs4646903 (CYP1A12A)	55	45 (% 81,81)	9 (%16,36)	1 (% 1,81)

**Tablo 4.6.** RS1(CYP 1A1 2C) için bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanı analizi.

		N	Ortalama	Std. Sapma	Min	Max	Ki-Kare	P değeri
Bulantı	WilType	46	31,5652	2,61086	9,00	62,00		
	Heterozigot	4	26,7500	11,63597	9,00	58,00	0,292	0,589
	Total	50	31,1800	2,54112	9,00	62,00		
Kusma	WilType	46	19,0109	2,29800	8,00	61,00		
	Heterozigot	4	14,5000	5,50000	9,00	31,00	0,222	0,638
	Total	50	18,6500	2,15417	8,00	61,00		
Toplam Bulantı Kusma	WilType	46	50,5761	4,24998	18,00	123,00		
	Heterozigot	4	41,2500	13,46214	18,00	67,00	0,236	0,627
	Total	50	49,8300	4,03474	18,00	123,00		

RS1(CYP 1A1 2C) için bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanı analizlerinde yapılan Kruskal Wallis testi sonrasında RS1 bulantı puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,589 > 0,050). Ve yine kusma puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,638 > 0,050). Son olarak bulantı – kusma toplam puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,627 > 0,050).

**Tablo 4.7.** RS3(CYP3A4 22) için bulantı, kusma ve bulantı – kusma toplam puanı analizi.

		N	Ortalama	Std. Sapma	Min	Max	Ki-Kare	P değeri
	Wild Tip	48	30,7604	2,61432	9,00	62,00		
Bulantı	Heterozigot	2	41,2500	9,75000	31,50	51,00	0,851	0,356
	Total	50	31,1800	2,54112	9,00	62,00		
	Wild Tip	48	17,9896	2,19013	8,00	61,00		
Kusma	Heterozigot	2	34,5000	3,50000	31,00	38,00	3,193	0,074
	Total	50	18,6500	2,15417	8,00	61,00		
	Wild Tip	48	48,7500	4,11132	18,00	123,00		
Toplam Bulantı Kusma	Heterozigot	2	75,7500	13,25000	62,50	89,00	2,238	0,135
	Total	50	49,8300	4,03474	18,00	123,00		

RS3(CYP3A4 22) için bulantı, kusma ve bulantı – kusma toplam puanı analizlerinde yapılan Kruskal-Wallis testi sonrasında RS3 bulantı puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,356 > 0,050). Ve yine kusma puanları arasında fark bulunamamıştır ( P Değeri = 0,074 > 0,050 ). Son olarak kusma ile bulantı – kusmanın toplam puanları arasında fark bulunamamıştır. (P Değeri = 0,135 > 0,050).

**Tablo 4.8.** RS4(CYP1A1 2A) için bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanı analizi

		<b>N</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Std. Sapma</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Ki-Kare</b>	<b>P değeri</b>
Bulantı	WildType	40	31,8625	2,78802	9,00	62,00		
	Homozigot	1	31,0000	.	31,00	31,00	0,421	0,810
	Heterozigot	9	28,1667	7,06517	9,00	62,00		
	Total	50	31,1800	2,54112	9,00	62,00		
Kusma	WildType	40	18,6875	2,53164	8,00	61,00		
	Homozigot	1	31,0000	.	31,00	31,00	1,241	0,538
	Heterozigot	9	17,1111	4,07719	9,00	36,00		
	Total	50	18,6500	2,15417	8,00	61,00		
Toplam Bulantı Kusma	WildType	40	50,5500	4,67357	18,00	123,00		
	Homozigot	1	62,0000	.	62,00	62,00	0,512	0,774
	Heterozigot	9	45,2778	8,70389	18,00	73,00		
	Total	50	49,8300	4,03474	18,00	123,00		

RS4(CYP1A1 2A) için bulantı, kusma ve bulantı-kusma toplam puanı analizlerinde yapılan Kruskal Wallis testi sonrasında RS4 bulantı puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,810 > 0,050). Yine kusma puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,538 > 0,050). Son olarak bulantı ve kusmanın toplam puanları arasında fark bulunamamıştır (P Değeri = 0,774 > 0,050).

## 5. TARTIŞMA

İlaç metabolizmasından sorumlu olan enzimlerin polimorfizmleri bireyler arasında metabolizma farklılıklarına neden olmaktadır. Bu tez çalışmasında, kanser hastalarında Sisplatin tedavisine bağlı gelişen bulantı ve kusmaya karşı kullanılan Granisetron'un metabolizmasında yer alan CYP1A1 ve CYP3A4 enzim gen polimorfizmlerinin etkinliği araştırılmıştır. İnsan genomunda en çok bulunan polimorfizm tipi SNP'dir. SNP'ler hastalıklara yatkınlık ve ilaç cevabında majör etkiye sahiptir. SNP verilerinin uygulama alanlarından biri de farmakogenetikdir. Farmakogenetik ilaca verilen yanıtın genetik yapıya göre bireyler arasında farklılık göstermesi ve buna bağlı olarak ilaç etkinliğinin değişmesini inceler. Genetik faktörler ilaca yanıtta bireysel farklılıkların ve istenmeyen etkilerin büyük bir kısmından sorumludur. Çalışmada seçilen vaka/genotipe bağlı olarak gelişen varyasyonlarda analizlerin anlamlı sonuç vermemesinin en önemli sebebi Wild Tip bireylerin dışında diğer Homozigot ve Heterozigot gene sahip bireylerin çok az sayıda olmasıdır. Bu sayıların artırılması daha doğru ve güvenilir sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır.

İlaç metabolizması ile ilişkili birçok gen mevcuttur. Bazı sitokrom P450 enzim polimorfizmleri ise bunlardan bazılarıdır. CYP3A4 enzimini kodlayan gende oluşan veya var olan genetik polimorfizm, genin ekspresyonunu etkilemektedir. CYP3A4 geninin 5 promotöründeki Adenin-Guanin (A>G) geçişi Rebbeck ve arkadaşları (1998) tarafından yayınlanmıştır. CYP3A41B (rs2740574) olarak da bilinen bu işlevsel varyantın genin transkripsiyonel aktivitesini ve dolayısıyla CYP3A4 'ün genel aktivitesini değiştirdiği bilinmektedir.

Quintanilha ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada özellikle CYP2E1 ve CYP4A11 başta olmak üzere CYP450 enzimlerinin ilaca bağlı hepatotoksisite ve nefrotoksisitede önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmalar ayrıca Sisplatin ve CYP2E1 etkileşiminin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve diğer oksidantların oluşumuna yol açarak renal hasara yol açtığını ve hem Sisplatin kullanımı hem de CYP2E1 tarafından üretilen ROS'un doku hasarını arttırdığı, apoptozu indüklediği ve karaciğer yetmezliğine neden olduğunu ileri sürmüştür. Bizim çalışmamızda yer alan Cyp 1A1 ve Cyp 3A4 ile ilgili böyle bir toksisiteye

literatürde rastlanmamıştır. Polimorfik CYP'lerin enzim aktiviteleri değişkenlik göstermekte ve dolayısıyla kanser hastalarının kemoterapiye yanıtlarında ve sağkalım süreleri üzerinde etkileri olabilmektedir.

