

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**ONKOLOJİK AĞRI TEDAVİSİNDE TRAMADOL ETKİNLİĞİNİN CYP2D6
GEN POLİMORFİZMİ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. SELAHATTİN İPLİKÇİ

DANIŞMAN
PROF. DR. BÜLENT ERDUR

DENİZLİ 2019

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**ONKOLOJİK AĞRI TEDAVİSİNDE TRAMADOL ETKİNLİĞİNİN CYP2D6
GEN POLİMORFİZMİ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. SELAHATTİN İPLİKÇİ

DANIŞMAN
PROF. DR. BÜLENT ERDUR

DENİZLİ 2019

Prof. Dr. Bülent ERDUR danışmanlığında, Dr. Selahattin İPLİKÇİ tarafından yapılan "Onkolojik ağrı tedavisinde tramadol etkinliğinin cyp2d6 gen polimorfizmi ile ilişkisi" başlıklı tez çalışması 18/04/2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Acil Tıp Anabilim/Bilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Mehmet Zihni

ÜYE

Prof. Dr. Bülent ERDUR

ÜYE

Doç. Dr. Özler TOMRUK

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

18 / 04 / 2019

Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tez çalışmam süresince beni destekleyen tecrübesi, engin bilgisi ve tecrübesiyle bana ilham veren Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Bülent Erdur'a

&

Her yardım istediğimde hiç geri çevirmeden destek veren Sayın Doç. Dr. Aylin KÖSELER'e

&

Akademisyenliği ve kişiliği ile her zaman bana örnek olan, yetişmemde katkıları olan Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp AD 'daki hocalarım Prof.Dr İbrahim TÜRKÇÜER'e, Dr. Öğr. Üyesi. Atakan YILMAZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Mert ÖZEN'e , Dr. Öğr. Üyesi Murat Seyit'e

&

Hayatımın her aşamasında sevgisiyle ve sabrıyla yanımda olan, beni destekleyen aileme,

&

Tez çalışmam süresince benden yardımlarını esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Hastanesi Acil Tıp A.D.'nda görevli meslektaşlarıma sonsuz TEŞEKKÜR EDERİM...

Dr. Selahattin İPLİKÇİ

Denizli, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
GRAFİKLER DİZİNİ.....	IX
ÖZET.....	X
İNGİLİZCE ÖZET.....	XI
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. AĞRI TANIMI ve SINIFLAMASI.....	3
2.1.1. Ağrının Süresine Göre Sınıflama	
2.1.2. Oluşum Mekanizmasına Göre Ağrı Sınıflaması	
2.1.3. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflaması	
2.1.4 Ağrının Algılanması	
2.2. KRONİK AĞRI.....	5
2.2.1.Kanser Ağrısı	

2.2.2. Kanser ağrısının Etiyolojisi	
2.2.3. Kanser ağrısının patofizyoloji	
2.2.4. Kanser ağrısı sendromları	
2.2.5. Ağrının ölçülmesi.	
2.2.6. Kanser ağrısında tedavi	
2.3. ANALJEZİKLER	11
2.3.1. Non-opioid analjezikler (NSAİİ-parasetamol)	
2.3.2. Opioid Analjezikler	
2.3.3 Tramadol	
2.4 FARMAKOGENETİK NEDİR ?	15
2.4.1 Genetik Faktörlere Bağlı Etki Değişikliği	
2.5 BİYOTRANSFORMASYON.....	17
2.5.1 Biyotransformasyonda bilinmesi gereken temel kavramlar	
2.5.2 Biyotransformasyon Olayının ve Enzimlerinin Temel Özellikleri	
2.6 SİTOKROM P450 ENZİM SİSTEMİ.....	21
2.6.1 CYP2D6 Moleküler Genetiği	
2.6.2 CYP2D6 Enzim Aktivitesi ve Polimorfizmi	
2.6.3 Polimorfik ilaç oksidasyonu	

2.7 POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ (PCR).....	26
2.7.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Oluşum Mekanizması	
2.7.2 DNA'nın Denatürasyonu	
Primerlerin Bağlanması (annealing)	
Primerlerin uzatılması (extension) ve Amplifikasyonu	
2.7.3 PCR'ın Temel Bileşenleri	
Kalıp DNA- Polimerazlar- Primerler	
Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP)	
Tamponlar ve MgCl₂	
2.8 ELEKTROFOREZ.....	30
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
4.BULGULAR.....	34
5.TARTIŞMA.....	50
SONUÇLAR.....	61
KAYNAKLAR.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

CYP2D6	Sitokrom P450 2D6
NSAID	Non Steroid Anti-inflamatuar İlaçlar
NA	Noradrenalin
5HT	Serotonin
COX	Siklooksijenaz
IASP	International Association for the Study of Pain
CPRS	Kompleks Rejyonel Ağrı Sendromu
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
PCA	Hasta Kontrollü Analjezi
PCI	Proinflamatuvar Sitokinler
ET-1	Endotelin-1
PG	Prostaglandin
LANSS	Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs
VAS	Visual Analog Scale
NRS	Numerical Rating Scale
VRS	Verbal Rating Scale
MAO	Monoamin Oksidaz
NADPH	Nikotinamid Adenosin Dinükleotidfosfat
DDT	Dikloro Difenil Trikloroethan
UGT	UDP- glukuronil transferaz
NAT	N- asetil transferaz
PM	Zayıf metabolizörler
IM	Orta hızlı metabolizörler
EM	Normal metabolizörler
UM	Hızlı metabolizörler
dNTP	Deoksiribonükleozid Trifosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Ağrının algılanması

Şekil 2 Kansere ağrısının patofizyolojisi

Şekil 3 Dünya Sağlık Örgütü'nün Basamak Prensipleri

Şekil 4 Tramadolün kimyasal yapısı

Şekil 5 Defektif gen transkripsiyonu

Şekil 6 İlaç etken maddelerinin Faz I ve Faz II reaksiyonları sonucu olası atılım şekilleri

Şekil 7 CYP2D6'nın sistematik adlandırması

Şekil 8 CYP450 sisteminin reaksiyon basamakları

Şekil 9 Sitokrom P450'lerle metabolize edilen ilaçların dağılımı

Şekil 10 CYP2D lokusunda bulunan genler

Şekil 11 CYP2D6*2 allelinin gen duplikasyonu ve UM oluşumu

Şekil 12 Hasta ve Kontrol Grubunda Yaş ve Cinsiyet Verileri

Şekil 13 Hasta Grubunda Kansere Türleri ve Yüzdeleri

Şekil 14 Hasta ve Kontrol Grubunda Genotip ve Fenotip Frekansları

Şekil 15 Hasta ve kontrol grubunda allel frekansları

Şekil 16 Fenotiplere göre VAS Skorlarının 0-60. Dakikalardaki Değişimi

Şekil 17 Fenotipe göre ateş değerlerinin değişimi

Şekil 18 Fenotipe göre TA değerlerinin değişimi

TABLULAR

Tablo 1 Opiyoid reseptörleri ve klinik etkileri

Tablo 2 CYP2D6 enzimi ile metabolize olan ilaç etken maddelerinden bazıları

Tablo 3 Hasta ve Kontrol Grubunda Yaş ve Cinsiyet Verileri

Tablo 4 Hasta Grubunda Vital Bulguların 0-60. Dakikalardaki Değişimi

Tablo 5 Hasta Grubunda Görülen Kanser Türleri ve Yüzdeleri

Tablo 6 Hasta Grubunda Metastaz, Radyoterapi, Kemoterapi Alımı Durumu

Tablo 7 Hasta Grubunda Laboratuvar Verileri

Tablo 8 Hasta Grubunda VAS Skorları ve Değişimi

Tablo 9 Hasta Grubunda Metastaz Varlığı ve VAS Skor değişimi İlişkisi

Tablo 10 Hasta ve Kontrol Grubunda CYP2D6 Genotip ve Allel Frekansları

Tablo 11 Hasta ve Kontrol Grubunda Genotip ve Fenotip Frekansları

Tablo 12 Kanser Türleri ve Fenotipler

Tablo 13 Fenotiplere göre Vitallerin 0-60. Dakikalardaki Değişimi

Tablo 14 Kanser Türlerine Göre VAS Skorlarının Değişimi

Tablo 15 Genotiplere Göre VAS Skor Değişimi

Tablo 16 Fenotiplere göre VAS Skorlarının 0-60. Dakikalardaki Değişimi

ÖZET

Ağrı, kanserin en sık ve rahatsız edici semptomlarından bir tanesidir ve geçirilemeyen kanser ağrısı uluslararası bir sağlık problemi olarak bilinmektedir. Acil servise yapılan başvuruların önemli bir kısmını kronik ağrı yakınması olan onkoloji hastaları oluşturmaktadır.

Kanser ağrısının semptomatik kontrolünü amaçlayan çeşitli yöntemler mevcuttur. Prensip; en basit, en az invaziv, risk/fayda oranı en düşük yöntemden başlanmasıdır. Dünya Sağlık Örgütü onkolojik ağrı tedavisinde basamak prensibini önermektedir. Analjezik sınıflamasında zayıf opioid grubunda yer alan tramadol , 2.basamakta kendine yer bulur. Tramadol , yan etki riski ve bağımlılık potansiyeli diğer opioidlere göre düşük bir analjezik olmasından dolayı güvenle kullanılabilir.

Tramadol karaciğerde sitokrom p450 enzim sistemi tarafından metabolize edilir. CYP2D6 günümüzde en iyi karakterize edilmiş polimorfik sitokrom P450 enzimidir. Karaciğerdeki toplam sitokrom P450 enzimlerinin sadece %2'sini oluşturmasına rağmen, sık kullanılan ilaçların yaklaşık %20-25'inin metabolizmasından sorumludur. Polimorfizmlerin populasyon içinde oluşturduğu varyasyonlar; herhangi bir ilacın alınımı, taşınımı, yıkımı ve atılımı gibi her bir basamağında etkili olabilir.

Literatürdeki çalışmalarda CYP2D6 etkinliği bakımından defektif genotipe sahip bireylerde, ilaçlara bağlı yan etkilerin görülme sıklığının daha yüksek olduğu, CYP2D6 etkinliğinin normal olduğu bireylerde ise, ilaçların daha iyi metabolize edilmeleri sonucu yeterli ve etkin tedavinin sağlandığı gözlenmiştir. Dolayısıyla başta ilaç metabolize eden enzimlerde olmak üzere, ilaçların kinetiği ve/veya dinamiğinde rol oynayan gen polimorfizmlerinin aydınlatılması, onkolojik ağrıda farmakoterapinin başarısını önemli ölçüde arttıracaktır. İlacın veya etkenin, hedeflenen doğrultuda tedavi edici veya etkili olabilme özelliğinin standardizasyonundan ziyade, genotipe uygun şekilde verilmesi daha gerçekçi ve akılcıdır. Bizim çalışmamızdaki amacımız onkolojik ağrı yakınmasıyla acil servise başvuran hastalarda, sitokrom P450 enzim ailesinin bir üyesi olan CYP2D6 enzimindeki genetik farklılıkları ortaya koymak ve bu farklılıkların analjezik tedaviye etkisini belirlemektir.

Anahtar Kelimeler: CYP2D6 , tramadol, onkolojik ağrı, polimorfizm

SUMMARY

Pain is one of the most frequent and disturbing symptoms of cancer, and unexplained cancer pain is known as an international health problem. Oncology patients who have chronic pain are the major part of applications to the emergency department.

There are several methods for symptomatic control of cancer pain. Principle; the simplest, least invasive, risk / benefit ratio starting from the lowest method. The World Health Organization recommends the rung principle in oncological pain treatment. In the analgesic classification, tramadol in the weak opioid group finds its place in the 2nd stage. Tramadol can be used safely because the risk of side effects and addiction potential is low analgesic compared to other opioids.

Tramadol is metabolized by the cytochrome p450 enzyme system in the liver. CYP2D6 is the best characterized polymorphic cytochrome P450 enzyme in these days. Although it constitutes only 2% of the total cytochrome P450 enzymes in the liver, it is responsible for the metabolism of approximately 20-25% of the commonly used drugs. Variations within the population of polymorphisms; it may be effective in every step of the drug such as the uptake, transport, destruction and excretion of any drug.

In the literature, it has been observed that in individuals with defective genotypes with respect to CYP2D6 activity, the incidence of drug-related side effects is higher, and in cases where CYP2D6 activity is normal, it is observed that adequate and effective treatment is achieved as a result of better metabolization of drugs. Thus, the elucidation of gene polymorphisms involved in the kinetics and / or dynamics of drugs, especially in drug metabolizing enzymes, will significantly increase the success of pharmacotherapy in oncological pain. It is more realistic and rational to administer the drug or agent in accordance with the genotype, rather than the standardization of its therapeutic or efficacy in the intended direction. The aim of our study was to determine the genetic differences in CYP2D6 enzyme which is a member of cytochrome P450 enzyme family and to determine the effect of these differences on analgesic treatment in oncologic pain complain.

GİRİŞ

Acil servise yapılan başvuruların önemli bir kısmını kronik ağrı yakınması olan onkoloji hastaları oluşturmaktadır. Bu hastaların bir kısmının taburculuğu hızla mümkün iken klinik takip gerektiren ve tedaviye dirençli ağrı şikayeti olan hastaların acil serviste yatış süresi uzamaktadır. Bu uzayan sürede acil serviste tedavinin amacı, en az istenmeyen yan etki ile ağrıyı hızla dindirmek ve hasta konforunu arttırmaktır.

Onkolojik ağrıların tedavisinde parasetamol, opiyat ve NSAID ilaçlar sıklıkla kullanılmaktadır ancak parasetamol ve NSAİ ilaçlar tek başlarına çoğunlukla yeterli olmamaktadır. Tramadol diğer opioidlerin eş değer dozlarına göre daha az solunum depresyona sebep olmakta , daha düşük bağımlılık ve tolerans gelişime sahip olmakta ve suistimal olasılığı düşük olduğu için tedavide sık kullanılan bir opiyattır.

Tramadol hidroklorid (1RS,2RS) - 2 - [(dimetila-mino) metil] - 1 (3metoksifenil) sikloheksanal HCl, santral etkili, sentetik bir analjeziktir. Analjezik sınıflamasında zayıf opioid grubunda yer alan tramadol aslında hem opioid hem de non-opioid etki mekanizmasına sahip çift etkili ilginç bir ilaçtır. Zayıf μ -opioid reseptör agonist etkisine ek olarak noradrenalin (NA) ve serotoninin (5-HT) presinaptik geri alınımını inhibe etmekte, aynı zamanda 5-HT'nin salınımını stimüle etmektedir . Böylece endojen analjezi sistemini hem opioid agonist mekanizma ile hem de monoaminerjik etkisi ile potansiyelize etmektedir. Bu özelliği ile tramadolün, analjezik/adjuvan etkiyi bir arada içerdiği düşünülebilir. Bu iki mekanizma ile elde edilen additif etkinin, antinosisepsiyonda belirgin, yan etkide daha az olması, tramadolün orta şiddetli kanser ve kanser dışı akut ve kronik ağrının tedavisinde yaygın kullanımının nedeni olmuştur.

Tramadol sentetik bir opioid olup, sitokrom P450 enzim sistemine ait polimorfik bir enzim olan CYP2D6 enzimi ile metabolize edilmektedir. CYP2D6 geni 22. kromozomda CYP2D7P ve CYP2D8P psuedogenleriyle ilişkili olarak CYP2D6-8 klastırında yer alır. Farklı genotipe sahip olan hastalarda tramadol tedavisine farklı yanıtlar vermektedir. Genetik durumlar bazı ilaçların farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini etkiler ve monogenik geçiş gösterir. İlaç

etkisinin bireyler arasında değişiklik göstermesine yol açan bu durumların bir kısmı polimorfizmler, bir kısmı da nadir fenotipler olarak tanımlanır. Genetik polimorfizm, normal popülasyonda en az iki fenotipin bulunduğu ve bu fenotiplerden birisinin frekansının %1'den fazla olduğu monogenik bir özelliktir.

İlaçların farmakokinetiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler özellikle ilaç metabolizmasında ortaya çıkar. İlaçların metabolizmasından sorumlu olan enzimlerin sentezinin veya yapısının bozulmuş olduğu fenotipe yavaş metabolizör, normal olduğu fenotipe ise hızlı metabolizör denir. Yavaş metabolizörlerde ilaç eliminasyon hızı azalır, genellikle ilacın etkisi şiddetlenir ve toksik belirtiler ortaya çıkabilir. İlaç eliminasyon hızının genetik yapıya göre değişmesinin ana nedeni, ilaç metabolizmasında rol alan enzimlerin sentez hızının ve niteliğinin genetik polimorfizm göstermesidir.

