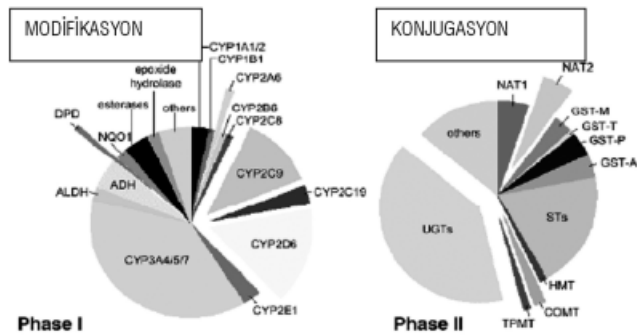


HEMATOLOJİDE FARMAKOGENETİK

Müge Aydın

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Farmakogenetik; bireyler arasında ilaca cevabı belirleyen genetik faktörleri inceleyen bilim dalıdır. Farmakogenomik ise yeni ilaçların geliştirilmesi ve uygulamaya koyulmasında önem taşıyan, içinde tıp, biyoinformatik, hücre biyolojisi, moleküler biyoloji, genomik, epidemiyoloji ve farmakoloji bilimlerini barındıran bir kavramdır. İlaçların standart dozları toplumun büyük bir kısmında iyi sonuç verir. Kilo, ağırlık, yaş, cinsiyet, enfeksiyonlar, alkol, diyet, karaciğer ve böbrek fonksiyonları bu durumu değiştirebilir. Ancak standart dozlarla tedavi edilen bazı kişiler ilaçları daha hızlı metabolize ederler ve klasik kullanılan dozlar bu kişilerde etkisiz kalır, etkin bir tedavi için dozu arttırmak gerekir. İlacı yavaş metabolize eden enzime sahip bir kişinin ise daha düşük dozda ilaca ihtiyacı vardır çünkü standart dozlar ilacın toksik etkilere yol açmasına neden olur. İlaçlar detoksifikasyon enzimlerinin yer aldığı değişik metabolik reaksiyonlar ile metabolize edilirler. Metabolik enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler enzim aktivitesini değiştirir ve bireyler arasında enzimin farklı aktivitede çalışmasına neden olur. Bu nedenle bireyler standart tedavi dozlarına farklı yanıt verirler. Metabolik genlerdeki polimorfizmler bir hastanın kanser tedavisine vereceği cevabı etkiler, öyle ki ilacın terapötik etki yaratacağı doz ile toksisite oluşturabileceği doz arasında çok ince bir çizgi vardır. Çoğu kanser tedavisinde hastalarda doz ayarlaması deneme-yanılma yaklaşımı ile yapılmaktadır. İlaç etkinliğini belirleyecek olan hastalara ve tümöre ait genetik elemanlara farklı bakış açıları, bireysel dozaj farklılıklarının belirlenmesine ve yan etkilerin azaltılmasına yardımcı olacaktır.



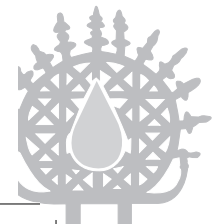
Klinik onkolojide kullanılan farmakolojik testler 2 grupta incelenebilir;

- A. Kemoterapötiklerin (5-fluorourasil, irinotekan, tiopurin vb) toksisitesinin belirlenmesinde kullanılan testler; toksisite dihidropirimidin dehidrogenaz, UDP glukuronozilt-ransferaz ya da tiopurin S metil transferaz vb genlerdeki polimorfizmler nedeni ile gelişebilmekte.
- B. Spesifik tirozin kinaz inhibitörleri (TKI) ile tedaviye yanıtı belirleyen testler; TKI ne yanıtı spesifik tirozin kinaz genlerindeki mutasyonlar sonucu değişiklik göstermektedir. Sadece spesifik bir mutasyon taşıyan hastalar spesifik TKI tedavisine yanıt vermektedirler.

A. Kemoterapötiklerin toksisitesinin belirlenmesinde kullanılan testler ve kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçları metabolize eden enzimler;

1. Pürin –pirimidin analoglarını metabolize eden enzimler
2. Folat metabolizmasında görevli enzimler
3. Sitokrom p450 enzimleri
4. Transferazlar
5. Taşıyıcı proteinle
6. Reseptörler