Granisetron, kemoterapiye bağlı bulantı-kusmanın önlenmesi amacıyla kullanılan 5 HT3 - reseptör blokörü antiemetik bir ilaçtır. N-demetilasyon, aromatik halka oksidasyonu ve diğer 5-HT3RA'lardan farklı olan P450 CYP3A ve CYP1A1 izoenzimlerinin aracılık ettiği konjugasyon yoluyla karaciğer tarafından metabolize edilir. Granisetron kullanan hastaların % 30 - 50 'sinde CINV'in devam ettiği çok sayıda literatür yayınlanmıştır. İlacın metabolizması ile ilişkili farmakogenomik polimorfizmlerin antiemetik tedaviye cevabı etkilediği de bilinmektedir (Nakamura ve ark.2005).

Her dokuda CYP450 enzimlerinin dağılımı ve gen ifadeleri kendine özgü olup, bunlar genetik olarak belirlenmektedir. CYP gen ifadelerini, yağ asitleri ve steroidler gibi endojen maddelerin yanısıra dışarıdan alınan maddeler de etkileyebilir. Örneğin Sisplatin tedavisi gören hastalardaki bulantı-kusma semptomunu önlemek için Granisetron kullanımının bireylerdeki etkileri farklı olabilmektedir. Ayrıca açlık ve diyabet gibi patofizyolojik durumlar da yine gen ifadelerini değiştirebilmektedir. Bu durumda ilaç metabolizmaları etkilenebilir ve etkileşimler artabilir.

Çalışmamıza dahil olan hastalar malign bir hastalığa bağlı daha önce hiç kemoterapi kullanmamış ve Karnofsky Performans Skalası  $\geq$ %50 olan hastalardır. Dışlama kriterlerinin, geniş çaplı ve bulantı ve/veya kusmaya neden olacak birçok durumu kapsamış olması nedeniyle; çoğunlukla genel durumu iyi, çoklu ilaç kullanımı ve ek hastalığı fazla olmayan hastalar çalışmamızda yer almıştır. Bu hastalardan 1 ve 43 numaralı hastalarda diyabet tanısı ile İnsülin, 17 numaralı hastada diyabet tanısı ile Gliklazid, Metformin ve hipertansiyon tanısı ile Nebivolol, 11 ve 37 numaralı hastalarda hipotiroidi tanısı ile Levotiron kullanılmakta, 37 numaralı hastada hipertansiyon tanısı ile Atenolol, 30 numaralı hastada Propranolol, 36 numaralı hastada Ramipril ve Klopidoğrel, 45 numaralı hastada Valsartan ve 6 numaralı hastada ise mide koruyucu olarak Rabeprazol kullanılmakta olup herhangi bir bulantı-kusmaya sebep olacak gastrik problemi bulunmamaktadır. Tüm bu hastaların aldıkları ilaçlar ile Granisetron etkisini ve metabolizmasını değiştirebilecek bir ilaç-ilaç etkileşimi literatürde bildirilmemiştir.

CYP1A1, prokarsinojenlerin inaktivasyonunda rol oynamaktadır ve CYP1A1 aktivitesi ile akciğer kanseri riski arasında güçlü bir ilişki vardır (Mehgoub ve ark. 1977). 2,3,7,8 - tetraklorodibenzo - p - diokson (TCDD), 3-metilkolantren ve  $\beta$ -naftoflavon ise CYP1A1'in iyi bilinen deneysel indükleyicileridir (Edwards ve ark. 2003; Madan ve ark. 2003). İn vitro olarak yaygın olarak kullanılan 7-hidroksiflavon,  $\alpha$ -naftoflavon ve başta Ketokonazol olmak üzere Amiodaron, Karbamazepin, Duloksetin, İzoniazid, Resveratrol ve Rofekoksib gibi bazı ilaçların ise CYP1A inhibitörü olduğu bilinmektedir (Paine ve ark. 1999; Bapiro ve ark. 2002; Roymans ve ark. 2004; Yoshinari ve ark. 2008; Sugiyama ve ark. 2016). Granisetron'a (Lang ve ark. 2009) ek olarak, tirozin kinaz inhibitörleri olan Aksitinib, Erlotinib, Gefitinib ve Ningetinib ile Toll benzeri reseptör agonisti İmikumod ve Conivaptan (Antidiüretik Hormonun inhibitörü) CYP1A1'in substratları, araşidonik asit, bilirubin, prostaglandinler, östrojenler, melatonin ve retinoik asit ise endojen substratları arasında yer almaktadır. Çalışmamıza katılan hastaların bu ilaçlardan herhangi birini kullanmamış olması çalışmanın sonuçlarının etkilenmemesi açısından önemlidir. Her ne kadar östrojen CYP1A 'nın endojen substratları arasında bulunsa da çalışmamızda cinsiyet açısından bir fark bulunmamıştır.

Albendazol, Karbamazepin, Omeprazol, Lansoprazol, primakuin ve Rosiglitazonun da CYP1A1 ve CYP1A2 'nin ekspresyonu ve metabolik aktivitesinin güçlü indükleyicileri olduğu gösterilmiştir (Bapiro ve ark. 2002; Roymans ve ark. 2004; Yoshinari ve ark. 2008; Sugiyama ve ark. 2016). Çalışmaya katılan hastalardan 3 kişi proton pompa inhibitörü kullanmış olup bunlar etken madde olarak Rabeprazol içermektedir. Rabeprazol ile ilgili literatürde CYP enzim indüksiyonu ve inhibisyonu yaptığına dair bir bilgi mevcut değildir.

İN vitro deneylerde CYP1A1'in çeşitli bileşikler tarafından inhibe edilebildiği ve indüklenebildiği gösterilmiş olmasına rağmen literatürde, spesifik CYP1A1 inhibisyonu veya indüksiyonu ile ilişkilendirilebilecek hiçbir klinik ilaç-ilaç etkileşimi yoktur.

CYP3A4, 120'den fazla farklı ilacın parçalanmasından sorumlu olan insanda en bol eksprese edilen ilaç metabolize eden enzimdir ve bu nedenle enzim bazlı ilaç etkileşimleri açısından önemli bir çalışma alanıdır. Metabolize edilen ilaçlar arasında Midazolam, Triazolam ve Diazepam gibi sedatifler, Amitriptilin ve İmipramin gibi

antidepresanlar, Amiodaron, Kinidin, Propafenon ve Disopiramid gibi anti-aritmikler, Terfenadin, Astimemizol, Loratidin gibi antihistaminikler, Diltiazem ve Nifedipin gibi çeşitli kalsiyum kanal blokörleri, çeşitli antimikrobiyaller ve proteaz inhibitörleri yer alır (Bertilsson ve ark.1992). Çalışmamızda bu ilaçlardan herhangi birini kullanan hasta bulunmamaktadır.

İnsan CYP450 formlarının %40 'ının polimorfik olduğu bulunmuştur. CYP1A1 geni 15q24.1 yerleşimlidir, yedi ekson ve altı introna sahiptir. CYP1A1 için, CYP1A1 \* 1 den CYP1A1 \* 11 'e kadar toplam 11 varyant allel belirlenmiştir. 11 alelden başka bazı tek nükleotid polimorfizmleri de (SNP'ler) tespit edilmiştir. CYP1A1 \* 1 Wild Tip allelidir. Bu varyantlar arasında dört allel, CYP1A1 \* 2A (3698 T> C), CYP1A1 \* 2C (2454 A> G), CYP1A1 \* 3 (3204 T> C) ve CYP1A1 \* 4 (2452C> A). Bu çalışmaya dahil edilen 50 hastanın 35 'i akciğer kanseri; 5 'i meme kanseri; 4 'ü mesane kanseri; 2'si safra kesesi kanseri; 1'i nazofarenks kanseri; 1'i sürrenal kanser ve 1 hasta non - hodgkin lenfoma tanısına sahipti. Akciğer kanseri tanı 35 hastanın 26 'sı rs1, rs3, rs4 için Wild Tip, 1'i rs1 heterozigot, 1'i rs3 heterozigot, 3'ü rs4 heterozigot, 2'si rs1 ve rs4 heterozigot, 1 tanesi rs1 heterozigot ve rs4 homozigot, 1'i rs3 ve rs4 heterozigot olmak üzere 9 akciğer kanseri tanı hastada bir veya birden fazla polimorfizm görülmüştür. Ayrıca 4 meme kanseri tanı hastanın birisinde ve tek nazofarenks kanser tanısı olan hastamızda rs4 heterozigot polimorfizm görülmüştür.