Bizim çalışmamızın amacı acil servise onkolojik ağrı yakınmasıyla başvuran hastaların analjezisinde kullanılan tramadolun etkinliğinin, CYP2D6 gen polimorfizmi ile ilişkisini değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

2.1 AĞRI TANIMI VE SINIFLAMASI

International Association for the Study of Pain (IASP). Taksonomi Komitesi tarafından 1979 yılında yapılan tanımlamaya göre: Ağrı, var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş gitmeyen duysal ve emosyonel deneyimdir (1). Bu tanımlamada ağrının objektif, sübjektif, emosyonel ve psikolojik yönlerinin biraraya getirildiği belirgindir. Nosisepsiyon terimi noci (Latince zarar-yarar)'den gelme olup travmatik veya ağrılı uyaranlara (noxious stimuli) nöral yanıtı belirlemektedir (2). Tüm nosisepsiyonlar ağrıyı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosisepsiyon sonucu değildir. Noksiyus stimuluslar olmasa da bazı hastalar ağrıdan yakınmaktadır.

Buna göre klinik ağrıyı iki kategoriden birisine koymak olasıdır:

- a. Akut ağrı, primer olarak nosisepsiyona bağlıdır (3),
- b. Kronik ağrı, nosisepsiyona bağlı olabilir; ancak, psikolojik ve davranışsal faktörler önemli rol oynamaktadır.

Ağrıyı fizyopatolojisine (nositseptif veya nöropatik ağrı), etyolojisine (postoperatif ağrı veya kanser ağrısı) veya etkilediği yere göre (baş ağrısı, bel ağrısı, karın ağrısı) sınıflandırmak olasıdır. Böyle bir sınıflandırma ağrı tedavisinde yöntem ve ilaç belirlemede yol gösterici olmaktadır (4).

Ağrının Süresine Göre Sınıflama

Akut ağrı; doku hasarına, hastalığa veya kas ya da iç organların anormal fonksiyonuna bağlı olarak, ağrılı uyaranın meydana getirdiği ağrılı duruma denir. Duyusal, algısal ve emosyonel deneyimlere verilen otonomik, psikolojik, emosyonel ve davranışsal yanıtları içermektedir (5). Hemen her zaman nosiseptiftir. Organizmayı korumaya, hasarı lokalize etmeye ve sınırlandırmaya yaramaktadır.

Kronik ağrı; akut bir hastalıktan veya makul bir iyileşme sürecinden sonra ağrının devam etmesi ile kronik ağrı meydana gelmektedir. Bu süreç 1-6 ay arasında değişmektedir. Altı hafta süreyle ağrının kesintisiz devam etmesi klinik olarak kronik

ağrı sınıfında değerlendirilebilir. Kronik ağrı nosiseptif, nöropatik veya her ikisi birden olabilir.

Oluşum Mekanizmasına Göre Ağrı Sınıflaması

Nosiseptif ağrı; Bunlara rnek olarak kas ve eklem ağrıları, kanser ağrısı ve gerilim tipi baş ağrısı gösterilebilir. Doku yaralanması ve inflamasyon birlikteliği bu ağrı şeklini ortaya çıkarmaktadır. Miyelinli A-delta ve miyelinsiz C lifleri ile iletilirler (6); non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlara (NSAİİ) ve opioidlere yanıt verirler.

Nöropatik ağrı; Postherpetik nevralji, kompleks rejyonal ağrı sendromu (CRPS) ve fantom ekstremite ağrısı örnek olarak verilebilir. Periferik veya santral sinir sisteminde harabiyet söz konusudur. Yanma şeklinde kendini gösterir. Genelde opioidlere pek yanıt vermeyen, daha çok lokal anesteziyelere, antikonvlsanlara veya trisiklik antidepressanlara yanıt veren bir ağrı modelidir (7).

Psikosomatik ağrı; Anksiyete ve depresyon gibi psişik ve psikososyal sorunların arttığı durumlarda ağrı olarak tanımlanan duygulardır. Somatizasyon, hipokondriazis, bu ağrı tipine örnek oluştururlar (8).

Deafferentasyon ağrısı; Periferik ve santral sinir sistemi yaralanmaları sonucunda somatosensorial uyarın iletiminin merkezi sinir sistemine gidişinin kesilmesi ile ortaya çıkar. Talamik ağrıları ve fantom ağrısı örnek olarak gösterilebilir (6).

Reaktif ağrı; Motor veya sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu ile nosiseptörlerin uyarılması sonucu oluşan myofasyal ağrı örnektir.

Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflaması

Somatik ağrı; Periferik veya derin dokulardaki hasara bağlı gelişir. Cilt, seroza, kemik, kas, ligament ve kemiklerde nosiseptif reseptörlerin stimulasyonu ile oluşur. Genellikle iyi lokalize edilebilen sızlama, bıçak saplanır tarzda, zonklayıcı ve bazen oyucu karakterdedir (9). Pozisyon ve hareketle artar.

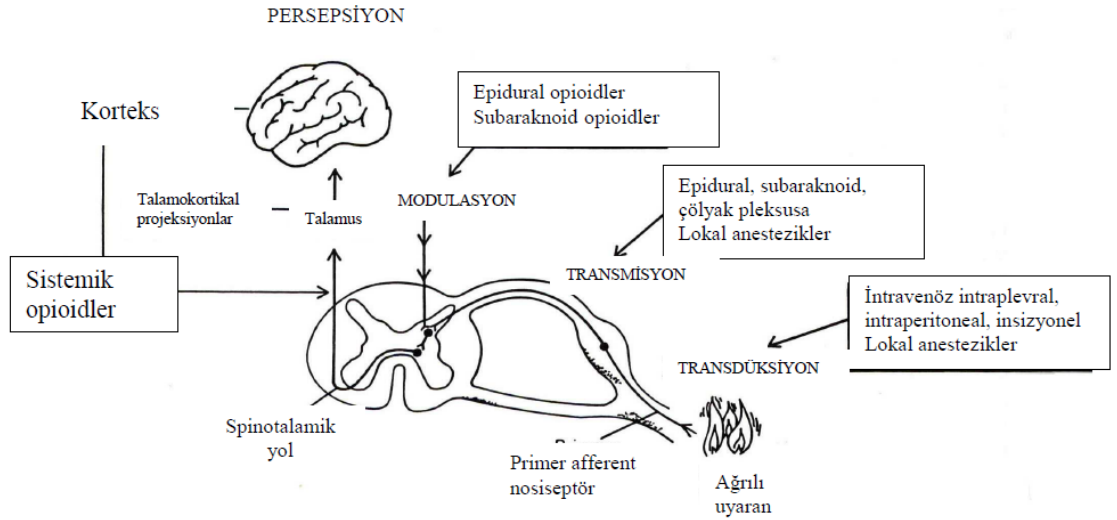
Visseral ağrı; Toraks, abdomen veya pelvis içerisindeki organların tümör infiltrasyonu veya hasarına bağlı olarak gelişir. İyi lokalize edilemez, yaygın ve geniş bir alandadır. Sıklıkla bulantı, kusma, terleme ve periferik vazospazm gibi otonomik fonksiyonlarla birlikte gözlenir. Ağrı obstrüksiyona bağlı ise kemirici veya kramp

şeklinde, organ kapsülünü ve mezenteri de etkilemişse keskin ve zonklayıcı karakterdedir. Ağrı etkilenen organlardan uzak bir yerde yüzeysel noktalara yansıyabilir (10).

Sempatik ağrı; Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile ortaya çıkar damar kökenli ağrılar, refleks sempatik distrofi ve kozaljiler örnek verilebilir. Soğukluk, üşüme belirtisi ve distrofik değişiklikler vardır (11).

Ağrının Algılanması (BİLGİ SÜRECİ TEORİSİ)

- 1) Ağrılı uyarının ağrı bilgisi haline gelip bir süreç halinde merkezi sinir sistemi ile bütünleşmesi
- 2) Merkezi sinir sistemi sürekli olarak somatosensoriyal ve psikolojik verilerin değerlendirilmesi ve yeni bir bilgi haline getirilmesi
- 3) Ağrıya karşı reaksiyonun oluşturulması



Şekil 1: Ağrının algılanması

2.2 KRONİK AĞRI

Kronik ağrı, 3 aydan uzun süren veya altta yatan sebebin tahmin edilen iyileşim sürecinden daha uzun sürdüğü, kişinin iyilik hali, fonksiyon düzeyi ve yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir ağrıdır (12). Akut ağrı koruyucu mekanizmalar içerirken, kronik ağrı fizyolojik fonksiyonlara hizmet etmez, koruyucu

bir semptom değildir. Tanımlanması oldukça güçtür. Nosiseptif, nöropatik ve mikstip'te olabilir (13).

Asya, Afrika, Avrupa, Güney ve Kuzey Amerika ülkelerinin dahil olduğu 14 ülkeden 15 merkezli DSÖ rehberliğinde yapılan bir araştırmada birinci basamak sağlık merkezlerine başvuran hastaların %22'si ağrılarının 6 aydan uzun süredir devam ettiğini ifade etmektedirler (14). Gelişmiş ülkelerde bu oran % 10,5'den % 55,2'ye kadar yükselmektedir (15,16).

KANSER AĞRISI

Tüm dünyada her yıl yaklaşık 19 milyon kişi kanser ağrısına maruz kalmaktadır. Bunların %40-80'i orta veya şiddetli ağrı çekerler (12). Orta doğu ülkelerinde giderek artan kanser ağrısı için opioid palyatif bakım merkezleri bulunmaktadır.

Ağrılar kanseröz lezyonun kendine, metastatik hastalığa, sinir basıları veya infeksiyon gibi komplikasyonlara, tedaviye veya tamamen bağımsız faktörlere bağlı olabilir (13). Bu nedenle ağrıyı tedavi eden kişinin kanserin niteliği, safhası, metastatik hastalık varlığı ve tedavilerini iyi bilmelidir (14). Kanserde ağrı, önemli bir semptom olarak karşımıza çıkmakta ve görülme sıklığı metastazlı hastalarda %30, ileri dönemdeki hastalarda %80 olmak üzere belirtilmektedir. Her yıl dünya genelinde 4-5 milyon hastanın kanserden öldüğü varsayılırsa bu hastaların yaşamlarının son dönemlerini ağrılar ve acılar içerisinde geçirmeleri hem tıp sorunu hem de sosyal sorun olarak kabul edilmelidir. Etkin kanser ağrısı tedavisi için kanser ağrısının yapısının iyi bilinmesi, ağrılı hastanın değerlendirilmesinin uygun sorgulamalarla yapılması, opioid ve non opioid ilaçların farmakolojisinin iyi bilinmesi, ileri ağrı tedavi tekniklerinin (hasta kontrollü analjezi-PCA, spinal opioidler, anestezi ve cerrahi uygulama yenilikleri) hatasız uygulanabilmesi gerekmektedir (15.16).

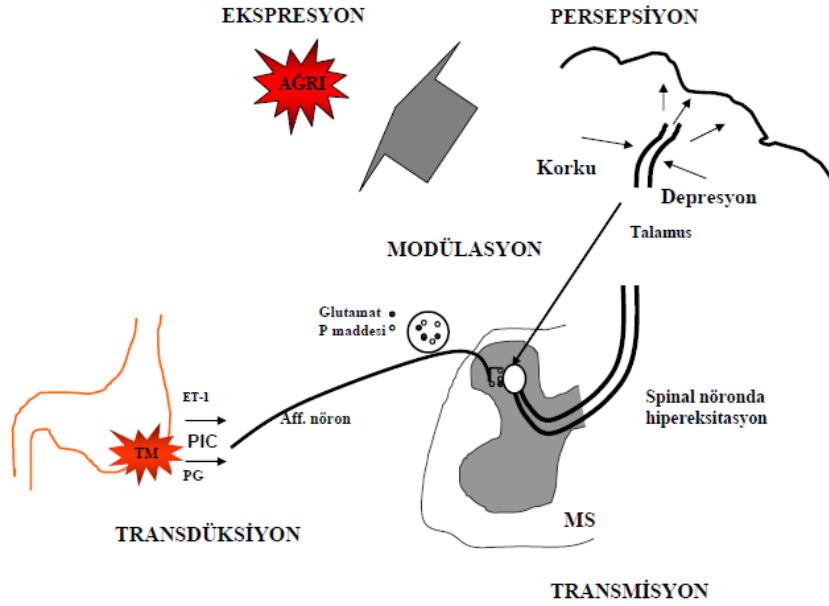
ETYOLOJİ

Kanser ağrısı nosiseptif veya nöropatik mekanizmayla olabilir ve ciddi kanser ağrı sendromu şeklinde görülebilir. Tümörün sebep olduğu ağrı mekanizmaları içerisinde lenfatik veya vasküler yapıların obstrüksiyonu, içi boş organların distansiyonu, ödem doku inflamasyonu ve nekroz sayılabilir (17). Tedaviye bağlı

ağrılar genelde nöropatik karakterdedir, hasta tedaviye bağlı ağrıları tekrarlayan kanser ağrısı olarak değerlendirilebilir ve psişik olarak olumsuz etkilenebilir (17.18).

PATOFİZYOLOJİSİ

Kanser hücrelerinden salgılanan prostaglandin, proinflamatuvar sitokinler (PIC) (interlökin-1 β , interlökin-6, interlökin-8, tümör nekrozis faktör- α), endotelin-1 (ET-1) gibi mediatörler nosiseptörü (primer afferent nöronu) aktive etmektedir (Transdüksiyon-Sensoryal sistemin aktivasyonu). Sensoryal primer afferentlerle taşınan ağrı bilgisi arka kökten medulla spinalis arka boynuzuna gelir ve spinal nöronu hipereksite eder. Spinal nöronda hipereksitasyona yol açan ağrı bilgisi, periferde hiperaljezi oluştururken, aynı zamanda ileti sistemi ile belirli merkezler ile (formasyo retikülaris, hipotalamus, limbik sistem, hippocampus) sinaptik bağlantılar yaparak talamusa ve buradan da kortekse projekte edilir. Sinaptik bağlantılar nedeni ile klinikte ağrılı hastada uykusuzluk, dikkat kaybı, metabolik cevap, emosyonel cevap, depresyon, kognitif bozukluk görülür (Tansmisyon-sensoryal sistemde ağrı bilgisinin iletilmesi). Ağrı bilgisi kortekse iletilirken aynı zamanda endojen analjezi sistemi ile de inhibe edilmeye çalışılmaktadır (Modülasyon-Ağrının inhibisyonu). Ancak kanser ve kemoterapi immunsupresyon ile endojen opioid peptidlerin (endorfin, enkafalin, dinorfin) immun hücrelerden üretiminin ve salınımının azalmasına sebep olduğu için kanser hastasında endojen analjezi sistemi zayıflamıştır. Modülasyonun zayıflamış olması kanser hastasında ağrının şiddetli olmasının bir nedeni olarak kabul edilmektedir.



Şekil 2 : Kanser ağrısının patofizyolojisi MS (medulla spinalis), TM (tümör), PIC (proinflatuar sitokinler), ET-1 (endotelin-1), PG (prostaglandin).

Kanserli hastada ağrı tipleri üç grupta toplanabilir;

1-Akut Ağrılı Hastalar

Tekrarlayan kanser ağrısını düşündürebilir, kanser tedavisi ile birlikte olabilir ve ağrının nedeni kolaylıkla tanınabilir (35).

2-Kronik Ağrılı Hastalar:

a-Hastalığın ilerlemesine bağlı olabilir. Tümörün invazyonuyla ağrının şiddeti artar. Psikolojik faktörler ön plana çıkmaya başlar. Nedenin tedavi edilemediğini görerek ağrı tedavisine başlamak seçilecek en iyi yoldur.

b-Kanser tedavisine bağlı olabilir. Cerrahi sonrası iyileşmeyen insizyona bağlı ağrı sendromu, (36) postoperatif nöropatik sendromlar, radyoterapi ve veya kemoterapi sonrası çeşitli ağrı sendromları görülebilir (37).

3-Ağrısı olan ölmek üzere olan hastalar

Hastanın öncelikle rahatı sağlanmalıdır. Çekilen acıyı süratle dindirmek gerekmektedir. Umutsuzluk ve ölüm korkusu belirginleşir (38). Kanserli hastanın ağrısı ve hastalığı hakkında beklentileri, tavrı, ailesinin etkisi, önceden var olan psikolojik öykü (depresyon, anksiyete, kişilik bozuklukları madde bağımlılığı)

gittikçe önem kazanmaktadır. Bütün ağrılar fiziksel değildir. Psikolojik gereksinimlerin iyi bilinmesi ile geçirilemez denen ağrılar dindirilmiştir (39).