1. *Pürin–pirimidin analoglarını metabolize eden enzimler*; Tiopurinler lösemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Tiopurin öncüllerini, DNA'ya bağlanıp esas anti-lösemik etkiyi oluşturan tioguanin nükleotidlerine (TGN) dönüştüren tiopurin S-metil transferaz (TPMT) enzimleridir. Tiopurin grubu ilaçlar içinde ALL tedavisinde kullanılan merkaptopurin, AML tedavisinde kullanılan tioguanin ve yaygın olarak kullanılan bir immun baskılayıcı olan azatioprin bulunmaktadır. Merkaptopurinlerin terapötik etkinliği ve toksisitesinden sorumlu olan TPMT genindeki polimorfizmlerdir. TPMT genindeki tek baz değişimleri mRNA düzeyini etkilemeksizin, proteinin parçalanmasına yol açarak enzim aktivitesini etkiler. 300 kişiden 1 tanesi her iki allelinde de varyant geni taşır ve bu kişiler fonksiyonel bir TPMT enzimi taşımazlar. Bu



Hematolojide Farmakogenetik

Tablo 1 Onkolojide kullanılan farmakolojik testlere örnekler

TEST	HASTALIK	GEN	DOKU
5-FLUORO URASİL TOKSİSİTESİ	Çeşitli	DPD (Dihidropirimidin Dehidrogenaz) ALLEL 2A (IVS14+1G-)	DNA
		DPD (Dihidropirimidin Dehidrogenaz) ALLEL 3, 7, 8, 9 ve 10.	DNA
İRİNOTEKAN TOKSİSİTESİ	Çeşitli	UGT1A1 (UDP-Glukuronozil Transferaz) geni promotöründe TA insersiyonu	DNA
TİOPÜRİN TOKSİSİTESİ	Çeşitli	TMPT (Tiopurin S-metil Transferaz) ALLEL 1, 2, 3A ve 3C	DNA
HERSEPTİNE YANITSIZLIK	Meme kanseri	HER2 / NEU artmış ekspresyonu	Parafin blok-meme tümör dokusu
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	KML ve ALL	ABL geni EKZON 4-10 da mutasyonlar	Kan /kemik iliği RNA
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	KML ve ALL	BCR-ABL füzyonu	Kan /kemik iliği RNA
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Akut lösemiler	PDGFRB-TEL/ETV6 füzyonu	Kan /kemik iliği RNA
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Hipereozinofilik Sendrom	PDGFRB-TEL/ETV6 füzyonu	Kan /kemik iliği RNA
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Hipereozinofilik Sendrom	del(4)(q12q12) ve FIP1L1-PDGFRFA füzyonu	Kan /kemik iliği RNA
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Kronik eozinofilik lösemi	del(4)(q12q12) ve FIP1L1-PDGFRFA füzyonu	Kan /kemik iliği RNA
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	AML	KIT geni mutasyonları EKZON 8, 11 ve 17	Kan/kemik iliği Parafin blok biyopsi örnekleri
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Mastositozis	KIT geni mutasyonları EKZON 17	Parafin blok tümör dokusu
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Mast Hücreli Lösemi	KIT geni mutasyonları EKZON 17	Kan/kemik iliği Parafin blok biyopsi örnekleri
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Gastrointestinal Stromal, GIST	KIT geni mutasyonları EKZON 9, 11, 13 ve 17	Parafin blok tümör dokusu
GLİVEK/İMATİNİB YANITSIZLIĞI	Gastrointestinal Stromal, GIST	PDGFRFA geni mutasyonları EKZON 12 ve 18	Parafin blok tümör dokusu
IRESSA/GEFITİNİB YANITSIZLIĞI	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC)	EGFR (EPIDERMAL GROWTH FACTOR) geni mutasyonları EKZON 18-21	Etanol ile fiske edilmiş taze doku
FLT3 İNHİBİTÖRLERİ	AML	FLT3 (Tirozin Kinaz Reseptörü) geninde) aktive edici mutasyonlar Tandem Duplikasyonlar	Kan/kemik iliği
FLT3 İNHİBİTÖRLERİ	AML	FLT3 (Tirozin Kinaz Reseptörü) geninde) aktive edici mutasyonlar EKZON 14	Kan/kemik iliği
FLT3 İNHİBİTÖRLERİ	AML	FLT3 (Tirozin Kinaz Reseptörü) geninde) aktive edici mutasyonlar EKZON 20 (ASP835)	Kan/kemik iliği RNA
BETA2-AGONİST CEVABI	Çeşitli	ADRB2 geninde R16G ve Q27E mutasyonları	DNA

kişiler, merkaptopürin tedavisinden sonra çok miktarda TGN birikir, bu da "myelosuppresyon" a neden olur ve tedaviye tolere edebilmesi için, bu kişileri tedavi edecek standart dozun 1/10 kadar azaltılması gerekir. Toplumun %10 kadarı bu polimorfizmi heterozigot olarak taşır ve bu kişilerde TPMT aktivitesi "intermediate" düzeydedir, tedavide kullanılacak standart dozda daha hafif bir azaltma gerekir. Toplumun %90'ını tam TPMT aktivitesine sahip olan enzim varyantına sahiptir ve standart tedavi dozlarına yanıt verirler. En azın-

dan bir varyant TPMT alleleline sahip ALL hastaları, iki varyant allele sahip olanlara göre tedaviye daha iyi yanıt verirler. Düşük enzim aktivitesine sahip hastalarda sekonder tümör gelişme riski yüksektir. Hastalarda TPMT genotiplerinin belirlenmesi, yan etkilerin ortadan kalkmasına ve bireysel tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açacaktır.