Masson ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada CYP1A1 polimorfizmlerinin farklı popülasyonlarda, Beyaz Irk, Afrikalı-Amerikalılar ve Asyalılarda dağılımını değerlendirmişlerdir. Havuz analizinde m1 varyant alelinin Asya popülasyonlarında en yaygın olduğunu (% 13) ve Kafkasyalılarda (% 1) çok daha düşük sıklıkta olduğunu bulmuşlardır. Afrikalı-Amerikalılarda ise Asyalılar ve Kafkasyalılar arasında bir yaygınlığı bildirmişlerdir (% 6). Aynı şekilde homozigot varyant aleli, Asyalılar arasında yaygın (%5) olarak bulunurken, Kafkasyalılarda (% 0,7) çok nadir görülür ve Afrikalı-Amerikalılarda yoktur. Afrikalı-Amerikalılarda CYP1A1 \*3 varyantı yaygındır. Asya çalışmalarında nadiren m4 varyantının varlığını gözlemlenmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların % 16,36'sı CYP1A1 \*2A heterozigot varyant alleli, % 1,81'i homozigot CYP1A1 \*2A varyant alleli, % 7,27'si CYP1A1

\*2C heterozigot varyant aleli olarak bulunmuştur. Bu veriler değerlendirildiğinde sonuçlar Avrupa verileri ile uyumlu bulunmuştur.

Bag ve ark. (2015), yaptıkları derlemede, CYP1A1 genetik polimorfizmleri ile ilgili çalışmalarını kanser duyarlılığı biyobelirteçleri olarak özetlemiştir. Bu çalışmalarda CYP1A1 \*2A polimorfizmi oral, akciğer, kolorektal kanser, CYP1A1 \*2C ise kolorektal kanser riskinin artışıyla ilişkili bulunmuştur.

Aynacıoğlu ve ark. (1999), dört sitokrom P450A1 (CYP1A1) gen mutasyonunun frekans dağılımını, polimeraz zincir reaksiyonu / restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (PCR / RFLP) testi ile Güneydoğu Anadolu 'dan 271 Türk'te incelemiştir. CYP1A1 \*2A ve CYP1A1 \*2B polimorfizmi diğer beyaz popülasyonlardan yüksek bulunmuştur.

Granisetron'un CINV 'deki etkisinin enzim polimorfizmi ile ilişkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak Granisetron'u metabolize eden CYP 1A1 ve CYP 3A4 enzimlerindeki genetik polimorfizmin, Granisetron'un bulantı ve kusma önleyici etkisindeki farklılıklarına literatürde sadece bir çalışmada bakılmış olup; CYP3A4, CYP3A5, CYP1A1 ve ABCB1'deki polimorfizmlerin gebe kadınlarda Granisetron'un farmakokinetik özellikleri üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada 16 hastadan %25 'i allel varyant CYP3A5 \* 3 için homozigottu ve belirgin derecede düşük Granisetron klirensi mevcuttu. Plazma konsantrasyonu-zamana karşı eğrisi altında kalan alan (AUC) nonhomozigot hastalar ile karşılaştırıldığında artmış olduğu bulundu. Hastaların yaklaşık üçte biri (n = 5) allel varyant CYP1A1 \*2A için taşıyıcılardı ve önemli ölçüde daha yüksek Granisetron klirensi ve azalmış AUC idi. CYP3A4 ve ABCB1 genlerindeki herhangi bir SNP için AUC veya klirensinde anlamlı farklılıklar bulunmadı (Bustos ve ark.2016).

Türkiye 'de 5-HT<sub>3</sub> antagonistlerinin antiemetik etkilerinin genetik polimorfizmle ilişkisinin araştırıldığı bir çalışma (Babaoğlu ve ark.2005), yapılmıştır. Bu çalışmada 5 - HT<sub>3</sub> antagonistlerine karşı klinik direncin, ilaç akışlı taşıyıcı adenosin trifosfat bağlayıcı kaset alt ailesi B üye 1 (ABCB1) için kodlayan gendeki tekli nükleotid polimorfizmi (3435C> T) ile ilişkili olduğu varsayılmıştır. Yüksek

veya orta derecede emetojenik ajanlardan oluşan kemoterapötik rejimler ile tedavi edilen kanser (N = 216) hastaları, Tropisetron, Ondansetron veya Granisetrona karşı antiemetik cevapları açısından incelenmiştir. Kemoterapinin ilk 24 saatinde, bulantı ve kusmanın tam kontrol oranı, CC (n = 60) veya CT (n = 107) genotipi olanlara kıyasla, ABCB1 TT genotipine sahip olanlarda (n = 49) daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar, ABCB1 3435C > T polimorfizminin, özellikle kısa süreli kemoterapi fazı sırasında 5-HT3 antagonistleri ile tedavi edilen kanserli hastalarda antiemetik tedavi etkinliği ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir.

Onkolojide antiemetiklerin farmakogenetik çalışmaları azdır ve bu çalışmalarda; 5-HT3RA'ların farmakogenetik özelliklerini; Çoklu İlaç Direnci 1 (MDR1) geni, 5-HT3A, B, C reseptör genleri ve CYP2D6 geninde araştırmışlardır (Perwitasari ve ark. 2011). Ancak CYP 3A4 ve CYP 1A1 genleri ile ilişkili bir çalışma bulunmamaktadır.

Ondansetron, Tropisetron, Dolasetron ve Palonsetron ağırlıklı olarak CYP2D6 tarafından, Granisetron ise CYP1A1 ve CYP3A4 tarafından metabolize edilir. CYP2D6 geninin çok çeşitli genetik polimorfizmleri vardır. Hassan ve Yusoff (2011), CINV 'da CYP3A4 gen varyantlarını Çin, Hint, Malezyalı olmak üzere 3 farklı popülasyonda incelemiştir. Bu çalışmada 158 meme kanseri hastası Granisetron ile tedavi edilmiş ve CYP3A4 varyantları genotiplendirilmiştir. Hint ve Malezyalılarda CINV İnsidansı Çinlilerden daha düşüktür. CYP3A4 \* 4 (rs55951658), \*5 (rs55901263), \* 6 (rs4646438) mutasyonları Çin popülasyonunda nadirdir. Bu mutasyonlar CYP3A4 enzim aktivitesini Hint popülasyonunda azaltır, daha iyi CINV kontrolü ile sonuçlanır. Malezya popülasyonları sıklıkla CYP3A4 \* 18 (rs28371759) varyantına sahiptir.