KANSER AĞRISI SENDROMLARI

Kanserli hastalarda ağrı sendromları etyolojilerine göre üç büyük grupta toplanabilir.

1-Ağrıya duyarlı yapıların tümörle invazyonu veya kompresyonuna bağlı olarak: Hastaların %77'sinde görülebilir (27).

2-Kanser tedavisi sırasında cerrahi, kemoterapi, radyoterapi gibi uygulamalara bağlı hastaların %19'unda ağrı gelişebilir.

3-Hastaların %4'ünde ise ağrı kanser dışı nedenlere bağlı olabilir (40).

Tümör invazyonuna veya kompresyonuna bağlı ağrılar:

a-Kemiğin invazyonu,

b-Sinir kökleri ve pleksusların kompresyonu,

c-Tümörün sinir dokusuna infiltrasyonu

d-Kan damarlarının infiltrasyonu,

e-Kan damarlarının tıkanması,

f-İçi boş veya sert organ duktuslarının tümör ile tıkanması,

g-Fasya, periost ve diğer ağrıya hassas yapıların tüm enfeksiyonu,

h-Müköz membran ve diğer ağrıya hassas yapıların enfeksiyon ve inflamasyonu ile ağrı gelişebilir.

AĞRI ÖLÇÜLMESİ

Ağrı ölçümleri için bir sınıflama “Doğrudan Ölçüm” ve “Dolaylı Ölçüm” şeklinde yapılan sınıflamadır. Doğrudan ölçümler ağrının doğasını ortaya koymaya yöneliktirler. Dolaylı ölçümler ise ağrının yaşam kalitesine etkisini ölçerler. Ağrı ölçümleri için diğer bir sınıflama ise “Tek Boyutlu Ölçüm” ve “Çok Boyutlu Ölçüm” şeklinde sınıflamadır. Tek boyutlu skalalara örnek: LANSS Skalası (LANSS - Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs), Vizüel Analog Skala (VAS - Visual Analog Scale), Sayısal Değerlendirme Skalası (NRS - Numerical Rating Scale), Sözel Değerlendirme Skalası (VRS - Verbal Rating Scale) sayılabilir. Çok

boyutlu skalalara örnek: McGill Ağrı Anketi (MPQ - McGill Pain Questionnaire), Yaşam Kalitesi Değerlendirmesi (Quality of Life Assessment) ve hasta günlüğüdür.

Vizüel (Görsel) Analog Skala (VAS):

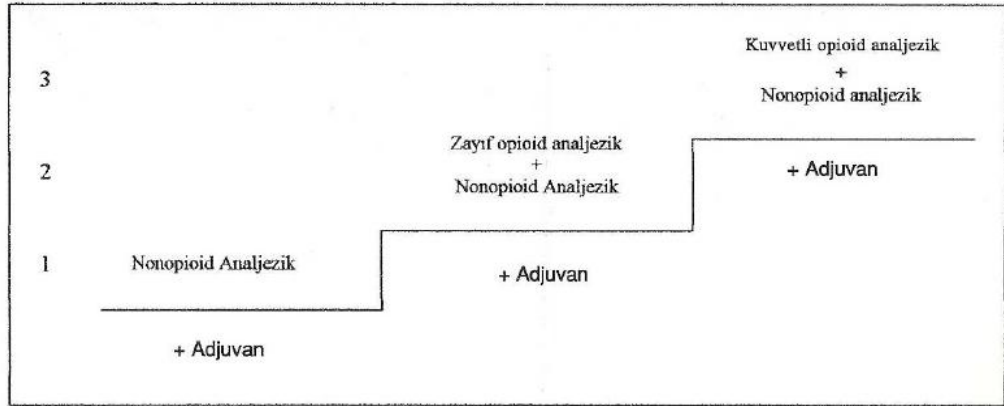
Ölçek, 100 mm boyunda bir yatay çizgiden ibarettir. Çizginin sol ucunda “Ağrı yok” veya “Ağrı tümüyle geçti” ibaresi yer alırken sağ ucunda ise “Dayanılmaz ağrı” veya “Ağrıda hiç azalma yok” ibaresi yer alır. Hastaya çizgi üzerinde, kendi ağrısını doğru şekilde yansıtacak bir noktayı işaretlemesi söylenir. Hastanın işaretinin sol uca uzaklığı ölçülür. Genellikle milimetre olarak ölçülen bu uzaklık “puan” olarak bildirilir.

KANSER AĞRISINDA TEDAVİ

Günümüzde etik zorunluluk olarak kabul edilen ağrı tedavisi, nedene (antineoplastik tedavi) ve semptomatik kontrole (sistemik-rejyonel analjezi) yöneliktir. Bu tedaviler ile eş zamanlı olarak rehabilitasyon ve psikiyatrik tedaviler yapılmalıdır.

Antineoplastik tedavi ile ağrının gerilemesi %75 oranında olasıdır . Özgün analjezik tedavilere çoğunlukla nedene yönelik tedaviye ek destek olarak gereksinim duyulur. Günümüzde kanser ağrısının semptomatik kontrolünü amaçlayan çeşitli yöntemler mevcuttur. Prensipte; en basit, en az invaziv, risk/fayda oranı en düşük yöntemden başlanmasıdır. Kanser hastasında öncelikle uygulanması gereken sistemik farmakolojik tedavidir. Sistemik tedavi yetersiz olduğunda veya tolere edilemeyen yan etkiler olduğunda invaziv yöntemler gündeme gelir. Girişimsel tedaviyi merdivenin dördüncü basamağı olarak yorumlayan yazarlar da vardır (19.20). Ancak bu klasik tedavi yaklaşımının yanında invaziv yöntemlerin gerektiğinde her basamakta uygulanabileceğini savunan yazarlar da bulunmaktadır (21.22). Hedef, en az yan etki ile istirahat ve harekette ağrısızlık, ağrı ile bölünmeyen uyku ve yaşam kalitesinin artırılmasıdır.

Analjezik Kullanım İlkeleri: Analjezikler, akut ve kronik ağrı sendromlarında, ağrının semptomatik kontrolünü sağlamak için kullanılan ilaç grubudur.



Şekil 3: Dünya Sağlık Örgütü'nün Basamak Prensibi

1984 yılında Cenevre'de yapılan DSÖ toplantısında kanserde ağrı tedavisi ayrıntılı olarak ele alınmıştır. Bu toplantı sonunda 1986'da kanserde basamak ağrı tedavisi belirlenmiştir (şekil 3). Dünya Sağlık Örgütü'nün basamak tedavisine göre, birinci basamakta non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve parasetamol yer alır. Bununla hastanın ağrısı geçmiyorsa tedaviye ikinci basamak zayıf opioid ilaçlar (kodein, tramadol) eklenir (23.24). Birinci ve ikinci basamaktaki ilaçlarla ağrı azalmıyorsa üçüncü basamak tedaviler (güçlü opioidler- fentanil, morfin) başlanır. Her basamakta tedaviye destek olacak, kendisi analjezik olmayan ancak ağrılı durumlarda kullanılan adjuvan ilaçlar da eklenebilir (25.26).

2.3 ANALJEZİKLER

NON-OPİOİD ANALJEZİKLER

Non-opioidleri; non-steroid anti inflamatuvar (NSAİ) ilaçlar, asetaminofen ve asetilsalisilik asit oluşturmaktadır. NSAİ ilaçlar hafif ağrıda tek başlarına, orta ve şiddetli ağrılarda opioidlerle kombine edilerek kullanılır. En sık kullanılan analjeziklerdir. Opioid rejimine eklendiğinde, hem ağrı kontrolünü arttırmakta, hem de opioid dozunun azaltılmasına ve opioidlere bağlı yan etkilerin en aza indirilmesinde etkili olmaktadır. Etkilerini; ağrılı uyarının nosiseptörler tarafından

tanınması ve iletilmesinde görevli prostaglandin sentezinden sorumlu siklooksijenaz enzimini inhibe ederek gösterir (42). Asetilsalisilik asit yan etki potansiyelinin yüksek olması nedeniyle uzun süreli kanser ağrısının tedavisinde kullanılmaz. Parasetamol ve/veya NSAİ ajanlar, en azından kısa bir dönem için ve kullanımı kontrendike değil ise kanser ağrısının tüm aşamalarında etkili olarak tek başına veya mevcut tedaviye ek olarak kullanılabilir (44).

OPIOİD ANALJEZİKLER

Opiyoidler papaver somniferumdan elde edilen ve başta analjezik olarak birçok amaçla kullanılan ilaçlardır. Farklı ağrı türlerin tedavisinde etkili olması, veriliş yollarının çeşitliliği ve güvenilir özelliği nedeniyle kanser ağrısında temel tedaviyi oluşturmaktadır. Zayıf etkili opioidler, DSÖ'nün 2. Basamağında kullanılırlar. Kodein, dekstropoksifen ve tramadol zayıf opioidlerdir. Güçlü etkili opioidler, DSÖ'nin 3. basamağında kullanılırlar. Morfin, fentanil, hidromorfon, oksikodon, meperidin bu gruptandır (45).

Sistemik Etki Mekanizmaları

Santral sinir sisteminde ve diğer dokularda presinaptik ve postsinaptik alanlardaki stereospesifik opioid reseptörlerinde agonistik olarak etki gösterirler (40,42). Bu opioid reseptörleri endorfinler tarafından aktive edilen reseptörlerdir. Opiyoidlerin analjezik dozlarda kan basıncında, kalp ritminde ve kalp atım hızında direkt olarak önemli etkiler göstermezler. Santral sinir sistemine etkilerini daha çok μ reseptörlerine bağlanarak gösterirler. Opiyoid analjezikler medulla spinalisteki ağrıyı modüle eden nöronları etkileyerek primer afferent nosiseptörlerden duyuşal dorsal boynuz projeksiyon hücrelerine olan iletiyi bloke ederler. Analjezik dozlarda kullanıldıklarında bilinç kaybına neden olmazlar. Tüm μ reseptör stimulatörü olan opioidler doza bağlı olarak solunum depresyonuna neden olurlar. Solunum depresyonu primer olarak opioidin solunum merkezi üzerindeki direkt depresan etkisine bağlıdır. Opiyoidler solunum merkezinin CO₂'ye cevap verme yeteneğini ve hipoksiye karşı solunumsal cevabı da azaltırlar. Ağrılı hastada sıkıntı ve kaygıyı ortadan kaldırarak öfori hali ve sedasyon oluşturur. Öksürük refleksini özellikle kodeinde belirgin olmak üzere baskırlar. Beyin sapındaki kemoreseptör triggerzonu

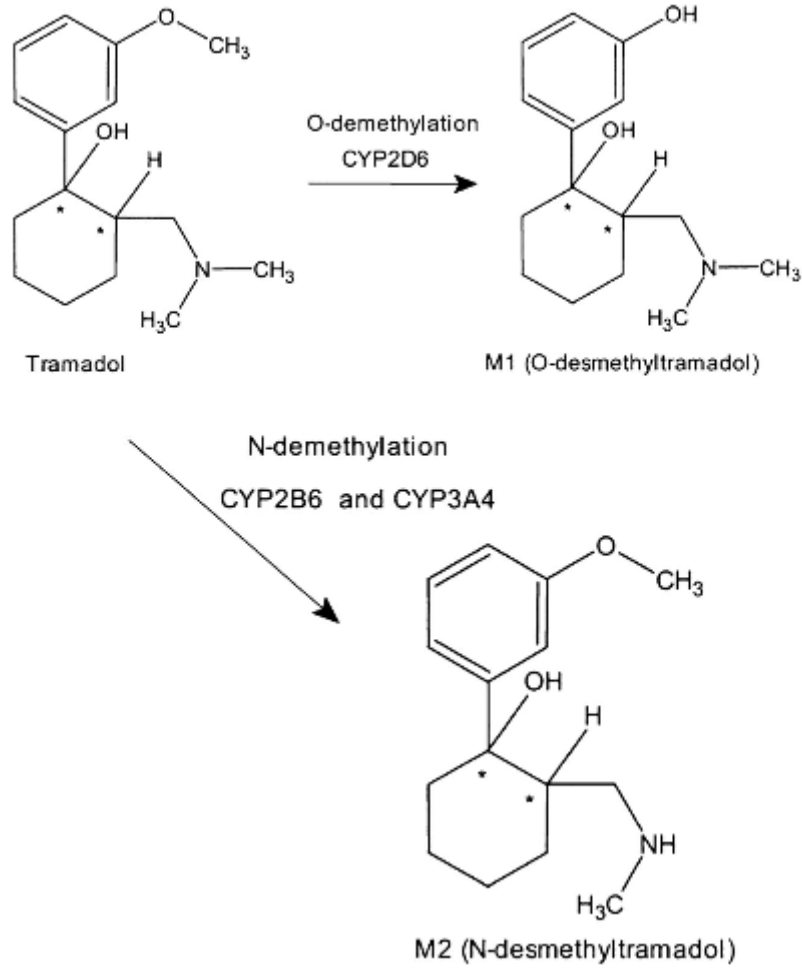
uyararak bulantı ve kusmaya neden olurlar. Kas tonusunu arttırarak ciddi rijiditeye neden olabilirler. Bugüne kadar 5 tip opiyoid reseptörü tanımlanmıştır.

Reseptör	Klinik Etki	Agonistler
Mü	Supraspinal analjezi μ_1 Respiratuar depresyon μ_2 Kas rijiditesi Fiziksel bağımlılık	Morfin Met-enkefalin Beta endorfin
Kappa	Respiratuar depresyon Spinal analjezi Sedasyon	Morfin Nalbufin Butorfanol Dinorfin
Delta	Analjezi Davranışsal ve respiratuar depresyon Epileptojenik etki	Lö-enkefalin Beta-endorfin
Sigma	Disfori, deliryum, midriyazis Taşikardi, Hipertansiyon Halüsinasyonlar Respiratuar stimülasyon	Pentazosin Nalorfin
Epsilon	Stres cevap	Beta endorfin

Tablo 1 : Opiyoid reseptörleri ve klinik etkileri

TRAMADOL

Tramadol kodeine benzeyen fenilsikloheksanal türevi, santral etkili sentetik bir analjeziktir. Tramadol hidrokloridin kimyasal yapısı sis-2[(dimetilamino) metil]-1-(3-metoksifenil) sikloheksanol hidrokloriddir (Şekil 4) (47).



Şekil 4 : Tramadolün kimyasal yapısı

Analjezik sınıflamasında zayıf opioid grubunda yer alan tramadol aslında hem opioid hem de non-opioid etki mekanizmasına sahip, çift etkili bir ilaçtır. Zayıf μ opioid reseptör agonist etkisine ek olarak noradrenalin (NA) ve serotonin (5-HT) presinaptik geri alımını inhibe etmekte, aynı zamanda 5-HT'nin salınımını stimüle etmektedir. Böylece endojen analjezi sistemini, opioid agonist mekanizma ve monoaminerjik etki ile potansiyelize etmektedir. Bu iki mekanizma ile elde edilen additif etki ile antinosisepsiyonun belirgin, yan etkinin daha az olması, tramadolün orta-şiddetli kanser ve kanser dışı akut ve kronik ağrı tedavisinde yaygın kullanımına neden olmuştur (48.49).

Tramadol, her biri farklı mekanizmaya sahip iki enantiomerden oluşan bir rasemik karışımdır. Her bir enantiomer farmakolojik olarak aktiftir ve analjezik etkinlikte rol sahibidir. Opioid agonist etki ve serotonin geri alınım inhibisyonuna (+) enantiomer ve metaboliti O-desmetiltramadol (M1) sebep olurken, (-) enantiomer noradrenalinin geri alınım inhibisyonuna yol açmaktadır. Analjezik etkinlikte (+) enantiomer, (-) enantiomerden 10 kat daha aktiftir (59). Etkisinin ancak % 32'sinin opioid, % 65'inin ise non-opioid mekanizmalarca sağlandığı gösterilmiştir; bu nedenle etkisi naloksan ile tamamen ortadan kaldırılamaz (48).