2. *Transferazlar*; İrinotecan çeşitli solid tümörlerin (kolon ve akciğer kanseri vb.) tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Kar-



boksilesterazlar tarafından topoizomeraz I' i inhibe eden aktif SN-38'e dönüştürülmesi gerekir, böylece. Hepatik UDP glukuronoziltransferaz 1A1 (UGT1A1) SN-38'i glukuronidasyon ile metabolize eder. Irinotekanın doz ile ilgili diare ve lökopeni gibi toksik etkileri fazla miktarda SN-38 birikmesi sonucu ortaya çıkar. UGT1A1 enziminin düzeyi toplumda bireyler arasında 17-52 kat farklılıklar gösterir. UGT1 lokusunun organizasyonu kompleksdir ve bu lokusta kodlanan en azından 12 adet UGT glukuronoziltransferaz enzimi bilinmektedir. Enzim düzeyleri azaldığında kanda konjuge olmamış bilirubin düzeyleri artar. UGT1A1 geninin promotör bölgesindeki TA tekrarları vardır ve bu tekrar sayılarının artması enzimin ekspresyonunu etkiler; azalmış UGT1A1 düzeyleri kronik hiperbilirubinemi olan Gilbert Sendromu'na yol açar. Tekrar sayısının 6 dan fazla olması durumunda UGT1A1 enzim düzeyi azalır, buna bağlı olarak SN-38 glukuronidasyon düzeyleri azalır. Gilbert Sendromlu bireyler TA_n/TA_n sahiptirler ve irinotekan toksisitesi geliştirmek için yüksek riske sahiptirler. CYP3A genlerindeki polimorfizmler de irinotekan metabolizmasını etkileyebilir.

Glutasyon S-transferazlar (GST) genlerindeki polimorfizmler de kanser kemoterapisinin etkinlik ve toksisitesinde rol oynarlar. Çoğu reaktif kimyasal bileşik glutasyon ile konjugasyon sonucunda inaktive edilir. GST genleri de yüksek oranda polimorfik özelliktedir, toplumumuzun %50'si GSTM1 ve %20'si GSTT1 geni içinde delesyonlar taşır. Bu delesyonlar sonucunda GST enzim aktiviteleri bireyler ve toplumlar arası büyük farklılıklar göstermektedir. GSTP1 ve GSTA genlerindeki polimorfizmler ise çeşitli antikanser ilaçlara dirençten sorumlu tutulmaktadır.

3. *Folat metabolizmasına katılan enzimler*; Folat metabolizması ve homeostazında görevli anahtar enzimleri (MTHFR, RFC vb.) kodlayan genlerdeki polimorfizmler bireyler arası farklılıklara neden olmaktadır. Metotraksat, lösemi, lenfoma ve meme kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılan bir folik asid antagonistidir. 5'-10' metilen tetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) enzimi indirgenmiş folat ve homosistein düzeylerini normal düzeylerde tutar. MTHFR genindeki C677T polimorfizminin, kemik iliği transplantasyonuna giren hastalarda uygulanan metotraksat tedavisi sonucu gelişen oral mukozid için ön belirteç olduğu gösterilmiştir. MTHFR geninde homozigot mutant (TT) hastalar %10 ve heterozigot (CT) hastalar %50 düzeylerinde azalmış enzim aktivitesine sahiptirler. Metotraksat dihidrofolat reduktazı (DHFR) inhibe eder, artmış DHFR düzeyleri metotraksata karşı direnç gelişmesine yol açar. DHFR 829.nt de yer alan T>C değişimi DHFR düzeylerinin artmasına neden olur ve bu varyantı homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan bireylerde, hiç taşımayanlara oranla DHFR düzeyleri 2-11 kat artmış görülmektedir ve standart doz tedavi yetersiz kalmaktadır. Metotraksat hücrelere RFC (reduced folate carrier) aracılığı ile girer ve bu taşıyıcı proteinin mutant formları metotraksat

transportunun bozulmasına ve de bu tedaviye direnç gelişmesine neden olur. Ekzon1 de oluşan G>A transisyonu folat düzeylerinin değişmesine yol açar.