Bizim çalışmamıza dahil olan hastalarda CYP3A4 \* 22 (rs35599367) bakılmış olup % 96,36 Wild Tip, % 3,63 heterozigot varyant aleli olarak bulunmuştur. Dünya genelinde CYP3A4 \*22 varyantlarına bakıldığında % 97 Wild Tip, %2,9 heterozigot, %0,03 homozigot, Avrupa genelindeki veriler ise

%90,3 Wild Tip, %9 heterozigot, % 0,002 homozigottur. Tüm veriler değerlendirildiğinde sonuçların Avrupa ve Amerika verilerine yakın olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmada Sisplatin tedavisi alan kanser hastalarında kemoterapiye bağlı olarak gelişen bulantı ve kusmayı önlemek için uygulanan Granisetron tedavisinin etkinliği ile CYP1A1 \*2A (rs4646903), CYP1A1 \*2C (rs1048943), CYP3A4 \*22 (rs35599367) polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Özetle, örnek grubunda Granisetron tedavisinin etkinliğini değiştirecek herhangi bir genotipik farklılık bulunmamaktadır.

CYP3A4 geni rs270574 polimorfizmi ise; analiz edilen Sisplatin ve Granisetron etkileşimi açısından vakalar üzerinde değerlendirildiğinde belirgin bir etki göstermemiştir. Çoğunlukla heterozigot vakalarda CYP3A4 enziminin yüksek derecedeki indüklenabilir potansiyeli nedeniyle vakalar üzerindeki etkileri daha az fark edilebilir nitelik taşımaktadır. CYP3A4 \*1B enzimi özellikle çoğu çalışma da çok sayıda ilacı metabolize etmesine rağmen bu çalışmaya dahil edilen vakalar üzerinde etkinliğini gösterememiştir. Çünkü, gen promotöründe bulunan SNP'lerden (rs2740574, 392 A>G) polimorfizminin metabolik enzimi etkilemediği gözlemlenmiştir.

Bireyselleştirilmiş tıp açısından önemli olan bu tür çalışmalarda, hastalar benzer ilaç etkilerine sahip insan ırkları veya belirli bir seti taşıyan herhangi bir popülasyon grubu, genetik sınıflandırma ile tanımlanabilmektedir. Bu bağlamda yapılan moleküler genetik sınıflandırma ile, hastayı kategorize ederek bir hasta için doğru ilaç oranını/dozunu ve çeşidini artırabilmektedir. Bu doğrultuda, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu vakaların çoğu, çevresel değişkenlerden güçlü bir şekilde etkilenen klinik fenotip ifadelerdeki değişikliklerle ilişkili görülmektedir. Bu bağlamda, RT-PZR yönteminin diğer moleküler tekniklerle birlikte uygulanması, terapötik müdahalenin ve ilaçlara verilen bireysel tepkilerin izlenmesini sağlayabilmektedir. RT-PZR a dayalı tekniklerden olan HRM tekniği ile de ilaca cevap ve polimorfiz denilen genetik varyasyonların tespiti yapılmıştır. PZR a dayalı tekniklerden olan RFLP tekniği yanısıra tez çalışmasında kullanılan HRM tekniği

vaka ya özgün olan ilgili gen ve polimorfizmi etkin bir şekilde doğrulamak için yapılmıştır. Sitokrom P450 enzim sistemi ve ilaç etkileşimleri mevcut vakalar üzerinde değerlendirildiğinde, CYP3A4 enziminin bazı ilaçları önemli ölçüde metabolize ettiği gözlemlenmiştir. Çalışmaya konu olan genetik polimorfizm (PZR-RFLP) özellikle ilaç biyotransformasyonunu etkileyen en önemli mekanizmadır. Polimorfizm ve polimorfizm oranları etnik farklılıklar göstermekle birlikte tez projesinde bu kriter gözardı edilmiş ve vaka seçiminde bazı dışlama kriterleri dikkate alınmıştır. Bireyler arasındaki metabolik farklılıkların önemli bir nedeni genetik yapıdaki varyasyonlardır/değişimlerdir. Bu farklar genetik polimorfizm olarak bilinir ve genellikle de otozomal çekinik karakter olarak gözlemlenmektedir.

Genetik polimorfizmler, tıpta bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkların belirlenmesini sağlar. Bazı polimorfizmler bir hastalık riskini arttırırken, bazıları azaltabilmektedir. Yapılacak çalışmalarla, hastalık gelişimi ya da hastalığa yatkınlıkla ilgili genlerin ve polimorfizmlerin belirlenmesi, pek çok hastalığın erken tanı ve tedavisinde yararlı olacaktır. Moleküler çalışmaları içeren Farmakogenomik yaklaşımlar, özellikle kanser tedavisinde kullanılan ilaçların etki ve yan etki profillerinin tesbiti, genel tedavi protokollerinin oluşturulması açısından önemlidir. Bu anlamda etkili olan çalışmalar/araştırmalar; polimorfizmlerin ilaç metabolizmasındaki rollerinin kesin olarak bilinmesi, her hastaya uygun tedavi ile daha başarılı sonuçlar almaya yardımcı olacaktır. Bugün farmakogenetik çalışmalardan edinilen bilgilerle, kişilerin genetik yapısına göre “kişiselleştirilmiş” tedaviden yararlanmak mümkün olacaktır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; bu çalışmada Sisplatin tedavisi alan kanser hastalarında kemoterapiye bağlı olarak gelişen bulantı ve kusmayı önlemek için uygulanan granisetron tedavisinin etkinliği ile CYP1A1 \*2A (rs4646903), CYP1A1 \*2C (rs1048943), CYP3A4 \*22 (rs35599367) polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Özetle, örnek grubunda granisetron tedavisinin etkinliğini değiştirecek herhangi bir genotipik farklılık bulunmamaktadır. Genellikle ilaç dozunun ayarlanmasında böbrek veya karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi faktörler dikkate alınsa da polimorfizmlerin ilaç metabolizmasındaki ve bunun tedaviye yansımadaki önemi gözardı edilmektedir. Dozlam sırasında her ilaç için değerlendirilmesi gereken yalnızca bir önemli polimorfizm olsa bile, tedavi dozunda değişiklik yapmayı gerektirebilir. Bu nedenle ilaç tedavisini optimize etmek için farmakogenetik çalışmaların sağlayacağı potansiyel yarar büyüktür. Farmakogenetiğin klinik uygulama içine katılması ile önemli genler ve polimorfizmler tanımlanacak ve veriler dozajı bireyselleştirmenin tedavi sonuçlarını iyileştirip iyileştirmeyeceğini ve kısa ve uzun vadede olumsuz tesirleri azaltıp azaltmayacağını gösterecektir. Benzer farmakogenetik çalışmaların daha geniş vakalar üzerinde yapılması; bireylerin ilaçlara duyarlılığı ve yan etkilerin değerlendirilmesi, hastanın genotipine göre bireysel tedavinin geliştirilmesi ve yeni terapötik hedeflerin belirlenmesi açısından katkı sağlayacaktır. RFLP ve gerçek zamanlı PZR tabanlı HRM analizi ile ilgili polimorfizmler yönünden örnek gruplarında genotiplendirmenin yapıldığı bu çalışma örnek sayısının artırılacağı ileri çalışmalar için bir önveri sunmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