Tramadol; oral, im, iv ve subkutan yolla kullanılabilir. Önerilen günlük doz 200-400 mg'dır. Dokulara (özellikle beyin, akciğer, karaciğer, böbrek gibi kanlanması yüksek organlara) kolay ve yüksek oranda geçer. Tramadol karaciğerde sitokrom p450 enzim sistemi tarafından metabolize edilir. Sadece O-demetil tramadol isimli metaboliti farmakolojik olarak (zayıf analjezik etkinlik) aktiftir (48.50). Tramadolün oral biyoyararlanımı yüksektir (%80). İv yol ile uygulandığında ise yapılan çalışmalarda etkisinin 18. dakika başladığı , iki saat içinde kandaki en yüksek düzeyine ulaştığı saptanmıştır (50). Tramadolün % 30'u değişmeden, % 60'ı metabolitlerine dönüşerek böbreklerden, % 1'den daha azı safra yoluyla, geri kalanı ise dışkı ile atılır. Tek doz iv veya oral tramadolün plazma yarılanma ömrü yaşlı hastalarda artış gösterir. Bu nedenle yaşlı hastalarda düşük dozla başlayıp, yavaş doz arttırma prensibi benimsenmelidir. Oral veya iv uygulamalarda ortalama eliminasyon yarı ömrü 5-6 saattir.

Postoperatif ağrı tedavisinde oral, iv, hasta kontrollü analjezi (HKA) cihazı ile veya epidural kateterden infüzyon şeklinde kullanılabilir. Ayrıca diğer akut ağrı çeşitleri olan doğum, üreteral taş, diş, travmalar, hatta miyokard infarktüsü ve unstabil anjinaaya bağlı ağrı tedavilerinde başarı ile kullanılmıştır (51.52). Kronik ağrı tedavisinde ise kansere bağlı olan visseral ağrıda, kemik ağrısında ve nöral ağrıda kullanılmaktadır. Kanser ağrısı dışında sırt ağrısı, eklem rahatsızlıklarında, nöropatik ağrıda, primer fibrozis ve osteitis deformansta kullanılabilir (52-53). İçerdiği maddelerden herhangi birine karşı aşırı duyarlılığı olanlarda, alkol, analjezikler, hipnotikler ve diğer psikotrop ilaçlar veya opioidler ile akut zehirlenmelerde, MAO inhibitörleri kullananlarda, opioid bağımlılığında, kafa travmaları, nedeni bilinmeyen bilinç kaybı ve şokta, solunum merkezi ve solunum

fonksiyonlarındaki bozukluklarda ve intrakranial basıncın arttığı durumlarda kullanılmamalıdır (54).

Tramadolün oral ya da parenteral kullanımında en sık görülen yan etkiler; bulantı, kusma, baş dönmesi, sersemlik, halsizlik, terleme ve ağız kuruluğudur. Tramadol yüksek doz kullanımında morfine göre daha az oranda solunum depresyonu yapmaktadır. Bu etkiler önerilen doz aralığında görülmemektedir. Tramadol ile bağımlılık veya suistimal riski düşüktür. Fiziksel bağımlılık ve çekilme semptomları yüksek doz tramadol kullanan hastalarda bildirilmiştir. Doz aşımı ile ilgili en yaygın semptomlar letarji, bulantı, taşikardi, ajitasyon, nöbetler, koma, hipertansiyon ve solunum depresyonudur. Tramadolün doz aşımı ile kardiyotoksisite gözlenmemiş olup, doz aşımı halinde naloksan ile tedavi edildiğinde hastaların % 50'sinde sedasyon ve apne düzelmiştir. Santral sinir sisteminde ise en sık baş dönmesi, sersemlik, yorgunluk hissi ve baş ağrısına neden olmaktadır (54).

2.4 FARMAKOGENETİK NEDİR ?

Kişilerde genetik yapıdaki değişikliğe bağlı olarak belirli protein tiplerinin, bu arada enzimlerin, yapısının bozulduğu ya da eksik oldukları ve bunun sonucu bazı metabolizma hastalıklarının oluştuğu 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. Ayrıca hücrelerde ilaç etkisini başlatan reseptör proteini de genetik bozukluğa bağlı olarak kalitatif veya kantitatif bakımdan farklı olabilir.

Genotipik değişikliklere bağlı olarak bazı kişilerde ilaç metabolizmasının ve etkisinin kantitatif ve kalitatif bakımdan gösterdiği farklılık, kalıtsal olarak dominant veya resesif olarak kalıtılır. İlaç kinetiğinin ve ilaçlara karşı kişinin verdiği cevabın genetik yapıya göre bireyler arasında değişmesi ve buna bağlı olarak ilaç etkinliğinin interetnik değişimini inceleyen bilim dalı farmakogenetik'tir.

Biyotransformasyonda rol oynayan enzimlerin hücrelerde yapımının veya ilaçlarla ilgili diğer fonksiyonel önemli moleküllerin ve olayların genetik kontrolü monogenik veya poligenik olarak yapılır. Monogenik kontrolde; bir kromozomda belirli tek bir lokusta yerleşmiş allel genler tarafından kontrol söz konusudur. Bu

durumda fenotipik karakterin kantitatif değerinin, popülasyon içindeki bireylerde dağılımına ilişkin eğri birden fazla pik gösterir. Buna polimodal dağılım denir. Polimodal dağılımın en basit şekli bimodal dağılımdır. Bimodal dağılım gösteren bir karakter tek bir lokustaki iki allel gen türü tarafından kontrol edilir ve sadece iki fenotip ile ifade edilir. Poligenik (çok lokuslu) kontrolde ise olay, birden fazla lokusta yerleşmiş allelik genler tarafından kontrol edilir. Eğer ilaçla ilgili fenotipik karakteri düzenleyen gen çifti veya çiftleri, X yada Y kromozomu üzerinde yerleşmişse bu karakter sekse bağlı kalıtım, eğer 22 çift kromozomda yerleşmişse otozomal kalıtım gösterir.

Belirli bir lokusta bulunan ve belirli bir fenotipi kontrol eden genlerin yani allellerin ikiden fazla tipi bulunabilir. Belirli bir lokustaki gen çiftini oluşturan alleller birbirinin aynı ise, kişi bu gen (allel) ve onun temsil ettiği fenotipik karakter bakımından homozigottur.

Bir allelin temsil ettiği fenotipik karakter, homozigot bireyler yanında heterozigot olanlarda da ortaya çıkıyorsa dominant allelden söz edilir. Bu durumda diğer allelin (resesif allel) temsil ettiği fenotip, sadece resesif homozigot bireylerde ortaya çıkar (55).

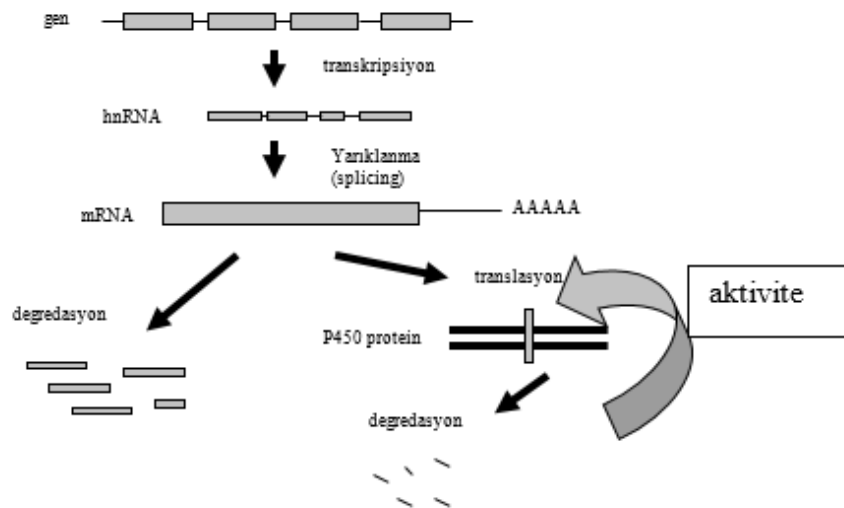
GENETİK FAKTÖRLERE BAğLI ETKİ DEğİŞİKLİğİ

Genetik durumlar bazı ilaçların farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini etkiler ve monogenik geçiş gösterir. İlaç etkisinin bireyler arasında değişiklik göstermesine yol açan bu durumların bir kısmı polimorfizmler, bir kısmı da nadir fenotipler olarak tanımlanır. Genetik polimorfizm, normal popülasyonda en az iki fenotipin bulunduğu ve bu fenotiplerden birisinin frekansının %1'den fazla olduğu monogenik bir özelliktir.

İlaçların farmakokinetiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler özellikle ilaç metabolizmasında ortaya çıkar. İlaçların metabolizmasından sorumlu olan

enzimlerin sentezinin veya yapısının bozulmuş olduğu fenotipe yavaş metabolizör, normal olduğu fenotipe ise hızlı metabolizör denir. Yavaş metabolizörlerde ilaç eliminasyon hızı azalır, genellikle ilacın etkisi şiddetlenir ve toksik belirtiler ortaya çıkabilir. İlaç eliminasyon hızının genetik yapıya göre değişmesinin ana nedeni, ilaç metabolizmasında rol alan enzimlerin sentez hızının ve niteliğinin genetik polimorfizm göstermesidir.

Enzim polimorfizmi, o enzimi sentezleyen genin olmaması veya inaktif olması şeklindeyse bu enzim üzerinden olan ilaç metabolizması meydana gelmez. Eğer enzim azalmış olarak kısmen sentez ediliyorsa metabolizma hızı azalmıştır (55.56).



Şekil 5 : Defektif gen transkripsiyonu

2.5 BİYOTRANSFORMASYON

Çeşitli yollarla organizmaya giren her türlü yabancı maddeye ksenobiyotik denir. Ksenobiyotiklerin başında ilaçlar, besinlerle alınan boya maddeleri, antioksidanlar, sigara dumanı, çevresel atıklar gelir. İlaçların ve herhangi bir yolla vücuda alınan yabancı maddelerin, enzimlerin etkisiyle kimyasal değişikliklere uğrayarak, yeni bileşiklere dönüşmesine biyotransformasyon (metabolizasyon) denir.

Biyotransformasyonun amacı, maddeleri, daha polar bileşikler haline getirerek, vücuttan atılımını kolaylaştırmaktır. Biyotransformasyon sonucu maddeler, genellikle daha az etkili veya etkisiz bileşikler haline getirildiğinden, reaksiyonların çoğuna genellikle biyoinaktivasyon veya detoksifikasyon (zehirsizlenme) da denir. Ancak bazen ilaçlar biyotransformasyon sonucu daha etkili (kodein'in morfine dönüşmesi gibi), bileşikler haline dönüşebileceği için, bu reaksiyonlara detoksifikasyon reaksiyonları demek her zaman doğru olmayabilir. Biyotransformasyon ile maddelerin lipid/su partiyon katsayıları azalır ve sudaki çözünürlükleri artarak vücuttan daha kolay atılırlar. Biyotransformasyon yapan enzimlerin bazıları az veya çok, tüm hücrelerde bulunur. Büyük kısmı ise spesifik olarak belirli organlarda (karaciğer, GİS mukoza ve lümeni, böbrek, akciğer ve diğer yapılarda) bulunurlar. Metabolizmada başrol oynayan organ karaciğerdir. Burada en önemli fraksiyon ise mikrozomal enzimlerdir.

Biyotransformasyonda bilinmesi gereken temel kavramlar

Farmakokinetik: İlacın absorpsiyonu, dağılımı, metabolizasyonu ve atılım sürecinin kantitatif olarak araştırılması ve karakterizasyonudur. Bu, biyokimyasal proseslerin yoğunluğu ile terapötik ve advers etki süreleri arasındaki ilişki ile ilgilidir.

Biyoyararlanım: Sistemik dolaşıma ulaşan ilaç dozudur.

Dağılım: Bir ilacın merkezi kompartmandan periferel kompartmana, dokuya taşınma oranıdır.

Eliminasyon: Bir ilacın metabolizasyon oranıdır, genellikle yarılanma ömrü olarak belirtilir. Akciğer ve böbreklerde de ekstrahepatik metabolizasyon meydana gelmesine rağmen antipsikotikler için genellikle hepatiktir.

Kararlı durum (steady state): Günlük alınan ilaç miktarının elimine edilen günlük ilaç miktarına eşit olması durumudur (57).

Biyotransformasyon Olayının ve Enzimlerinin Temel Özellikleri

Xenobiyotiklerin metabolizasyon reaksiyonları, Faz I ve Faz II reaksiyonları olmak üzere iki genel grupta toplanırlar.

Faz I Reaksiyonları

Bu reaksiyonların amacı, moleküle hidroksil, karboksil, amino ve tiyol gibi polar bir fonksiyonel grup kazandırmaktır. Böylece maddeler daha polar bileşikler halini alır. Bu, hidroksilasyon reaksiyonlarında olduğu gibi, moleküle yeni bir fonksiyonel grup katmak veya var olan bir fonksiyonel grubu değiştirmek şeklinde olur. Bu şekilde molekül daha polar ve daha kolay atılabilir hale gelir. Faz I reaksiyon metabolitleri, çoğunlukla Faz II reaksiyonları için substrat olarak kullanılırlar (56,58,59).

Faz I Reaksiyonları;

- Oksidasyon
- Redüksiyon
- Hidroliz, olmak üzere üç ana gruba ayrılır.

Oksidasyon: Metabolizasyon reaksiyonlarının en önemlisi oksidasyondur. Oksidasyonu katalizleyen enzimler, oksidazlar, monooksijenazlar ve dioksijenazlardır

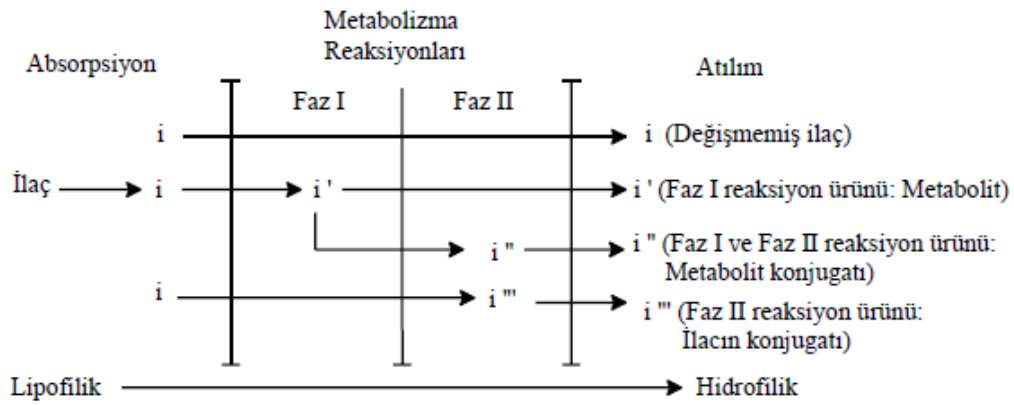
Redüksiyon: Fonksiyonel grup olarak karbonil, azo, disülfür, sülfoksit, alken ve nitro grubu içeren ksenobiyotiklerin biyoredüksiyonu ile alkol ve amin türevi metabolitler meydana gelir. İndirgenme reaksiyonları, bir ksenobiyotiğin detoksifikasyon yolu olabildiği gibi, çoğu kez daha toksik ve ara aktif metabolitler oluşmasına sebep olabilir.

Hidroliz: Ester veya amid, epoksit grubu taşıyan ilaçların, en önemli biyotransformasyon yollarıdır. Sonuçta, molekülde Faz II reaksiyonlarının yürüyebileceği alkol, fenol, karboksilli asit ve amin gibi fonksiyonel gruplar oluşur. Hidroliz, diğer detoksikasyon reaksiyonları ile yarışır. Hidroliz enzimleri hem mikrozomlarda hem de mitokondrilerde bulunurlar (55,58,59).

Faz II (konjugasyon) Reaksiyonları

Moleküle küçük, polar, iyonize olabilen grupların, enzimatik olarak katıldığı, bir anlamda sentez reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyonları katalize eden enzimler, transferazlar olarak bilinirler. Reaksiyonlar sonucu oluşan konjugatlar (Faz II metaboliti), çoğunlukla idrarla atılırlar. Konjugasyonlar, genellikle Faz I

reaksiyonları sonucu, moleküle kazandırılmış fonksiyonel gruplar üzerinden yürür ve sonuçta suda çözünen, aktivite ve toksisitesini kaybetmiş ürünler oluşur. Konjugasyon reaksiyonları, kimyasal maddelerin organizmadaki glukuronik asit, amino asitler, metil grubu, sülfat ve asetil grubu taşıyan endojen maddelerle birleşmesi neticesinde oluşur. Hidroksil, amino, karboksil, epoksit veya halojen grubu içeren ksenobiyotikler, Faz I reaksiyonları sonucu oluşan metabolitler veya birçok doğal maddeler, konjugasyon reaksiyonları sonucu, daha polar özellik kazanarak atılıma uğrarlar. Ancak, her zaman bu mekanizma düzenli olarak işlemez. Bazı maddeler direkt Faz I sonucu atılıma uğrarken, bazıları her iki basamaktan da geçerek metabolize olur veya hiç Faz I' e uğramaksızın doğrudan konjugasyonla polar hale gelir ve atılır (Şekil 6).