4. *Sitokrom p450 enzimleri*; Başlıca karaciğer ve incebarsakta lokalize, memebraña bağlı, pek çok endojen steroid ve hormonun ve de ilaçların oksidatif metabolizmasında görevli enzimlerdir. Sitokrom p450 enzimleri antikanser tedavide kullanılan ilaçların aktivasyonu ya da inaktivasyonundan sorumludur. CYP3A P450, sitokrom p450 enzimlerinin yaptığı metabolizmanın %50 sinden sorumludur. İki ana formu yaygın olarak ekspresyon gösterir; CYP3A4 ve CYP3A5. Her iki gen de polimorfik özelliktedir ve kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yarısından fazlası CYP3A substratıdır. Bu genlerdeki polimorfizmler kanser ilaçlarının farmakodinamiğini etkilemektedirler.

5. *Taşıyıcı proteinler*; ABC (ATP-bağlayan protein) taşıyıcı ailesi; MDR1 tarafından kodlanan p-glikoprotein ve en azından 7 çeşit "multi drug resistance (MRP)" proteinden oluşmaktadır. Taşıyıcı proteinlerin ekspresyonlarını düzenleyen genlerdeki (p53, N-MYC vb.) delesyonlar ya da amplifikasyonlar bu proteinlerin ekspresyonlarının artmasına ve tümör hücrelerinin ilaca direnç göstermesine neden olur. MDR1, MRP1 ve MRP2 genleri polimorfik özelliktedir ancak klinik onkoloji ile ilişkileri hneüz net olarak gösterilmemiştir.

6. *Reseptörler*; İlaç reseptörlerini kodlayan genlerdeki germline polimorfizmler anti-kanser ilaçların terapötik indeksini de etkilemektedir. Örneğin vitamin D reseptörü, glukokortikoid reseptörü, kardiyak iyon kanalı vb birçok reseptör ve kanaldaki fonksiyonel polimorfizmler, kanser tedavisinin etkinliğini ve istenmeyen yan etkilerin oluşumunu belirlemektedir.

Kemoterapi ALL hastalarının %80'ini iyileştirebilir, ancak kalan hastaların (%20) kanser hücreleri kemoterapötik ilaçlara karşı direnç geliştirirler ya da ölümcül toksisite geliştirirler. Eğer dozlar bireysel olarak ayarlanabilirse tedavi etkinliği maksimuma çıkar ve yan etkiler minimuma iner. Klinik farmakogenomik çalışmalarda en güzel doku periferik kandır; elde etmek pratik, hastalardan toplamak ve değişik hastalık evrelerini kolaylıkla izlemek mümkündür. İlaçların yan etkileri temel bir halk sağlığı problemidir. İlaç tedavisine başlamadan önce farmakogenetik test yapılmasının bu sorunu çözebileceği düşünülebilir. Test uygulanması bazı ilaç yan etkilerini yok edebilir. Ayrıca ileri teknikler kullanarak gen ekspresyon profillerinin belirlenmesi ile bir hastada hangi genlerin aktive olduğunu saptanabilir ve tedaviden yararlanabilecek ya da yan etki geliştirebilecek bireyler önceden belirlenebilir.



B. Spesifik tirozin kinaz inhibitörleri (TKI) ile tedaviye yanıtı belirleyen testler

Kronik myeloid lösemi (KML) hastalarının tedavisinde kullanılan Glivec (imatinib mesilat), BCR-ABL füzyon transkriptinin tirozin kinaz aktivitesini baskılayan bir ajandır. Her ne kadar tedavi sonucunda yüksek hematolojik ve sitogenetik yanıt elde ediliyor olsa da özellikle ileri kronik faz ve akselere fazda bulunan hastalarda, primer cevap alınamamakta ya da edinsel dirençler gözlenmektedir. Glivec'e direncin en önemli sebebi BCR-ABL geninde bulunan Abl kinaz bölgesindeki nokta mutasyonlardır. İmatinib, BCR-ABL proteinine bağlanarak ATP'den fosfat iletimini engeller ve bu sayede alt yolağı baskılayarak etki gösterir. Ancak ATP bağlanma

bölgesindeki mutasyonlar imatinibin spesifik bağlanmasını engellemekte ya da imatinibin bağlanamayacağı bir protein yapısı oluşmasına sebep olmaktadır. Dirençli fenotiplerde gösterilmiş çok sayıda mutasyon bulunmaktadır ve birçoğu bağlanma yetileri ve dereceleri açısından tanımlanmışlardır. Mutasyonlardan bazıları (örneğin Y253F/H, E255K/V, T315I) tam anlamıyla bir dirence sebep olarak Glivec'e alternatif terapilere ihtiyaç duyarken, diğer bir gurup mutasyonda (örneğin M244V, F311L, F359V) doz artırımıyla bu direncin üstesinden gelinebilmektedir. Hematolojik ve sitogenetik direnç gösteren hastalarda tedaviye karar verilirken, sadece mutasyonun varlığı değil sebep olduğu aminoasit değişimi de araştırılmalıdır.