- Perwitasari DA, Gelderblom H, Atthobari J, Mustofa M, Dwiprahasto I, et al. Anti-emetic drugs in oncology: pharmacology and individualization by pharmacogenetics. *Int J Clin Pharm.* 2011A; 33 (1): 33-43.
- Navari RM, Aapro M. Antiemetic prophylaxis for chemotherapy - induced nausea and vomiting. *N Engl J Med.* 2016; 374 (14): 1356-67.
- American Gastroenterological Association medical position statement: nausea and vomiting. *Gastroenterology*, 2001; 120 (1): 261-63
- Herrstedt J. Antiemetics: an update and the MASCC guidelines applied in clinical practice. *Nat Clin Pract Oncol.* 2008; 5 (1): 32-43.
- Craig JB, Powell BL. The management of nausea and vomiting in clinical oncology. *Am J Med Sci.* 1987; 293 (1): 34-44.
- Seigel LJ, Longo DL. The control of chemotherapy - induced emesis. *Ann Intern Med.* 1981; 95 (3): 352-59.
- Dodds LJ. The control of cancer chemotherapy-induced nausea and vomiting. *J Clin Hosp Pharm.* 1985;10 (2): 143-66.
- O'Brien BJ, Rusthoven J, Rocchi A, Latreille J, Fine S, et al. Impact of chemotherapy-associated nausea and vomiting on patients' functional status and on costs: survey of five Canadian centres. *CMAJ.* 1993; 149 (3): 296-302.
- Griffin AM, Butow PN, Coates AS, Childs AM, Ellis PM, et al. On the receiving end V: Patient perceptions of the side effects of cancer chemotherapy in 1993. *Annals of oncology.* 1996; 7 (2): 189-95.
- McDonagh M, Peterson K, Thakurta S. Consideration of evidence on antiemetic drugs for nausea and vomiting associated with chemotherapy or radiation therapy in adults. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2010 Jul 22.
- Hesketh PJ, Grunberg SM, Herrstedt J, de Wit R, Gralla RJ, et al. Combined data from two phase III trials of the NK1 antagonist aprepitant plus a 5HT<sub>3</sub> antagonist and a corticosteroid for prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting: effect of gender on treatment response. *Support Care Cancer.* 2006; 14 (4): 354-60.
- Hesketh PJ, Kris MG, Grunberg SM, Beck T, Hainsworth JD et al. Proposal for classifying the acute emetogenicity of cancer chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1997; 15 (1): 103-109.
- Roila F, Herrstedt J, Aapro M, Gralla RJ, Einhorn LH, et al. Guideline update for MASCC and ESMO in the prevention of chemotherapy - and radiotherapy - induced nausea and vomiting: results of the Perugia consensus conference. *Ann Oncol.* 2010; 21 (5): 232-43.
- Roscoe JA, Morrow GR, Colagiuri B, Heckler CE, Pudlo BD, et al. Insight in the prediction of chemotherapy- induced nausea. *Support Care Cancer*, 2010; 18 (7): 869-76.
- Warr DG, Street JC, Carides AD. Evaluation of risk factors predictive of nausea and vomiting with current standard - of- care antiemetic treatment: analysis of phase 3 trial of aprepitant in patients receiving adriamycin - cyclophosphamide - based chemotherapy. *Support Care Cancer*, 2011; 19 (6): 807-13.

- Kris MG, Gralla RJ, Clark RA, Tyson LB, O'Connell JP, et al. Incidence, course, and severity of delayed nausea and vomiting following the administration of high-dose cisplatin. *J Clin Oncol* 1985; 3:1379-84.
- Roila F, Boschetti E, Tonato M, et al. Predictive factors of delayed emesis in cisplatin- treated patients and antiemetic activity and tolerability of metoclopramide or dexamethasone. A randomized single-blind study. *Am J Clin Oncol* 1991;14: 238-42.
- Roila F, Hesketh PJ, Herrstedt J. Prevention of chemotherapy - and radiotherapy - induced emesis: results of the 2004 Perugia International Antiemetic Consensus Conference. Antiemetic Subcommittee of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer. *Ann Oncol.* 2006; 17 (1): 20-28.
- Moher D, Arthur AZ, Pater JL. Anticipatory nausea and/or vomiting. *Cancer Treat Rev.* 1984; 11 (3): 257-64.
- Jacobsen PB, Redd WH. The development and management of chemotherapy - related anticipatory nausea and vomiting. *Cancer Invest.* 1988; 6 (3): 329-36.
- Morrow GR. Clinical characteristics associated with the development of anticipatory nausea and vomiting in cancer patients undergoing chemotherapy treatment. *J Clin Oncol.* 1984; 2 (10): 1170-76.
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, NCCN Guidelines Antiemesis Version 3.2018.
- Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014; 740: 364-78
- Hesketh PJ, Kris MG, Basch E, Bohlke K, Barbour SY et al. Antiemetics: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2017; 35 (28): 3240-61.
- Hesketh PJ, Gandara DR. Serotonin antagonists: a new class of antiemetic agents. *J Natl Cancer Inst.* 1991; 83 (9): 613-20
- Andrews PL, Bhandari P, Davey PT, Bingham S, Marr HE, et al. Are all 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists the same? *Eur J Cancer.* 1992; 28A Suppl 1:2-6.
- Jordan K, Hinke A, Grothey A, Voigt W, Arnold D, et al. A meta-analysis comparing the efficacy of four 5-HT<sub>3</sub>- receptor antagonists for acute chemotherapy-induced emesis. *Support Care Cancer,* 2007; 15 (9): 1023-33.
- Billio A, Morello E, Clarke MJ. Serotonin receptor antagonists for highly emetogenic chemotherapy in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; (1): CD006272.
- Botrel TE, Clark OA, Clark L, Paladini L, Faleiros E, et al. Efficacy of palonosetron (PAL) compared to other serotonin inhibitors [5-HT<sub>3</sub> (3)R] in preventing chemotherapy - induced nausea and vomiting (CINV) in patients receiving moderately or highly emetogenic (MoHE) treatment: systematic review and meta-analysis. *Support Care Cancer,* 2011;19 (6): 823-32.
- Plosker GL, Goa KL. Drugs. Granisetron. A review of its pharmacological properties and therapeutic use as an antiemetic Plosker. *Drugs.* 1991; 42 (5): 805-24.
- Navari RM, Kaplan HG, Gralla RJ, Grunberg SM, Palmer R, et al. Efficacy and safety of granisetron, a selective 5- hydroxytryptamine-3 receptor antagonist, in the prevention of nausea and vomiting induced by high-dose cisplatin. *J Clin Oncol.* 1994; 12 (10): 2204-10.
- Navari R, Gandara D, Hesketh P, Hall S, Mailliard J, et al. Comparative clinical trial of granisetron and ondansetron in the prophylaxis of cisplatin-induced emesis. The Granisetron Study Group. *J Clin Oncol.* 1995; 13 (5): 1242-8