Şekil 6 : İlaç etken maddelerinin Faz I ve Faz II reaksiyonları sonucu olası atılım şekilleri

Konjugasyon reaksiyonları ve bu reaksiyonları gerçekleştiren enzimlerin genel sınıflandırması aşağıdaki gibidir:

Glukuronik asitle birleşme: UDP- glukuronil transferaz (UGT) enzimi aracılığıyla yapılır.

N- metilasyon: N- metil transferaz enzimleri tarafından yapılır.

O- metilasyon: O- metil transferaz enzimi ile yapılır.

N- asetilasyon: N- asetil transferaz (NAT) enzimleri tarafından yapılır.

Sülfat ile konjugasyon (sülfatasyon): Sülfotransferaz enzimi ile katalizlenir.

Glutation ile konjugasyon: Bu olay “glutation- S- transferaz “ enzimi ile katalizlenir.

Amino asitle konjugasyon: İlaçlar burada glisin veya glutamin ile konjuge edilirler.

Diğer konjugasyonlar: Purin ve pirimidin analogu ilaçlar, riboz ve riboz fosfatlarla ribonukleozid ve ribonukleotid konjugatlarına dönüştürülürler.

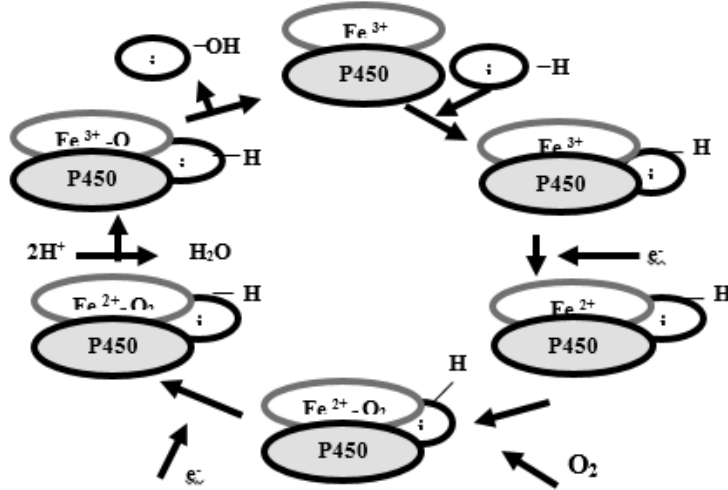
2.6 SİTOKROM P450 ENZİM SİSTEMİ

Karaciğerin oksidasyon yapan mikrozomal enzimleri, tamamen tanımlanmış bir grup enzimden oluşur. Bunlar sitokrom P450 olarak adlandırılır ve karma fonksiyonlu oksidazlar veya monooksijenazlar adını da alırlar. Sitokrom P450 enzimleri, ilaçlardan ve diğer ksenobiyotiklerden başka, steroidler, yağ asitleri, safra asitleri, prostoglandinler ve biyojenik aminler gibi endojen maddelerin bunlardan bazılarının prekürsörlerinin oksidatif metabolizmasında ve biyosentezinde rol oynarlar.

Sitokrom P450 enzimleri 300'den fazla aminoasit rezidüsü içeren hem'li peptidlerdir. Enzimin aktif noktası demir iyonudur. Bu nokta oksitlenmiş (Fe^{3+}) durumunda iken substratı bağlar, böylece enzim substratı ile kompleks yapar. Bundan sonra NADPH- sitokrom P450 redüktaz enzimi aracılığı ile NADPH'dan çıkan bir elektron, enzim substrat kompleksine transfer edilir. Böylece kompleks indirgenir. İndirgenmiş enzim substrat kompleksi moleküler oksijenle birleşir ve bunun ardından ikinci bir elektronun transferi ile kompleks daha da indirgenir. Sonuçta enzim – substrat - oksijen kompleksi, su, oksitlenmiş substrat ve oksitlenmiş durumdaki serbest sitokrom P450 enzimine ayrılır (60,61).

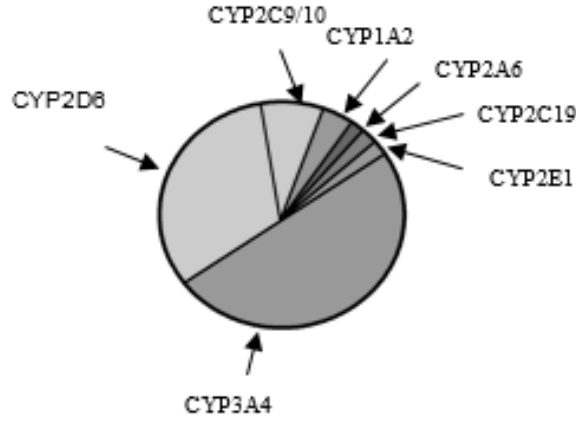


Şekil 7 : CYP2D6'nın sistematik adlandırması



Şekil 8 : CYP450 sisteminin reaksiyon basamakları

Sitokrom P450 enzimleri, iletişim standardizasyonu için özel bir şekilde adlandırılmışlardır. Bu adlandırmada CYP , Sitokrom P450'yi ifade eder; ondan sonra gelen sayı familya numarasını ve bunu izleyen harf ise alt familyayı ifade eder. Sitokrom P450 enzimlerinin ilaç metabolizmasına katkıları bakımından en önemli 5 enzim grubu; CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9/10, CYP1A2 ve CYP2E1'dir. Bu gruplardan CYP3A4 ilaçların % 55-60'ının, CYP2D6 %25'inin CYP2C9/10 %15'inin CYP1A2 ve CYP2E1 toplam % 5'e yakın bölümünün oksidasyonuna katkıda bulunur.



Şekil 8 : Sitokrom P450'lerle metabolize edilen ilaçların dağılımı

CYP2D6 Moleküler Genetiği

1970' lerde İngiltere'de ve Almanya'da iki ayrı araştırma grubu, sempatolitik antihipertansif bir ilaç olan debrisoquin ve antiaritmik bir ilaç olan sparteini kullanan bir grup hastanın ciddi yan etkiler gösterdiklerini gözlemlemişlerdir. Her iki ülkedeki araştırmalarda, kişilerdeki, ilacı okside etme kusurları ve metabolik kusurların, otozomal resesif olarak kalıtılan bir genin kontrolü altında olduğu görülmüştür. Kısa bir süre sonra her iki ilacın da metabolik kusurunun aynı genin mutasyonu sonucu oluşan enzime ait olduğu anlaşılmıştır. Daha sonra bufuralol ve metoprolol gibi diğer ilaçların da aynı kusurlu enzime sahip kişilerde metabolize edilemediği belirlenmiştir. İnsan karaciğer mikrozoamlarıyla yapılan çalışmalar, zayıf metabolizör fenotipine sebep olan hasarlı CYP450 enzimlerinin varlığını göstermiştir. CYP2D6 geni 22. kromozomda CYP2D7P ve CYP2D8P pseudogenleriyle ilişkili olarak CYP2D6-8 klastırında yer alır. İnsan CYP2 ailesi, 13 alt aileye; 16 normal, 16 psödogene sahiptir Defektif alleller, gen delesyonu sonucu pseudogenlerle ve tek baz mutasyonlarla ilişkili olarak meydana gelen frame shift,

missense, nonsense ya da splice-site mutasyonlarıyla oluşabilir. Böyle allellerin homozigot olarak varlığı total enzim aktivitesinin kaybolmasına neden olur. Bu durum yavaş metabolize edici olarak adlandırılır. Defektif CYP genlerine ilave olarak aynı zamanda ilaç metabolizmasını değiştiren ya da azaltan alleller vardır. Bu durumda enzim ekspresyonu ve dolayısıyla üretimi azalır. Genotipleme çalışmalarında CYP2D6 enziminin 100'den fazla alleli tanımlanmıştır. Bu alleller arasında en sık rastlanana $G_{1934} \rightarrow A$ splice – site mutasyonunu içeren allel 4' tür. Bu alleli homozigot olarak kalıtın bireyler yavaş metabolize edici bireyler olarak nitelendirilir(60,61).



Şekil 10 : CYP2D lokusunda bulunan genler (62)

Bir başka metabolizma tipide ultra hızlı metabolizmadır. Bu durumda CYP2D6 geninin duplike, multiplike yada amplifiye olması neden olur.

CYP2D6 Enzim Aktivitesi ve Polimorfizmi

CYP2D6, metabolize ettiği 70' in üzerinde ilaç olması sebebiyle önemli bir enzimdir ve belki de bu özelliği nedeniyle, en çok çalışılan enzimdir (61). Opioidler, nöroleptikler, antidepresanlar, β -blokerler v.b. maddeler, CYP2D6 enziminin başlıca substratlarıdır (63,64). CYP2D6 enziminin metabolize ettiği ilaçlardan bazıları Tablo 2 de görülmektedir (65,66).

İlaç grubu	Substrat
Antidepresanlar	Paroksetin, Fluoksetin, Sitalopram, Sertralin, Venlafaksin, Amitriptilin, Mianserin, Klomipramin, Desipramin, İmipramin, Nortriptiline
Antipsikotikler	Klorpromazine, Haloperidol, Thioridazine, Zuclopthiksol, Perphenazine, Risperidone, Olanzapin, Klozapin
β -Bloklerler	Metoprolol, Propranolol, Timolol
Anti-aritmikler	Enkainid, Flekainid, Perfeksilen, Propafenon, Sparteın
Diğer	Ecstasy, Opioids, Codeine, Hydrocodone, Dihydrocodeine, Bupropion, Deksfenfluramine, Tramadol

Tablo 2: CYP2D6 enzimi ile metabolize olan ilaç etken maddelerinden bazıları (65,66)

Mutasyonların etkisine göre dört fenotip belirlenmiştir. Bunlar; zayıf metabolizörler (PM), orta hızlı metabolizörler (IM), normal metabolizörler (EM) ve hızlı metabolizörler (UM) olmak üzere dört gruptan oluşmaktadır (67,68,69).

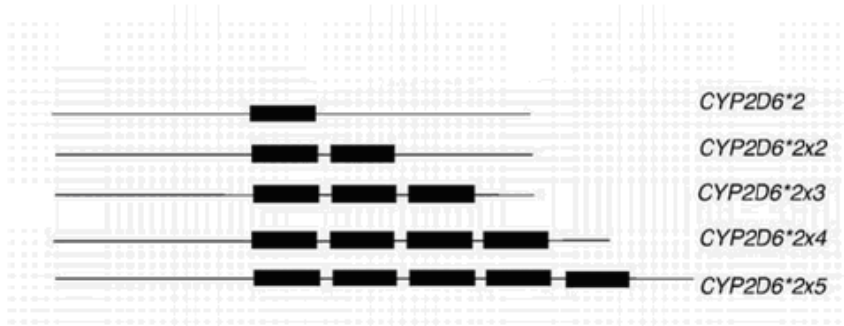
Zayıf Metabolizörler (PM): Beyaz popülasyonun ortalama %5-10' u yavaş metabolize eden enzim üreten alellere sahiptir. Bu grubun % 93-97.5' inin ise, CYP2D6 *3, *4, *5 ve *6 alellere sahip olduğu ifade edilmektedir (70,71). Beyaz popülasyonun zayıf metabolizörlerinin %23' ü CYP2D6*4 alleleline sahiptir. Avrupa popülasyonunun yaklaşık % 5' inde ve Oryantal ırkın % 1' inde CYP2D6 enzimi inaktiftir (71). Zayıf metabolizörlerin, normal metabolizörlere göre, ilaç plazma

seviyeleri daha yüksek görülür ve böyle kişiler ters ilaç etkisi göstermeye daha meyillidirler (72,73).

Orta Hızlı Metabolizörler (IM): CYP2D6*9, *10, *17, *36, *41 alelleri içerdikleri mutasyonlara bağlı olarak düşük aktiviteli enzim üretirler. Ya da iki allelinden biri inaktif allel, diğer fonksiyonel allel ise; böyle fenotipler de IM olarak değerlendirilir (67).

Normal Metabolizörler (EM): CYP2D6*1, enzimin hiçbir mutasyon içermeyen ve normal fonksiyonunu sürdüren alelidir. *2, *33, *35 alelleri ise bazı nokta mutasyonlar içerseler de enzim fonksiyonunda herhangi bir değişikliğe neden olmazlar ve bu alellere sahip kişiler normal metabolizörler (EM) olarak adlandırılırlar.

Hızlı Metabolizörler (UM): Bu fenotipe sahip kişilerde CYP2D6 geninin birden fazla kopyası bulunmaktadır (Şekil 11). Gen duplikasyonu sayısının 12' ye kadar çıktığı görülmüştür.



Şekil 11: CYP2D6*2 allelinin gen duplikasyonu ve UM oluşumu (74).

Köseler ve ark. (2007) Türk popülasyonunda CYP2D6*4 allelinin en sık rastlanan mutant allel olduğunu bildirmiştir (75). Aydın M. ve ark (2005) ise yaptıkları çalışmada Türkiye'de CYP2D6*4 frekansını %15; *3 frekansını %2,5 olarak bildirmişlerdir (76).

POLİMORFİK İLAÇ OKSİDASYONU

CYP2D6 insan karaciğerinde minör bir form olmasına rağmen (total CYP450'lerin %1,5'ünü oluşturur), kullanılan ilaçların %25'ini metabolize eder. Yavaş metabolizör özelliği klinik olarak, etkili substratın ilişkili metabolitindeki etkili defektleriyle karakterize edilir. Bu durumda ya ilaç toksisitesi yada etkisizliğiyle sonuçlanır. CYP2D6 polimorfizmi klinik olarak trisiklik antidepressanlar, nöroleptikler, antiaritmikler, antihipertansifler, beta-blokörler ve morfin kökenliler için daha önemlidir. Zayıf metabolizer (PM) şahıslar için bu ilaçların standart dozlarda verilmesi toksik plazma konsantrasyonlarının gelişimini sağlar, güçlü bir şekilde ağız kuruluğu, hipotansiyon, sedasyon ve tremor yada canlılığı tehlikeye sokan kardiyotoksikite gibi istenmeyen yan etkiler yaratır (75).

2.7 POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi; bir organizmaya ait normal ya da parçalanmış DNA ya da RNA'nın in vitro ortamda çoğaltılarak genetik farklılıkların incelenmesine olanak veren bir metoddur. Teorik olarak 1970'lerde ortaya atılmış olmakla birlikte 1980'lerde Kary Mullis ve arkadaşları *Escherichia coli* DNA Polimeraz I'in Klenow fragmanını kullanarak in vitro ortamda tek kopya memeli genini çoğaltmayı başarmışlardır. Saiki ve arkadaşları tarafından 1988 yılında termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus* ile yapılan çalışmalarda ısıya dayanıklı polimerazın kullanılmasıyla metod geliştirilmiş, otomasyonu sağlanmış ve bilim dünyasında moleküler biyoloji, adli tıp, prenatal tanı ve arkeolojiye kadar uzanan geniş bir yelpazede kendisine kullanım alanı buldu (77).

PCR metodu ile 1 µg'dan daha az DNA örneğinin istenilen miktarda çoğaltılarak DNA analizinin saatlerle ifade edilen süreler içerisinde yapılması mümkündür. Ayrıca bu yöntemde DNA amplifikasyonu belirli bir noktada amplifikasyon durdurulduğunda onun devam etmediğinden emin olunmaktadır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Oluşum Mekanizması

Bu reaksiyon çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması prensibine dayanır. Oligonükleotid primerler, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelere bağlanırlar. Primerlerin spesifik olarak hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar ve bu sayede kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur (78). Bir PCR döngüsü üç evreden oluşmaktadır. Bunlar sırası ile denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) evreleridir.

DNA'nın Denatürasyonu

Bu aşamada çoğaltılması istenen çift sarmal DNA; sarmalları bir arada tutan hidrojen bağlarını ayırmak üzere denatüre edilerek tek sarmal haline getirilir. DNA sarmallarının birbirinden ayrılması için çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler olmakla birlikte 95-100 °C'ye kadar ısıtmak uygulanabilecek en basit ve ekonomik yöntemdir. Ancak PCR sırasında genellikle en etkin denatürasyon sıcaklığı 92-95 °C'dir (77).