- Guengerich FP. Characterization of human cytochrome P450 enzyme. *FASEB Journal*, 1992, 6 (2): 745-8.
- Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, Guengerich FP, Estabrook RW, et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol.* 1993, 12 (1): 1-51.
- Kayaalp O. *Tibbi Farmakoloji*. Pelikan Yayıncılık. 2012. 13. Basım, Cilt 1, s: 43.
- Nebert DW, Nelson DR, Coon MJ, Estabrook RW, Feyereisen R, et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA Cell Biol.* 1991, 10 (1): 1-14.
- Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, Liu Y, Kuang TY, et al. Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquin and S-mepheytin. *Clin Pharmacol Ther.* 1992, 51 (4): 388-97.
- Klomp F, Wenzel C, Drozdik M, Oswald S. Drug - Drug Interactions Involving Intestinal and Hepatic CYP1A Enzymes. *Pharmaceutics*. 2020; 12 (12): 1201.
- Bibi Z. Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutr Metab (Lond)*. 2008; 5:27.
- Schweikl H, Taylor JA, Kitareewan S, Linko P, Nagorney D, et al. Expression of CYP1A1 and CYP1A2 genes in human liver. *Pharmacogenetics*. 1993; 3 (5): 239-49.
- Ding X, Kaminsky LS. Human extrahepatic cytochromes P450: Function in xenobiotic metabolism metabolism and tissue- selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003; 43: 149-73.
- Nishimura M, Yaguti H, Yoshitsugu H, Naito S, Satoh T. Tissue distribution of mRNA expression of human cytochrome P450 isoforms assessed by high - sensitivity real - time reverse transcription PCR. *Yakugaku Zasshi*. 2003; 123 (5): 369-75.
- Stiborová M, Martínek V, Rýdlová H, Koblas T, Hodek P. Expression of cytochrome P450 1A1 and its contribution to oxidation of a potential human carcinogen 1- phenylazo- 2-naphthol (Sudan I) in human livers. *Cancer Lett.* 2005; 220 (2): 145–54.
- Paine MF, Hart HL, Ludington SS, Haining RL, Rettie AE, et al. The human intestinal cytochrome P450 “pie”. *Drug Metab Dispos.* 2006; 34 (5): 880-6.
- Bièche I, Narjoz C, Asselah T, Vacher S, Marcellin P, et al. Reverse transcriptase - PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP)1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenet Genomics*. 2007; 17 (9): 731-42.
- Zhou SF, Wang B, Yang LP, Liu JP. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2. *Drug Metab Rev.* 2010; 42 (2): 268-354
- Lang D, Radtke M, Bairlein M. Highly Variable Expression of CYP1A1 in Human Liver and Impact on Pharmacokinetics of Riociguat and Granisetron in Humans. *Chem Res Toxicol.* 2019; 32 (6): 1115-22
- Miyauchi E, Tachikawa M, Declèves X, Uchida Y, Bouillot JL, et al. Quantitative Atlas of Cytochrome P450, UDP - Glucuronosyltransferase, and Transporter Proteins in Jejunum of Morbidly Obese Subjects. *Mol Pharm.* 2016; 13 (8): 2631-40.
- Drozdik M, Busch D, Lapczuk J, Müller J, Ostrowski M, et al. Protein Abundance of Clinically Relevant Drug - Metabolizing Enzymes in the Human Liver and Intestine: A Comparative Analysis in Paired Tissue Specimens. *Clin Pharmacol Ther.* 2018; 104 (3): 515-24.

- Wrighton SA, Stevens JC, Becker GW, VandenBranden M. Isolation and characterization of human liver cytochrome P450: 2C19: correlation between 2C19 and S -mepheytoin hydrpxylation. *Arch Biochem Biophys.* 1993; 306 (1): 240-45.
- Mehgoub A, Dring LG, Idle JR, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet.* 1977;2 (8038): 584-86.
- Edwards RJ, Price RJ, Watts PS, Renwick AB, Tredger JM, et al. Induction of cytochrome P450 enzymes in cultured precision - cut human liver slices. *Drug Metab. Dispos. Drug Metab Dispos.* 2003; 31 (3): 282-88.
- Madan A, Graham RA, Carroll KM, Mudra DR, Burton LA, et al. Effects of prototypical microsomal enzyme inducers on cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes. *Drug Metab Dispos.* 2003;31 (4): 421-31.
- Kroemer HK, Gautier JC, Beaune P, Henderson C, Wolf CR, et al. Identification of P450 enzymes involved in metabolism of verapamil in humans. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1993; 348 (3): 332-37.
- Wild MJ, McKillop D, Butters CJ. Determination of the human cytochrome P450 isoforms involved in the metabolism of zolmitriptan. *Xenobiotica.* 1999; 29 (8): 847-57.
- Nebert DW, Dalton TP. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling signalling pathways and environmental carcinogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6 (12): 947- 60
- Bapiro TE, Andersson TB, Otter C, Hasler JA, Masimirembwa CM. Cytochrome P450 1A1/2 induction by antiparasitic drugs: Dose - dependent increase in ethoxyresorufin O- deethylase activity and mRNA caused by quinine, primaquine and albendazole in HepG2 cells. *Eur J Clin Pharmacol.* 2002; 58 (8): 537-42.
- Roymans D, Van Looveren C, Leone A, Parker JB, McMillian M, et al. Determination of cytochrome P450 1A2 and cytochrome P450 3A4 induction in cryopreserved human hepatocytes. *Biochem Pharmacol.* 2004; 67 (3): 427-37.
- Yoshinari K, Ueda R, Kusano K, Yoshimura T, Nagata K, et al. Omeprazole transactivates human CYP1A1 and CYP1A2 expression through the common regulatory region containing multiple xenobiotic-responsive elements. *Biochem Pharmacol.* 2008; 76 (1): 139 - 45.
- Sugiyama I, Murayama N, Kuroki A, Kota J, Iwano S, at al. Evaluation of cytochrome P450 inductions by anti-epileptic drug oxcarbazepine, 10-hydroxyoxcarbazepine, and carbamazepine using human hepatocytes and HepaRG cells. *Xenobiotica.* 2016; 46 (9): 765-74.
- Nakamura H, Ariyoshi N, Okada K, Nakasa H, Nakazawa K, et al. CYP1A1 Is a Major Enzyme Responsible for the Metabolism of Granisetron in Human Liver Microsomes. *Curr Drug Metab.* 2005; 6 (5): 469-80.
- Paine MF, Schmiedlin-Ren P, Watkins PB. Cytochrome P-450 1A1 expression in human small bowel: Interindividual variation and inhibition by ketoconazole. *Drug Metab Dispos.* 1999; 27 (3): 360-64.
- Eichelbaum M, Spannbrucker N, Steincke B, Dengler HJ. Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *Eur J Clin Pharmacol.* 1979; 16 (3): 183-87.
- Bråsen K, Gram LF. Clinical significance of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol.* 1989; 36 (6): 537-47.
- Meyer UA, Skoda RC, Zanger UM. The genetic polymorphism of debrisoquine / sparteine metabolism: molecular mechanisms. *Pharmacology and Therapeutics,* 1990; 46: 297-308.

- Eichelbaum M, Gross. The genetic polymorphism of debrisoquine / sparteine metabolism. *Pharmacology and Therapeutics*. 1990; 46: 377-94.
- Lennard MS. Genetic polymorphism of sparteine / debrisoquine oxidation: a reappraisal. *Pharmacol Toxicol*,1990; 67 (4): 273-83.
- Gonzalez FK, Meyer UA. Molecular genetics of the debrisoquine/sparteine metabolism *Clin Pharmacol Ther*. 1991; 50: 233-38.
- Okuda H, Nishiyama T, Ogura K, Nagayama S, Ikeda K, Yamaguchi S, et al. Lethal drug interactions of sorivudine, a new antiviral drug, with oral 5-fluorouracil prodrugs. *Drug Metab Dispos*. 1997; 25 (2): 270-73.
- Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji*. Pelikan Yayıncılık. 2012. 13. Basım, Cilt 1, s: 46-49.
- Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, Liu Y, Kuang TY, et al. Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquin and S-mepheytin. *Clin Pharmacol Ther*. 1992, 51 (4): 388-97.
- Tanaka E. Clinically important pharmacokinetic drug-drug interactions: Role of cytochrome P450 enzymes. *J Clin Pharm Ther*. 1998; 23 (6): 403-16.
- Hakkola J, Hukkanen J, Turpeinen M, Pelkonen O. Inhibition and induction of CYP enzymes in humans: an update. *Arch Toxicol*. 2020; 94 (11): 3671-3722.
- Clarke SE, Austin NE, Bloomer JC, Haddock RE, Higham FC, et al. Metabolism and disposition of <sup>14</sup>C-granisetron in rat, dog and man after intravenous and oral dosing. *Xenobiotica*. 1994; 24 (11): 1119-31
- Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji*. Pelikan Yayıncılık. 2012. 13. Basım, Cilt 1, sayfa 123-24
- Dirican E, Akkiprik M. High Resolution Melting Method in Molecular Diagnostics and Their Clinical Importance. *Clin Exp Health Sci* 2017; 7 (1): 20-6
- Rebbeck TR, Jaffe JM, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *J Natl Cancer Inst*. 1998; 90 (16): 1225-29.
- Quintanilha JCF, de Sousa VM, Visacri MB, Amaral LS, Santos RMM et al. Involvement of cytochrome P450 in cisplatin treatment: implications for toxicity. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017; 80 (2):223-33.
- Masson LF, Sharp L, Cotton SC, Little J. Cytochrome P-450 1A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2005;161 (10): 901-15
- Bag A, Jyala NS, Bag N. Cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms as cancer biomarkers *Indian J Cancer*. 2015 Oct-Dec;52 (4):479-89.
- Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, et al. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clin Pharmacol Ther*. 1999; 66 (2): 185-92.
- Bustos ML, Zhao Y, Chen H, Caritis SN, Venkataramanan R. Polymorphisms in CYP1A1 and CYP3A5 Genes Contribute to the Variability in Granisetron Clearance and Exposure Pregnant Women with Nausea and Vomiting. *Pharmacotherapy*. 2016;36 (12): 1238-44.
- Babaoglu MO, Bayar B, Aynacioglu AS, Kerb R, Abali H et al. Association of the ABCB1 3435C>T polymorphism with antiemetic efficacy of 5-hydroxytryptamine type 3 antagonists. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;78 (6): 619-26

Perwitasari DA, Gelderblom H, Atthobari J, Mustofa M, Dwiprahasto I, et al. Anti - emetic drugs in oncology: pharmacology and individualization by pharmacogenetics. *Int J Clin Pharm.* 2011;33 (1): 33-43.

Hassan BA, Yusoff ZB. Genetic polymorphisms in the three malaysian races effect granisetron clinical antiemetic actions in breast cancer patients receiving chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12 (1): 185-91.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Sema	<b>Soyadı</b>	GÜLER
<b>Doğum Yeri</b>		<b>Doğum Tarihi</b>	
<b>E-mail</b>		<b>Uyruğu</b>	

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Lisans</b>	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi	1996
<b>Yüksek Lisans</b>	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi	1998
<b>Doktora</b>	Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi	2022

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl - Yıl)</b>
1 Tıp Doktoru	Beytepe Murat Erdi Eker Devlet Hastanesi	(2021- )
2 Tıp Doktoru	Konya Halk Sağlığı Müdürlüğü	(2019-2021)
3 Tıp Doktoru	Konya 85 Nolu AS	(2018- 2019)
4 Tıp Doktoru	Konya Halk Sağlığı Müdürlüğü	(2013-2018)
5 Tıp Doktoru	Konya Karatay Toplum Sağlığı Merkezi	(2011-2012)
6 Tıp Doktoru	Ankara Mamak Toplum Sağlığı Merkezi	(2010-2011)
7 Tıp Doktoru	Ankara T.C. SB. SBÜ. Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi	(2006-2010)
8 Tıp Doktoru	Ankara Mamak Dr. Emre Demir Sağlık Ocağı	(1999-2006)

### Yabancı Dil

İngilizce

## Yayınları/Tebliğleri/Sertifikalari/Ödülleri

### 1.Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

1. Balçık Şahin Ö., Dağdaş S., Keser Güler S., Özet G., Oymak A., Çelik Z., Zengin N., Öksüzöğlü B., Aylı M., Dinçer S., Albayrak M., “Otolog Periferik Kök Hücre Toplama Rejimlerinin CD34 (+) Hücre Sayısı Üzerine Etkisi: Tek Merkez Deneyimi ”, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28:640-647

### 2. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. Aksoyoğlu İ., Eser N., Dağdaş S., Özet G., Ceran F., Çelik Z., Oymak A., Keser Güler S., Zengin N., Dinçer S., Aylı Ülker M., Demirer T., “1999-2007 yılları arası ANEAH hematoloji-kök hücre nakli birimi aferez ünitesi allogeneik kök hücre nakli yapılan hasta ve donör verileri,” poster no:P06-01, II. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi, Antalya, 2007.
2. Şahin Balçık Ö., Dağdaş S., Ceran F., Yokuş O., Albayrak M., Oymak A., Keser Güler S., Özet G., “Allogeneik Kök Hücre Nakli Yapılan Aplastik Anemili Olguda Paranasal Sinüz Aspergillozisinde Kombine Antifungal Tedavi ” 29 Ref. No: 17,4. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Uludağ Bursa, 2007.
3. Dağdaş S., Özet G., Yılmaz M., Ceran F., Albayrak M., Güler S., Balçık Ö., “Akut Myeloblastik ve akut lenfoblastik lösemili hastalarda serum endostatin düzeylerinin değerlendirilmesi,” poster no: P012, XXXIV. Ulusal Hematoloji Kongresi, İzmir, 2008
4. Dağdaş S., Erişti H., Özet G., Ceran F., Güler S., Küçükgüngör M., Zengin N., “Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kemik İliği Nakil Ünitesinde Verici Alıcı Kan Grubu Uyuşmazlığı Olan Hastalarda Allojenik Kök Hücre Nakli Deneyimi,” poster no: 001, 5. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Belek Antalya,2008
5. Karakoç M., Ceran F., Özet G., Dağdaş S., Erişti H., Güler S., Küçükgüngör M., Zengin N., “Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kemik İliği Nakil Ünitesinde Katatere Bağlı Tromboz Gelişen Hastaların Değerlendirilmesi” poster no:0019, 5. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Belek Antalya,2008
6. Dağdaş S., Keser Güler S., Özet G., Ceran F., Erişti H., Küçükgüngör M., Zengin N., “ 2007 Yılı ICE ve BEAM Hazırlama Rejimi İle Otolog Kök Hücre Nakli Yapılan Hodgkin ve Non Hodgkin Lenfoma Hastalarının Değerlendirme Deneyimi ”, poster no:0033, 5. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Belek Antalya,2008
7. Ceran F., Dağdaş S., Özet G., Yılmaz M., Koyuncu N., Küçükgüngör M., Erişti H., Güler S., “ Otolog Periferik Kök Hücre Nakli Sonrası Maksillofasiyal Bölgede Extramedüller Relaps İle Görülen İki Refrakter Multipl Myelom Olgusu ”, poster no:0036, 5. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Belek Antalya,2008

**Sertifikalar:**

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (8-17 Nisan 2013)
2. Aile Hekimliği 1. Aşama Uyum Eğitimi Sertifikası (4-10 Şubat 2010)
3. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları V. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu Sertifikası (27-31 Mart 2000)
4. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları VII. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu Sertifikası (24-27 Nisan 2002)

## 9. EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Kararı

#### N.E.Ü. MERAM TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Sisplatin kemoterapisine bağlı bulantı kusmada Granisetron etkisinin Cyp1A1ve Cyp3A4 polimorfizmi ile ilişkisi"
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Dekanlığı Akyokuş - Meram / KONYA Posta Kodu: 42080
	TELEFON	0 332 2236180
	FAKS	0 332 2236180
	E-POSTA	etikmeram@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ayşe S. ŞAHİN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Farmakoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	N.E.Ü.Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	N.E.Ü. BAP Koordinatörlüğü			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input checked="" type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input type="checkbox"/>				
Diğer ise belirtiniz:					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Burak Cem SONER  
İmza:

1

N.E.Ü. MERAM TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Sisplatin kemoterapisine bağlı bulantı kusmada Granisetron etisinin Cyp1A1ve Cyp3A4 polimorfizmi ile ilişkisi"
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	14.11.2018	V:01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	14.11.2018	V:01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	23.11.2018			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	DIĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	-Doktora tez çalışması olduğuna dair belge. -Özgeçmiş Formları, Kullanma Talimatı, Bilimsel Yayınlar			
KARAR BİLGİLERİ	<b>Karar No:2018/180</b>	<b>Tarih: 12 Aralık 2018</b>				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Burak Cem SONER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Doç. Dr. B. Cem SONER	Tıbbi Farmakoloji	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. A.Sadık GİRİŞGİN	Acil Tıp	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet AK	Ruh Sağlığı ve Hasta.	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Tahir Kemal ŞAHİN	Halk Sağlığı	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sema TUNCER UZUN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon.	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Nazmi ZENGİN	Göz Hastalıkları	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Müslim YURTCU	Çocuk Cerrahisi	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Figen GÜNEY	Nöroloji	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç. Dr. Resul YILMAZ	Çocuk Sağlığı ve Has.	Selçuklu Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ	Fizyoloji	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KILINÇ	Tıbbi Biyokimya	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Osman ÖZKAN	Sağ. meslek mensubu olmayan üye	Selçuklu Belediyesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Av. Muhammed BAYSAL	Hukuk	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı

2

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Burak Cem SONER  
İmza:

## Ek 2. FLIE Emesis Skalası

### İşlevsel Yaşam İndeksi - Kusma HASTA İÇİN AÇIKLAMALAR

Aşağıdaki soru formunda sizden bulantı ve kusmaların yaşam kalitenizi ne kadar etkilemiş olduğunu derecelendirmeniz istenmektedir. İlk 9 soru bulantı ile, bunu izleyen 9 soru ise kusma ile ilgilidir. Soru formunu doldurmak yaklaşık 10 dakika veya daha az zaman almaktadır. Lütfen başlamadan önce açıklamaları okuyunuz. Her soruyu dikkatle düşününüz, çünkü vereceğiniz cevaplar gelecekte sizin durumunuzdaki kişilerin yaşam kalitesini düzeltecek tedaviler geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Her bir soruda, bulantının (ya da kusmaların) son beş gün içinde yaşam kalitenizin bir yönünü ne ölçüde etkilediğini derecelendireceksiniz. Lütfen **bu zaman diliminde** yaşadıklarınıza odaklanın. Bizi **sizin görüşleriniz** ilgilendiriyor, aile bireyleri ya da arkadaşlarınızın görüşleri değil. Cevaplarınız gizli kalacaktır.

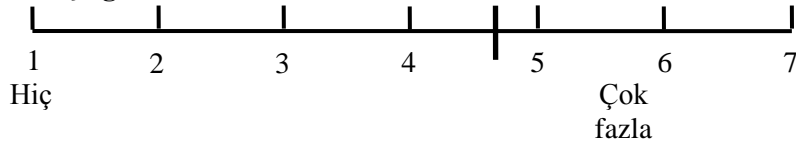
Her soruyu cevaplamalısınız. Koyduğunuz işaretin belirgin olması için siyah tükenmez kalem kullanın ve kalemi iyice bastırın.

Cevabınızdan emin değilseniz ya da soruyu anlamadıysanız, soruyu tekrar dikkatlice okuyun ve ne kadar anladıysanız, ona göre çizginin üzerine dik bir çizgi ( | ) çizin. Cevabınızı değiştirmek isterseniz lütfen şunları yapın: yeni bir dik çizgi ( | ) çizin; doğru işareti bir ok çizerek gösterin; yaptığımız düzeltmenin yanına adınızın baş harflerini ve tarihi atın.

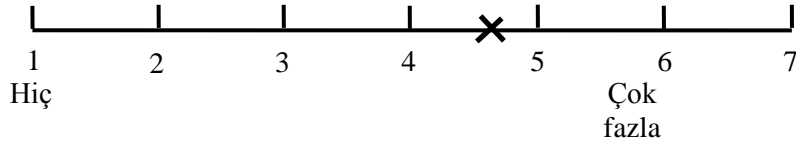
Her soru için görsel bir analog ölçek kullanılmıştır. Duyularınızı ve düşüncelerinizi nasıl derecelendirdiğinizi düşünün ve çizginin üzerine, bulantının (ya da kusmaların) yaşam kalitenizin o yönünü ne kadar etkilediğini en iyi gösterecek noktaya dik bir çizgi ( | ) çizin. **Lütfen soruyu dikkatli okuyun, çünkü bazı sorularda "1", yaşam kaliteniz üzerinde hiç etki olmadığını göstermekte, bazılarında ise "1" yaşam kaliteniz üzerinde büyük bir etki olduğunu ifade etmektedir.**

Dik çizginizi ( | ) çizgi boyunca istediğiniz yere koyabilirsiniz. Dik çizginin ( | ) yatay çizgiyi kestiğinden emin olunuz. Bir rakamı daire içine almayınız. Aşağıda gösterildiği gibi tek bir dik çizgi ( | ) kullanınız.

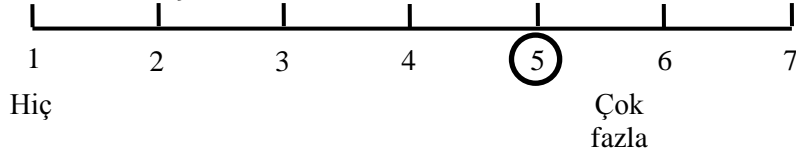
**Doğru: Dik bir çizgi**



**Yanlış: Tek "x"**



**Yanlış: Rakamın daire içine alınması**



Telif Hakkı © 1992 Celeste Lindley,



10. Son 5 gün içinde ne kadar kusmanız oldu?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Hiç Çok fazla

11. Son 5 gün içinde kusma, olağan dinlenme ve meraklarınızla ilgili faaliyetlerinizi sürdürebilmenizi etkiledi mi?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Çok fazla Hiç

12. Son 5 gün içinde kusma, yemek pişirmenizi ya da evde ufak tefek tamirat yapmanızı etkiledi mi?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Hiç Çok fazla

13. Son 5 gün içinde kusma, yemeklerden zevk alabilmenizi ne ölçüde etkiledi?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Hiç Çok fazla

14. Son 5 gün içinde kusma, içeceklerden zevk alabilmenizi ne ölçüde etkiledi?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Hiç Çok fazla

15. Son 5 gün içinde kusma, ailenizi ve arkadaşlarınızı görme ve onlarla vakit geçirme isteğinizi ne ölçüde etkiledi?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Çok fazla Hiç

16. Son 5 gün içinde kusma, günlük işlevlerinizi etkiledi mi?

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Hiç Çok fazla

17. Son 5 gün içinde kusmanızın, sizde (kişisel olarak) yarattığı güçlük derecesini gösteriniz.

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Hiç Çok fazla

18. Son 5 gün içinde kusmanızın, size en yakın olan kişilerde yarattığı güçlük derecesini gösteriniz.

|-----|

1 2 3 4 5 6 7  
Çok fazla Hiç