Primerlerin Bağlanması (annealing)

Bu evrede primer adı verilen ve çoğaltılması istenen DNA için spesifik olan sentetik oligonükleotid; ilk evrede elde edilen DNA tek sarmalı üzerinde kendisine komplementer olan nükleotid dizisi ile bağlanır. Primerler, hedef DNA sarmalının amplifikasyonunu başlatmak amacıyla kullanılırlar. Primerler minimum 17-19 nükleotidden oluşmuş oligomerlerdir. Primerlerin bağlanması aşamasında deney ortamının ısısı 40-60 °C'ye düşürülür.

Primerlerin uzatılması (extension) ve Amplifikasyon

Primerlerin bağlanması aşaması tamamlandıktan sonra primer hibridleştiği tek sarmalın karşılığını sentezler. Bu sentez için termostabil olan ve *Thermus aquaticus* adlı bakteriden elde edilen Taq DNA polimeraz enzimi kullanılır.

Nükleotidleri orijinal DNA sarmalına komplementer olacak biçimde primere ekler ve uzatır. Oluşan yeni DNA sarmalları bir sonraki döngüde primerler için kalıp olarak rol oynarlar.

Primerlerin uzatılması aşamasında 70-75 °C'lerde ısı uygulanır. 72 °C'de nükleotid eşleşme hızı; tampon, pH, tuz konsantrasyonu ve DNA kalıbının yapısına bağlı olarak saniyede 35-100 nükleotid olarak gerçekleşir. 72 °C'de bir dakikalık uzama süresi 2 kilobayt (kb) uzunluğundaki bir amplifikasyon ürünü için yeterli kabul edilir.

PCR uygulamasında üç evre bir döngü olarak kabul edilir, bir döngü 3-5 dakika sürer ve 20-40 kez tekrarlanır. Her döngü sonunda DNA miktarı geometrik dizi şeklinde iki katına çıkar. Döngü sayısı "n" olarak kabul edilirse "2ⁿ" çoğaltılmış DNA materyali miktarını verir (77). Termostabil DNA polimerazları ve farklı sıcaklık derecelerini istenilen süreler için otomatik olarak ayarlanabilen PCR aletlerinin ("thermal cyclers") kullanıma sunulması, PCR'nin verimi ve kullanımında önemli gelişmelere yol açtı (78). PCR yönteminin uygulanabilmesi için öncelikle tam doğru bir baz dizisi bilgisine ihtiyaç bulunmaktadır. Yöntemin son derece duyarlı olması nedeniyle çok küçük miktarlardaki kontaminasyon bile yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. PCR çalışmalarında diğer bir dezavantaj ise, her primer çiftinin kendine özgü annealing ve uzama koşulları (ısı, döngü uzunluğu, primer yoğunluğu, Mg⁺² konsantrasyonu, enzim ve DNA miktarı) olmasıdır (77).

PCR'ın Temel Bileşenleri

PCR'ın temel bileşenleri, kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) karışımı, tampon ve MgCl₂'dür.

Kalıp DNA

PCR yönteminde insan genomik DNA'sı kullanılabildiği gibi, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir.

PCR 'da kalıp olarak tek ya da çift iplikli DNA'nın yanı sıra RNA da kullanılması mümkündür.

Polimerazlar

DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere, orijinal iplikteki baz bilgisini kullanarak dNTP'lerden uzun polinükleotid zinciri sentezinin katalizinde rol oynarlar. Bu enzimler, sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan primerlere gerek duyarlar. Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup, primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapımlarıyla, fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerizasyonu gerçekleşir. Etkinliğine, büyük DNA ürünlerini çoğaltma yeteneğine göre değişik enzimler seçilebilir. Termostabil DNA polimerazlardan Taq DNA polimerazın polimerizasyon oranı (nükleotid/saniye) enzim için en uygun sıcaklık olan 70-80 °C'de 35-100'dür.

Primerler

DNA'nın istenilen bölgesinin çoğaltılması sırasındaki reaksiyonların verimini ve spesifikliğini etkileyen faktörler içerisinde en kritik basamak primer dizaynidir. Titizlikle dizayn edilmiş primerler, yüksek kalitede ürün elde edilmesini ve istenmeyen bölgelerin çoğaltılmasının önlenmesini sağlarlar.

Primerler, hedef dizinin her iki ucuna uyan oligonükleotidlerdir. Bu iki oligonükleotidden biri, çift zincirli bir DNA molekülünün zincirlerinden birinin ucundaki hedef diziye, diğeryse, diğer uçtaki diziye tamamlayıcı olarak uyması için tasarlandı (79).

Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP)

Deoksiribonükleaz trifosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) saflık oranı yüksek tek tek veya dördü karışım halinde bulunurlar. Taq DNA polimeraz μM ile ifade edilen düşük dNTP konsantrasyonlarında kalıba uygun doğru bazları seçmede

daha başarılı olmakla birlikte, normal koşullarda PCR, 100 µM dNTP konsantrasyonu ile gerçekleştirilir (78).

Tamponlar ve MgCl₂

Tampon çözeltiler PCR'da ortam pH'ını ayarlamak için kullanılır. Tampon çözeltisinin içeriğindeki Tris-Cl, pH'yı oda sıcaklığında 8.3-8.8 aralığında tutar. 72°C'de sıcaklıkta pH 7.2'ye kadar düşer.

Bütün polimeraz enzimlerinin aktivitelerini gösterebilmeleri için reaksiyon ortamında katyon bulunmalıdır. Bu amaçla genellikle Mg⁺² 1-1,5 mM aralığında konsantrasyonlarda kullanılır. Düşük Mg⁺² ürün oluşumunda azalmaya yüksek konsantrasyonlar ise spesifik olmayan ürün artışına yol açar.

Standart PCR tamponu, 50 mM KCl, 10 mM Tris-Cl ve 1,5 mM MgCl₂ içerir. PCR'da Mg⁺² konsantrasyonunun iyi ayarlanamaması; primer yapışması, PCR ürünü ve kalıpların ayrılması ve ürün spesifikliğinde istenmeyen değişiklikler gibi sonuçlara yol açar (78,80).

2.8 ELEKTROFOREZ

Ortamda çözünmüş olarak bulunan yüklü moleküllerin bir elektrik alanı içerisinde elektrik yüklerinin kitlelerine oranıyla belirlenen hızlarda alan içerisindeki dağılımının izlenmesi tekniğine dayanan yöntem elektroforez adı verilir. Analiz edilecek numune destek ortamı vazifesi gören selüloz veya jellere uygulanır. İşlem, içerisinde uygun bir tampon bulunan elektroforez aygıtına yerleştirilerek yapılır. Numune, jelin üzerine nokta şeklinde veya ince bir bant olarak uygulanır. Moleküllerin jel üzerindeki hareketi moleküllerin yükü, boyutu, biçimi ve elektriksel alanın şiddetine bağlıdır. Elektroforez az miktardaki protein ya da nükleik asit karışımlarının saflaştırma ve analiz işlemlerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Tipi

ya da konumu değişik elektroforez çeşitlerini görmek mümkündür. Dikey ya da yatay konumdaki destek ortamı selüloz ya da poliakrilamid veya agaroz ince jellerden hazırlanmış olabilir. Elektroforez, bir proteinin saflığının, kompozisyonunun ve antijenik özelliğinin analizinde çok faydalıdır (78).

GEREÇ VE YÖNTEM

ÇALIŞMA PLANI

Onkolojik ağrı tedavisinde tramadol etkinliğinin cyp2d6 gen polimorfizmi ile ilişkisinin araştırıldığı prospektif tipteki çalışmamız 1 Ekim 2017 ile 1 Ekim 2018 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Anabilimdalı'nda yürütüldü.

Çalışmaya başlanmadan önce Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (06.03.2018 tarih ve 05 sayılı kurul kararları ile). Araştırmaya katılan 18 yaş üstü 100 kontrol ve 195 hasta olmak üzere toplam 295 bireyden Helsinki Deklarasyonuna uygun şekilde aydınlatılmış onam alındı. Acil servise onkolojik ağrı yakınmasıyla başvuran hastalar çalışmaya alındı. Çalışma için uygun hasta başvurduğunda, hastadan yazılı onam alındıktan sonra, acil serviste monitörlü gözlem birimine alınıp, monitörize edildi.

Uygulanacak ilaç dozu ve şekli ;

1-Tramadol (contramal) (100 mg)

Randomizasyon yapıldıktan sonra uygulanacak ilaç 150 ml serum fizyolojik içinde sulandırılarak 15 dakikada intravenöz infüzyon olarak uygulandı. Uygulama esnasında bireylerden toplanan periferik kan örnekleri steril, ortalama 2 ml antikogülanlı (K3EDTA) vakumlu tüpler içerisine alındı. Hastalar acil serviste en az 60 dakika takip edildi. 0, 15, 30 ve 60. dakikada VAS ile ağrıları değerlendirilerek, vital bulgu ve gelişebilecek yan etkiler gözlemlendi. 60. dakikada çalışma sonlandırıldı.

Toplanan kanlar DNA izolasyon aşamasına kadar -20°C' de saklandı. Elde edilen genomik DNA'larda; PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi ile CYP2D6

genine özgü bölge çoğaltıldı ve bu bölgelerde yer alan polimorfik odaklar restriksiyon enzimi ile kesilerek, yüksek çözünürlükteki agaroz jelde gözlemlendi ve PCR/RFLP tabanına dayalı genotipleme yapıldı. Ayrıca hastaların cinsiyet, yaş gibi demografik özelliklerinin yanı sıra; hemogram ve biyokimyasal parametreleri (BUN, üre, kreatinin, AST, ALT, CRP, Na, K vb.) de bilgisayar ortamına aktarılarak istatistiksel analizler yapıldı.

DNA İzolasyonu

1. Dokular bir doku homojenizatörü ya da steril havan içerisinde sıvıazot kullanılarak iyice ezilir ve toz haline getirilir ve daha sonra butoz mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Taze doku örnekleri direkt olarak mikrosantrifüj tüpüne alınır. (homojenizasyon)
2. lizis tamponu 50 mg'lık doku başına 0.5 ml olacak şekilde eklenir ve 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkube edilir. (Proteinaz-K ile lizis)
3. Eşit hacimde fenol örneklere eklenir ve iyice vortekslenir ve fazlar 13000 x g'de 5 dk. santrifüjlenerek ayrılır. (fenol ekstrakt)
4. Üstteki sıvı faz ara faza dokunulmadan dikkatli bir şekilde alınarak yeni bir mikrosantrifüj tüpüne eklenir.
5. Örnekler kloroform / izoamil alkol (24:1) karışımıyla tekrar ekstrakte edilir ve üst sıvı faz yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. (kloroformekst.)
6. 0.1 hacimlik 3 M'lık NaOAc (pH 5.2) örneklere eklenir, karıştırılır, daha sonra 2.5 hacim soğuk etanol eklenir ve DNA'nın presipite olması için 1 saat oda sıcaklığında beklenir. (presipitasyon)
7. DNA santrifüjlenerek (13000 x g, 10 dk) peletlenir vesolüsyon dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır.
8. Elde edilen pelet % 70'lik soğuk etanol içerisinde yıkılır ve 6. aşamadaki gibi santrifüjlenir. (yıkama)
9. Etanol uzaklaştırılır, artanın kağıt havlu üzerinde tüp ters çevrilerek kaybolması sağlanır. Tüpler 30dk. bu şekilde havada kurutulur.

10. 100-200 µl steril suda çözdürülür. Buhazırlanan DNA'nın 1 µl'si PCR testinde kullanılır.
11. Dokular bir doku homojenizatörü ya da steril havan içerisinde sıvıazot kullanılarak iyice ezilir ve toz haline getirilir ve daha sonra butoz mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Taze doku örnekleri direkt olarak mikrosantrifüj tüpüne alınır. (homojenizasyon)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bu çalışmada DNA analizi için tercih edilen PCR tekniği, ilgilenilen DNA dizisinin in vitro şartlarda çoğaltılmasına dayanan, pratik ve güvenilir olmasından dolayı günümüzde moleküler biyolojik çalışmalarda geniş kullanım alanına sahip bir tekniktir. PCR tekniğinin prensibi; tekrarlanan üç basamağa bağlıdır. Bir PCR döngüsü;

- Denatürasyon,
- Primerlerin bağlanması (annealing) ve
- Uzama (extension) basamaklarından oluşur.

CYP2D6 gen bölgelerinin çoğaltılması işlemi PCR tekniği ile başarılmıştır.

ÇALIŞMA EVRENİ

Bu çalışma 01.03.2016 ile 30.10.2016 tarihleri arasındaki 8 aylık dönemde Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'nda yapıldı. Yaklaşık 120000 erişkin hasta/yıl kapasiteli acil servisimiz içinde araştırmayı 24 saat primer olarak kontrol edecek araştırma görevlisi ve/veya öğretim üyesi bulundu.

HASTA SEÇİMİ

Çalışmaya acil servisimize onkolojik ağrı yakınmasıyla başvuran, çalışmaya katılmayı kabul eden, aydınlatılmış onam veren ve dahil olma kriterlerini karşılayan 18 yaş üstü arasındaki 195 olgu dahil edildi. Çalışmaya alma ve almama kriterleri çalışma öncesinde belirlendi.

Dahil Edilme Kriterleri

- Hasta grubu: 18 yaş ve üstü onkolojik ağrı yakınmasıyla başvuran hastalar
- Kontrol grubu : 18 yaş ve üstü sağlıklı erişkinler

Dışlama Kriterleri:

- Son 6 saat içinde analjezik kullananlar,
- Kronik böbrek yetmezliği olan hastalar , Kc sirozu tanılı hastalar ,
- Gebeler,
- Tramadole veya içindeki bileşenlerden herhangi birine aşırı duyarlılığı olanlar ,
- Posttravmatik ağrısı olanlar,
- MAO inhibitörü alan veya son 14 gün içinde MAO inhibitörü almış olan hastalarda ,
- Tedavi ile kontrol edilemeyen epilepsi hastalarında,
- Acil servise geldiğinde ağrı şiddetini 100 mm'lik VAS skalasında 40 mm ve altında işaretleyen hastalar,
- Çalışmayı kabul etmeyen hastalar çalışmadan dışlanacaktır.

VERİLERİN TOPLANMASI

Onkolojik ağrının derecesini skorlamak için 0-10 cm'lik VAS (*Visual Analog Scale, Görsel Analog Skala*) kullanılarak hastaların ağrı skorları kaydedildi. VAS; ölçülü yatay veya dikey bir çizgiden oluşup sıklıkla bir ucunda “semptom yok” diğer ucunda “şiddetli semptom var” şeklinde tanımlar taşır. Hastaya semptomun şiddetine uygun olarak çizgi üzerinde bir noktayı işaretlemesi söylenir. İşaretin yeri semptomun şiddetinin ölçümüne olanak sağlar. İşlem öncesi ve sürecinde çalışma için hazırlanmış olan değerlendirme formlarındaki VAS işaretlemeleri hastanın kendisi tarafından ve bir önceki işaret yerine bakılmaksızın yapıldı.

Aynı form üzerine hastaların dosya numaraları, yaşları, cinsiyetleri, tedaviyi uygulayan sağlık ekibinin bilgileri, uygulama tarihi ve saatleri kayıt edildi.

İşlem sırasında SpO₂ monitörizasyonu, otomatik sphygmomanometre (kanbasıncı), ritim monitörizasyonu (hız ve ritim) sağlandı ve çalışma esnasındaki tüm diğer medikasyonlar da kaydedildi. Hastaların başvuru sırasındaki vücut ısısı plusMED® marka cihaz ile koltuk altından ölçüldü. Oksijen saturasyonu ve kan basıncı Nihon Kohden® BSM-2301K markalı cihaz ile ölçüldü.

Onkolojik ağrı skorları 0, 15, 30, 45 ve 60 dakikalarda değerlendirildi ve kaydedildi. Ayrıca çalışma boyunca kalp hızı (atım/ dakika), sistolik kan basıncı (mmHg), diastolik kan basıncı (mmHg), solunum sayısı (nefes/ dakika), vücut ısısı(C°) ve O₂ saturasyonu (SPO₂) 0, 15, 30, 45 ve 60. dakikalarda kaydedildi. Ek olarak, oluşabilecek yan etkiler veri formuna kaydedildi. Yan etkiler için gerekli ise tedavi uygulandı. Oluşturulan çalışma formuna tüm bilgiler kaydedildi.

Hastalar çalışmaya dahil edilmeden önce özellikle ileri yaş ve komorbid hastalığı olan vakalarda herhangi bir olası iskemik kardiyak durumu ekarte etmek için ekg çekimi yapıldı. Ekg'sinde iskemik bulgulara rastlanan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Örneklem Analizi

Yapılan güç analizi sonucunda , tramadol tedavisi alan hasta grubunda %30 , kontrol grubunda % 5 polimorfizm saptama öngörüsüyle % 80 güç ve % 95 güven aralığında her bir grup için en az 27 kişiye ulaşılması hesaplandı.Çalışmaya 295 kişi (195 hasta grubu 100 kontrol grubu) alındı.

İstatistiksel Analizi

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri kategorik değişkenler için frekans (n) ve yüzde (%), sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma, ortanca, en düşük ve en yüksek değerler ile ifade edildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Pearson Ki Kare ve Fisher's Exact Testleri kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen (nonparametrik) değişkenlerin iki grup arasında değerlendirilmesinde Mann Whitney U Testi, ikiden fazla grup arasında değerlendirilmesinde Kruskal Wallis Testi kullanıldı. İki'den fazla bağımlı grubun normal dağılıma uymayan sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında Friedmann Testi kullanıldı. Ölçümsel verilerin birbirleri ile analizinde Spearman Korelasyon Testi'nden faydalanıldı. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

BULGULAR

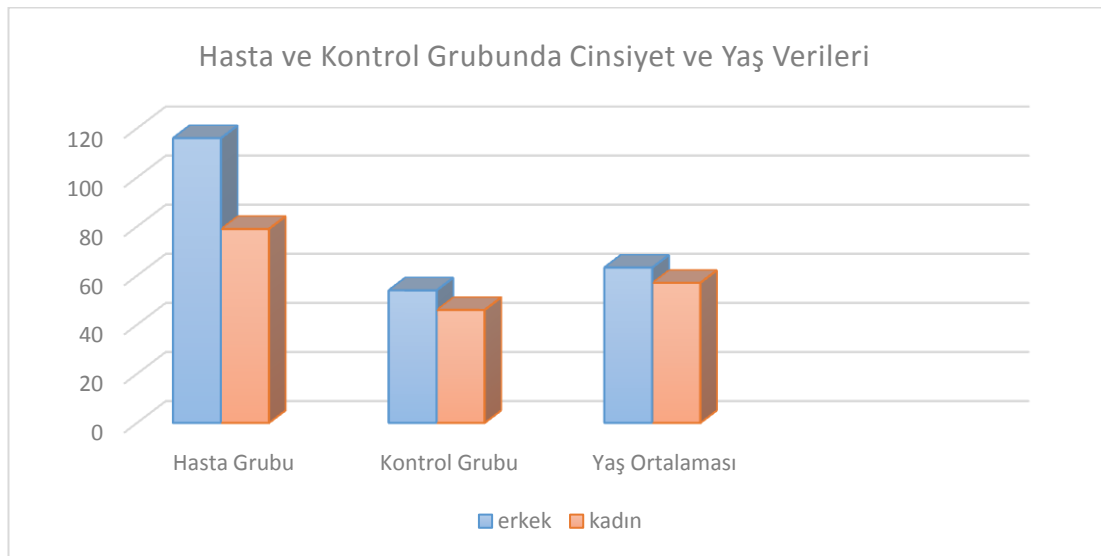
Çalışmaya herhangi bir kanser hastalığı tanısı olup acil servise onkolojik sebepli ağrı ile başvuran 195 hasta ve 100 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 295 kişi alınmıştır. Bu kişilerin toplamda 170'i (%57,62) erkek, 125'i (%42,38) kadındır. Hasta grubundaki 195 hastanın 116'sı erkek (%59,48), 79'u kadın (%40,52); kontrol grubunun 54'ü (%54) erkek, 46'sı (%46) kadınlardan oluşmaktadır. Hasta ve kontrol grupları cinsiyet açısından istatistiksel açıdan benzer şekilde dağılmışlardır ($p=0,367$). Tüm popülasyonun yaş ortalaması $61,17\pm 14,12$ olarak saptanmıştır. Yaş ortalaması hasta grubunda $63,29\pm 12,54$; kontrol grubunda $57,05\pm 16,06$ olarak saptanmıştır. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttur ($p=0,001$) (Tablo-3).

Tablo-3 Hasta ve Kontrol Grubunda Yaş ve Cinsiyet Verileri

		Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Tüm Populasyon	p
Cinsiyet n (%)	Erkek	116 (59,48)	54 (54)	170 (57,62)	0,367
	Kadın	79 (40,52)	46 (46)	125 (42,38)	
Yaş (mean(\pmStd))		63,29 \pm 12,54	57,05 \pm 16,06	61,17 \pm 14,12	0,001

P değeri yaş için student's t testinden elde edilmiştir.

P değeri cinsiyet için ki kare testi ile elde edilmiştir.



Şekil 12 : Hasta ve kontrol grubunda yaş ve cinsiyet verileri

Hasta grubunda vital bulgulara bakıldığında; başlangıçtaki ateş ortalaması $36,99\pm0,84$; 15. Dakikadaki ateş ortalaması $36,97\pm0,81$; 30. dakikadaki ateş ortalaması $36,94\pm0,77$; 60. dakikadaki ateş ortalaması $36,85\pm0,64$ şeklindedir. Hastalara bu süreçte ek olarak antipiretik tedavisi verilip verilmediği bilinmemekle birlikte hastaların 0-60. Dakikalar arasında ateşinin gerilediği görülmüştür ($p=0,001$) (Tablo-4).

Hasta grubunda başlangıç nabız ortalaması $97,0\pm19,93$; 15.dakika nabız ortalaması $96,92\pm19,10$; 30. dakika nabız ortalaması $97,03$; 60. dakika nabız ortalaması $93,57\pm14,76$ olarak bulunmuş olup hastaların 0-60. dakikalar arasında nabızlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde gerilemiş olduğu görülmüştür ($p=0,0001$) (Tablo-4).

Sistolik kan basıncı ortalaması hasta grubunda başlangıçta $114,75\pm17,77$ mm/Hg; 15. dakikada $115,80\pm16,36$ mm/Hg; 30.dakikada $115,35\pm15,55$ mm/Hg; 60.dakikada $113,31\pm12,31$ mm/Hg olarak bulunmuştur. Diyastolik kan basıncı ortalaması ise başlangıçta $72,27\pm13,28$ mm/Hg; 15. dakikada $73,56\pm12,87$ mm/Hg; 30.dakikada $74,26\pm11,61$ mm/Hg; 60.dakikada $72,58\pm9,71$ mm/Hg olarak bulunmuştur. Hasta grubunda Sistolik ve diyastolik kan basınçlarının 0-60. dakikalar arasında azaldığı saptanmıştır (p değerleri sırasıyla $p=0,0001$ ve $p=0,0001$) (Tablo-4).

Hasta grubunda dakikada solunum sayısı ortalaması başlangıçta $18,24\pm2,80$; 15.dakikada $18,02\pm2,76$; 30.dakikada $18,00\pm2,70$; 60. dakikada $17,53\pm2,37$ olarak saptanmış olup 0-60. dakikalar arasında hastaların dakikada solunum sayıları azalmıştır ($p=0,0001$) (Tablo-4).

Tablo-4 Hasta Grubunda Vital Bulguların 0-60. Dakikalardaki Değişimi

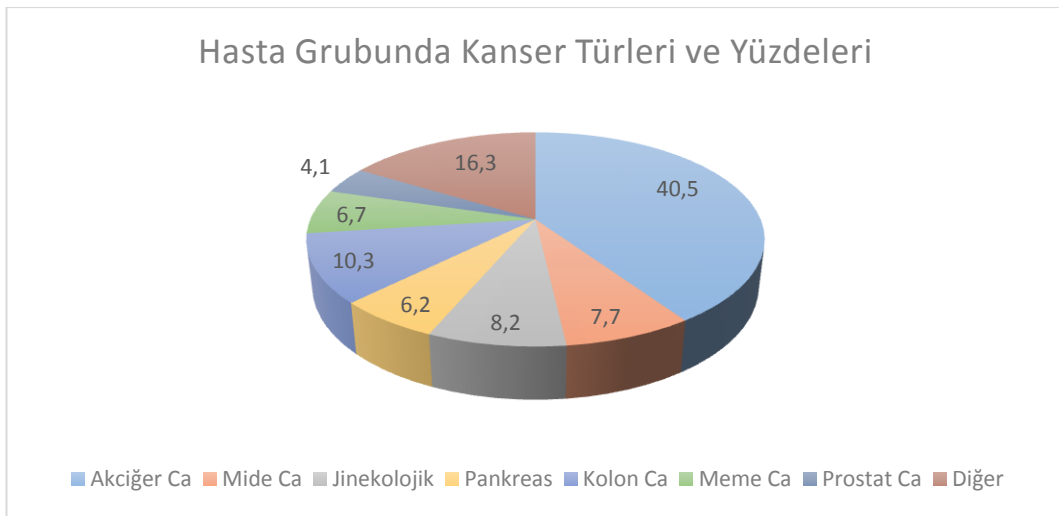
		0.dk	15.dk	30.dk	60.dk	p
Ateş (°C)	<i>Ortalama±SS</i>	36,99±0,84	36,97±0,81	36,94±0,77	36,85±0,64	0.001
	<i>Ortanca (25-75. Çeyrekler)</i>	36,8(36,4- 37,2)	36,8(36,4- 37,2)	36,8(36,4-37,2)	36,8(36,4-37,1)	
Nabız	<i>Ortalama±SS</i>	97,0±19,93	96,92±19,10	97,03±18,16	93,57±14,76	0.0001
	<i>Ortanca (25-75. Çeyrekler)</i>	96 (85-114)	96 (86-114)	96(84-112)	96(84-105)	
Sistolik KB (mm/hg)	<i>Ortalama±SS</i>	114,75±17,77	115,80±16,36	115,35±15,55	113,31±12,31	0.0001
	<i>Ortanca (25-75. Çeyrekler)</i>	114(100-126)	115(110-125)	114(108-123)	114(108-120)	
Diastolik KB (mm/hg)	<i>Ortalama±SS</i>	72,27±13,28	73,56±12,87	74,26±11,61	72,58±9,71	0.0001
	<i>Ortanca (25-75. Çeyrekler)</i>	72(61-82)	74(65-82)	74(66-82)	73(65-80)	
Solunum Sayısı	<i>Ortalama±SS</i>	18,24±2,80	18,02±2,76	18,00±2,70	17,53±2,37	0.0001
	<i>Ortanca (25-75. Çeyrekler)</i>	18(16-20)	18(16-18)	18(16-18)	18(16-18)	

p değeri Friedman analizinden elde edilmiştir.

Hasta grubunda kanser türlerine bakacak olursak 6 kişide (%3,1) mesane kanseri ,6 kişide (%3,1) larinks-nazofarinks kaseri, 2 kişide tiroid kanseri, 5 kişide (%2,6) glioblastome multiforme (GBM) ve diğer tip beyin tümörü, 3 kişide (%1,5) hepatosellüler karsinom (HCC) ve kolanjiosellüler karsinom,2 kişide (%1) primeri belirlenemeyen kanser türü, 1 kişide (%0,5) omentum kanseri, 2 kişide (%1) osteosarkom ve sinovyal Sarkom, 1 kişide (%0,5) malign melanom, 8 kişide (%4,1) prostat kanseri, 79 kişide (%40,5) akciğer kanseri,15 kişide (%7,7) mide veya özefagus kanseri, 12 kişide (%6,2) pankreas kanseri, 16 kişide (%8,2) genital yol kanserleri (Over, Uterus,Servix,Endometrium, Vulva), 20 kişide kolon kanseri (%10,3), 13 kişide meme kanseri (%6,7) ,4 kişide renal hücre karsinomu (RCC) mevcuttu (%2,1) (Tablo-5).

Tablo-5 Hasta Grubunda Görülen Kanser Türleri ve Yüzdeleri

	n	%
Akciğer CA	79	40,5
Kolon CA	20	10,3
Over-Uterus-Servix-Endometrium-Vulva CA	16	8,2
Mide-Özefagus CA	15	7,7
Meme CA	13	6,7
Pankreas CA	12	6,2
Prostat CA	8	4,1
Mesane CA	6	3,1
Larinx-Nazofarinx CA	6	3,1
GBM+Diğer Beyin TM	5	2,6
RCC	4	2,1
HCC+Kolanjiosellüler CA	3	1,5
Tiroid CA	2	1,0
Osteosarkom+Sinovyal Sarkom	2	1,0
Primeri Belirsiz	2	1,0
Omentum CA	1	,5
Malign Melanom	1	0,5



Şekil 13: Hasta grubunda kanser türleri ve yüzdeleri

Hastaların 80 (%41) inde metastaz mevcut değildi, 115 hastanın ise (59%) bilinen en az bir metastazı mevcuttu. Altmış bir hastada (%35,4) kemik metastazı, 24 hastada (%12,3) mevcuttu. Altmış dokuz hasta (%35,4) kemoterapi almazken,126 hasta (%64,1) halen kemoterapi almaktaydı. 37 hasta (%19) halen radyoterapi almaktayken,158 hasta ise radyoterapi almamaktaydı (%81). Seksen bir hastanın (%41,5) aktif herhangi bir enfeksiyonu mevcutken, 114 hastada herhangi bir enfeksiyon bulgusu mevcut değildi (%58,5) (Tablo-6).

Tablo-6 Hasta Grubunda Metastaz ,Radyoterapi,Kemoterapi Alımı Durumu

		Sayı	Yüzde%
Metastaz	Yok	80	41,0
	Var	115	59,0
Kemik Metastazı	Yok	134	68,7
	Var	61	31,3
Kemoterapi Alımı	Yok	69	35,4
	Var	126	64,1
Radyoterapi Alımı	Yok	158	81
	Var	37	19
Santral Sinir Sistemi Metastazı Varlığı	Yok	171	87,7
	Var	24	12,3
Aktif Enfeksiyon Varlığı	Yok	114	58,5
	Var	81	41,5

Hasta grubunda WBC değeri ortalaması $10,47 \pm 9,06$ K/ μ l, nötrofil sayısı ortalaması $8,39 \pm 8,09$ Ku/L, lenfosit sayısı ortalaması $1,32 \pm 1,90$ K/ μ l, hemoglobin değeri ortalaması $10,91 \pm 2,14$ mg/dl, CRP değeri ortalaması $10,37 \pm 19,45$ mg/L , Na

değeri ortalaması 137,09±5,59 mmol/L, K değeri ortalaması 4,32±0,88 mmol/L, Cl değeri ortalaması 97,80±9,72 mmol/L, üre değeri ortalaması 49,33±38,34 g/dl, kreatin değeri ortalaması 1,65±5,22 g/dl, AST değeri ortalaması 35,24±30,41 IU/L, ALT değeri ortalaması 28,72±24,77 IU/L olarak saptanmıştır (Tablo-7).

Tablo-7 Hasta Grubunda Laboratuvar Verileri

	Ortalama±Std. Sapma	Ortanca (25-75. çeyrekler)
WBC	10,47 ±9,06	8,02 (5,54-11,70)
Nötrofil Sayısı	8,39±8,09	6,23(4,11-10,11)
Lenfosit Sayısı	1,32±1,90	1,12(0,75-1,55)
Hemoglobin	10,91±2,14	10,8(9,7-12,5)
CRP	10,37±19,45	5,18(0,92-13,79)
Na	137,09±5,59	137(134-140)
K	4,32±0,88	4,29(3,76-4,85)
Cl	97,80±9,72	98(95-102)
Üre	49,33±38,34	37(25-55)
Kreatin	1,65±5,22	0,87(0,67-1,14)
AST	35,24±30,41	25(18-45)
ALT	28,72±24,77	22(12-36)

Hastaların görsel analog skorları (VAS) ortalamaları başlangıçta 81,56±15,56, 15. dakikada 71,79±17,74, 30. dakikada 53,41±22,94, 45. dakikada 35,48±22,55, 60. dakikada 21,89±22,76 olmuştur. Başlangıç ve 60. dakikalar arasında VAS skor değişimi ortalaması 59,66 ±24,42 olarak saptanmıştır. Hastaların ağrıları 0-60. dakikalar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır (p=0,0001) (Tablo-8).

Tablo- 8 Hasta Grubunda VAS Skorları ve Değişimi

	Ortalama±Std. Sapma	Ortanca (25-75. çeyrekler)	p
VAS-0	81,56±15,56	80(70-100)	0.0001
VAS-15	71,79±17,74	75(60-80)	
VAS-30	53,41 ±22,94	50(40-70)	
VAS-45	35,48±22,55	30(20-50)	
VAS-60	21,89±22,76	20(10-30)	
VAS Skor Değişimi	59,66 ±24,42	60(50-80)	

p değeri Friedman analizinden elde edilmiştir.

Hastaların başvuru sırasında VAS skoru ortalaması metastazı mevcut olan grupta 81,82 ±15,85, metastazı olmayan grupta 81,18 ±15,22, santral sinir sistemi metastazı olan grupta 76,66±19,03, santral sinir sistemi metastazı olmayan grupta 82,25±14,95, kemik metastazı olan grupta 79,09 ± 16,16, kemik metastazı olmayan grupta ise 82,68±15,21 olarak saptanmış olup, metastazı olan ve olmayanlar arasında, santral sinir sistemi metastazı olan ve olmayanlar arasında kemik metastazı olan ve olmayanlar arasında başlangıç VAS skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla; p=0,777; p=0,179; p=0,146) (Tablo-9).

Başlangıç ve 60. dakikalar arasında VAS skor değişimi ortalaması metastazı mevcut olan 58,69 ±24,37, metastazı olmayan hastalarda ise 61,06 ± 24,58 olarak saptanmış olup metastazı olan ve olmayan hastalar arasında VAS skor değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,431). Santral sinir sistemi metastazı olan hastalarda başlangıç ve 60. dakikalar arasında VAS skor değişimi ortalaması 58,54±23,65, Santral sinir sistemi metastazı olmayan hastalarda VAS skor değişimi ortalaması ise 59,82±24,59 olarak saptanmıştır. Santral sinir sistemi metastazı olan ve olmayan hastalar arasında VAS skor değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,603). 0-60. dakikalar arasında VAS skor değişim ortalaması kemik metastazı olan hastalarda 61,94±24,37, kemik metastazı olmayan hastalarda ise 54,67±23,99 olarak saptanmış olup gruplar arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Kemik metastazı mevcut olan hastalarda VAS skor değişimi daha fazla olmuştur ($p=0,024$) (Tablo-9).

Tablo-9 Hasta Grubunda Metastaz Varlığı ve VAS Skor değişimi İlişkisi

		Başlangıç VAS Skoru	<i>p</i>	VAS değişimi (0-60. dk)	<i>p</i>
Metastaz	VAR	81,82 ±15,85	0,777	58,69 ±24,37	0,431
	YOK	81,18 ±15,22		61,06 ± 24,58	
Santral Sinir Sistemi Metastazı	VAR	76,66±19,03	0,179	58,54±23,65	0,603
	YOK	82,25±14,95		59,82±24,59	
Kemik Metastazı	VAR	79,09 ± 16,16	0,146	61,94±24,37	0,024
	YOK	82,68±15,21		54,67±23,99	

p değeri student's t testinden elde edilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarında CYP2D6*2, CYP2D6*3, CYP2D6*4 ve CYP2D6*10 allellere bakıldığında; hasta grubunda CYP2D6*2 allel frekansı %3,33 (13 allel), CYP2D6*3 allel frekansı %11,28 (22 allel), CYP2D6*4 allel frekansı %6,9 (27 allel), CYP2D6*10 allel frekansı %6,4 (25 allel) olarak bulunmuş, CYP2D6*1 alleli olarak da bilinen "wild type allel" frekansı ise %72,09 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda ise CYP2D6*2 allel frekansı %7,0 (14 allel), CYP2D6*3 allel frekansı 12,5 (25 allel), CYP2D6*4 allel frekansı %8,5, CYP2D6*10 allel frekansı %16, CYP2D6*1 allel frekansı ise %56 olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında CYP2D6*1, CYP2D6*3 ve CYP2D6*10 allel frekanslar açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (*p* değerleri sırasıyla; $p=0,0001$; $p=0,006$; $p=0,0001$). CYP2D6*4 ve CYP2D6*2 allel frekansı ise her iki grupta benzerdir ($p=0,510$, $p=0,059$) (Tablo-10).

Tablo-10 Hasta ve Kontrol Grubunda CYP2D6 Genotip ve Allel Frekansları

	Hasta Grubu				Kontrol Grubu				P ¹
	Genotip	n (%)	Allel	n (%)	Genotip	n (%)	Allel	n (%)	
CYP2D6*1			*1	303 (72,09)			*1	112 (56)	0,0001
CYP2D6*2	wt/wt	182 (93,34)	*2	13 (3,33)	wt/wt	86 (86)	*2	14(7,0)	0,059
	wt/*2	13 (6,66)			wt/*2	14(14)			
	*2/*2	0 (0)			*2/*2	0(0)			
p ² Değeri	0,053								
CYP2D6*3	wt/wt	173 (88,7)	*3	22 (11,28)	wt/wt	75(75)	*3	25 (12,5)	0,006
	wt/*3	20 (10,3)			wt/*3	25(25)			
	*3/*3	2(1)			*3/*3	0(0)			
p ³ Değeri	0,002								
CYP2D6*4	wt/wt	168 (86,2)	*4	27 (6,9)	wt/wt	83(83)	*4	17 (8,5)	0,510
	wt/*4	27(13,8)			wt/*4	17(17)			
	*4/*4	0(0)			*4/*4	0(0)			
p ⁴ değeri	0,493								
CYP2D6*10	wt/wt	170 (87,2)	*10	25 (6,4)	wt/wt	68(68)	*10	32 (16,0)	0,0001
	wt/*10	25 (12,8)			wt/*10	32(32)			
	*10/*10	0(0)			*10/*10	0(0)			
P ¹⁰ değeri	0.0001								

P¹ değerleri allel frekansları analizi olup Fisher Exact testten elde edilmiştir.

p², p³, p⁴ ve P¹⁰ değerleri genotipler arası yapılan Fisher Exact testinden elde edilmiştir.

hasta grubunda cyp2d6*2 wt/wt genotipi 182 hastada (%93,34), wt/*2 genotipi 13 hastada (%6,66) saptanmış olup *2/*2 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. kontrol grubunda cyp2d6*2 wt/wt genotipi 86 hastada (%86), wt/*2

genotipi 14 hastada (%14) saptanmış olup *2/*2 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. hasta ve kontrol grupları arasında cyp2d6*2 genotipleri açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0,053). cyp2d6*3 wt/wt genotipi 173 hastada (%88,7), wt/*3 genotipi 20 hastada (%10,3), *3/*3 genotipi 2 hastada (%1) saptanmıştır. kontrol grubunda cyp2d6*3 wt/wt genotipi 75 hastada (%75), wt/*3 genotipi 25 hastada (%25) saptanmış olup *3/*3 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. hasta ve kontrol grupları arasında cyp2d6*3 genotipleri açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0,002). hasta grubunda cyp2d6*4 wt/wt genotipi 168 hastada (%86,2), wt/*4 genotipi 27 hastada (%13,8) saptanmış olup *4/*4 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. kontrol grubunda cyp2d6*4 wt/wt genotipi 83 hastada (%83), wt/*4 genotipi 17 hastada (%17) saptanmış olup *4/*4 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. hasta ve kontrol grupları arasında cyp2d6*4 genotipleri açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0,493). hasta grubunda cyp2d6*10 wt/wt genotipi 170 hastada (%87,2), wt/*10 genotipi 25 hastada (%12,8) saptanmış olup *10/*10 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. kontrol grubunda cyp2d6*10 wt/wt genotipi 68 hastada (%68), wt/*10 genotipi 32 hastada (%32) saptanmış olup *10/*10 genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. hasta ve kontrol grupları arasında cyp2d6*4 genotipleri açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0,0001) (tablo-10).

cyp2d6 geninde çalışmamızda baktığımız tüm alleller birlikte değerlendirilerek genotiplendirme yapıldığında hasta grubunda cyp2d6 *1/*1 genotip frekansı %68,20 (133 hasta); cyp2d6 *1/*2 genotip frekansı %11,79 (23 hasta); cyp2d6 *1/*3 genotip frekansı %3,58 (7 hasta); cyp2d6 *1/*4 genotip frekansı %6,66 (13 hasta); cyp2d6 *1/*10 genotip frekansı %7,22 (14 hasta);); cyp2d6 *3/*3 genotip frekansı % 1,02 (2 hasta) olarak saptanmıştır. hastaların %11,79'unda (23 hasta) birleşik (compound) heterozigote saptanmıştır. bu hastalarda birden fazla allelde genotipik heterozigotluk söz konusudur. hastalarda cyp2d6 *2/*2, *4/*4, *10/*10 genotiplerine ise rastlanmamıştır.

Kontrol grubunda CYP2D6 *1/*1 genotip frekansı %45 (45 hasta); CYP2D6 *1/*2 genotip frekansı %9 (9 hasta); CYP2D6 *1/*3 genotip frekansı %3 (3 hasta); CYP2D6 *1/*4 genotip frekansı %5 (5 hasta); CYP2D6 *1/*10 genotip frekansı %10

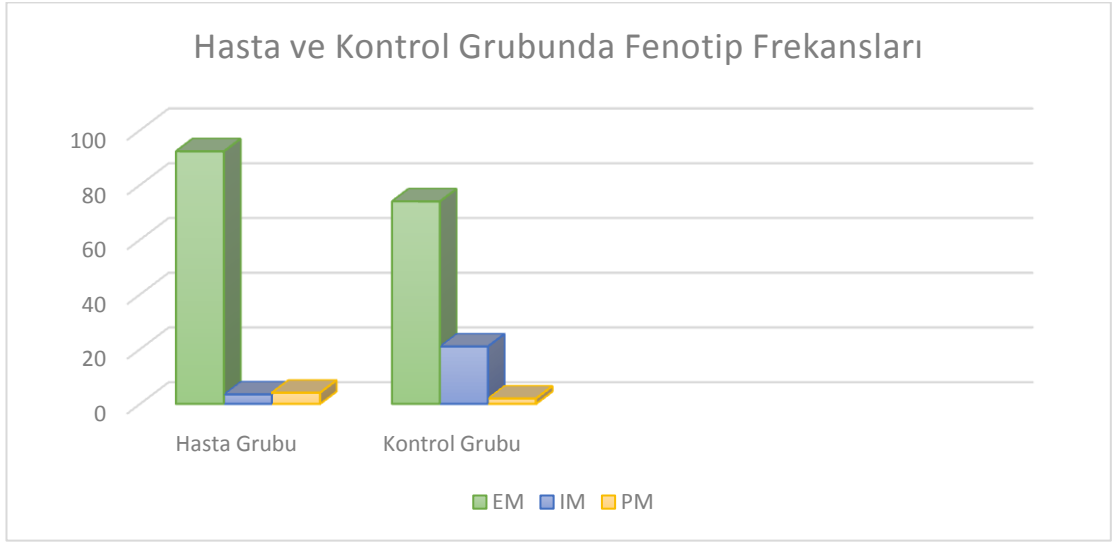
(10 hasta) olarak saptanmıştır. Hastaların %28'inde(28 hasta) birleşik heterozigote saptanmıştır. Bu grupta CYP2D6 *2/*2, *3/*3, *4/*4, *10/*10 genotiplerine ise rastlanmamıştır. Hasta ve kontrol gruplarında CYP2D6 enzimi genotipleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (p=0,044). Wild type olarak da adlandırılan *1/*1 genotipi hasta grubunda belirgin fazla saptanmıştır (Tablo-11).

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin fenotiplerine bakıldığında; hasta grubunda 180 (%92,30) hasta normal metabolizer, 7 hasta orta metabolizer (%3,5), 8 hasta (%4,1) zayıf metabolizer fenotipte bulunmuştur. Kontrol grubunda 74 hasta (%74) normal metabolizer , 21 hasta (%21) orta metabolizer, 5 hasta zayıf metabolizer fenotipte bulunmuştur. Fenotipler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,0001). Hasta grupta normal metabolizer fenotip daha fazla, sağlıklı grupta orta metabolizer grup daha fazla gözlenmiştir (Tablo-11).

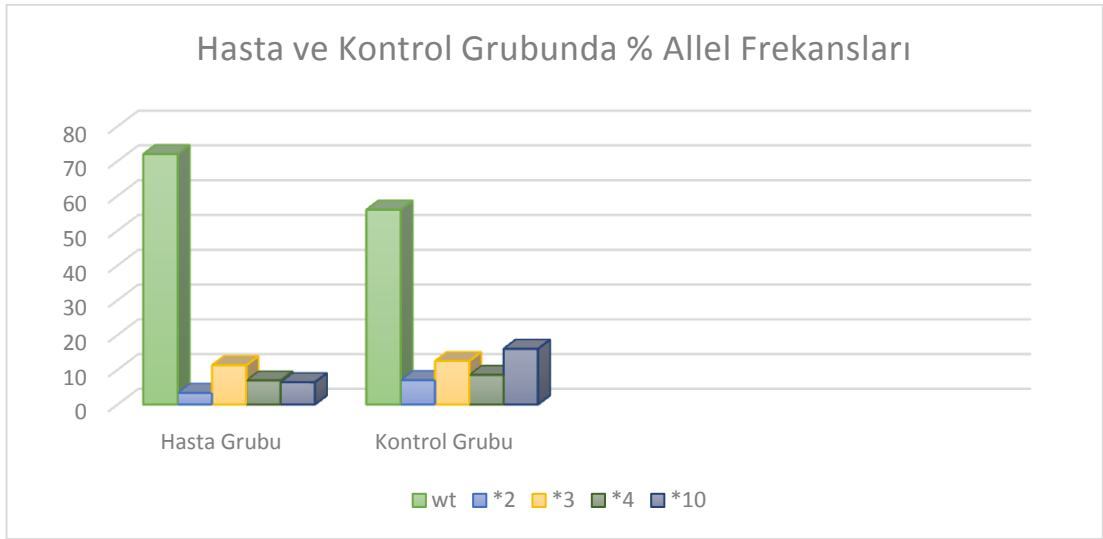
Tablo-11 Hasta ve Kontrol Grubunda Genotip ve Fenotip Frekansları

		Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	Tüm Populasyon n (%)
GENOTİPLER	*1/*1	133 (68,20)	45(45)	178 (60,33)
	Compound Heterozigot	23 (11,79)	28 (28)	51 (17,28)
	*3/*3	2 (1,02)	0 (0)	2 (0,67)
	*1/*2	3 (1,53)	9 (9)	12 (4,06)
	*1/*3	7 (3,58)	3 (3)	10 (3,38)
	*1/*4	13 (6,66)	5 (5)	18 (6,10)
	*1/*10	14 (7,22)	10 (10)	20 (6,78)
p Değeri		0,044		
FENOTİPLER	Normal	180 (92,30)	74 (74)	254 (86,10)
	Orta	7 (3,5)	21(21)	28 (9,49)
	Zayıf	8 (4,1)	5 (5)	13 (4,41)
p Değeri		0,0001		

P değerleri Fisher Exact testten elde edilmiştir.



Şekil 14 : Hasta ve kontrol grubunda fenotip frekansları



Şekil 15 : Hasta ve kontrol grubunda allel frekansları

Hastaların sahip olduğu kanser türü ve cyp2d6 fenotipleri incelendiğinde zayıf metabolizer olan 7 hastanın 4'ünün akciğer kanseri hastası olduğu görülmüştür. ayrıca 2 zayıf metabolizer hastanın da mide veya özefagus kanseri tanısının olduğu görülmüştür. bir hastada ise kolon kanseri tanısı mevcuttur. kanser türleri ve fenotipler arasında istatistiksel açıdan bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,061$) (tablo-12).

Tablo-12 Kanser Türleri ve Fenotipler

	Nomal Metabolizer	Orta Derece Metabolizer	Zayıf Metabolizer	p
Akciğer CA	75	0	4	0,061
Kolon CA	18	1	1	
Over-Uterus-Servix-Endometrium-Vulva CA	15	1	1	
Meme CA	13	0	0	
Mide-Özefagus CA	12	1	2	
Pankreas CA	12	0	0	
Prostat CA	7	1	0	
Mesane ca	6	0	0	
Larynx-Nazofarynx CA	6	0	0	
GBM+Diğer Beyin TM	4	0	0	
RCC	3	1	0	
HCC+Kolanjiosellüler CA	3	0	0	
Osteosarkom+Sinovyal Sarkom	2	0	0	
Omentum CA	1	0	0	
Primeri Belirsiz	1	1	0	
Tiroid CA	1	1	0	
Malign Melanom	1	0	0	

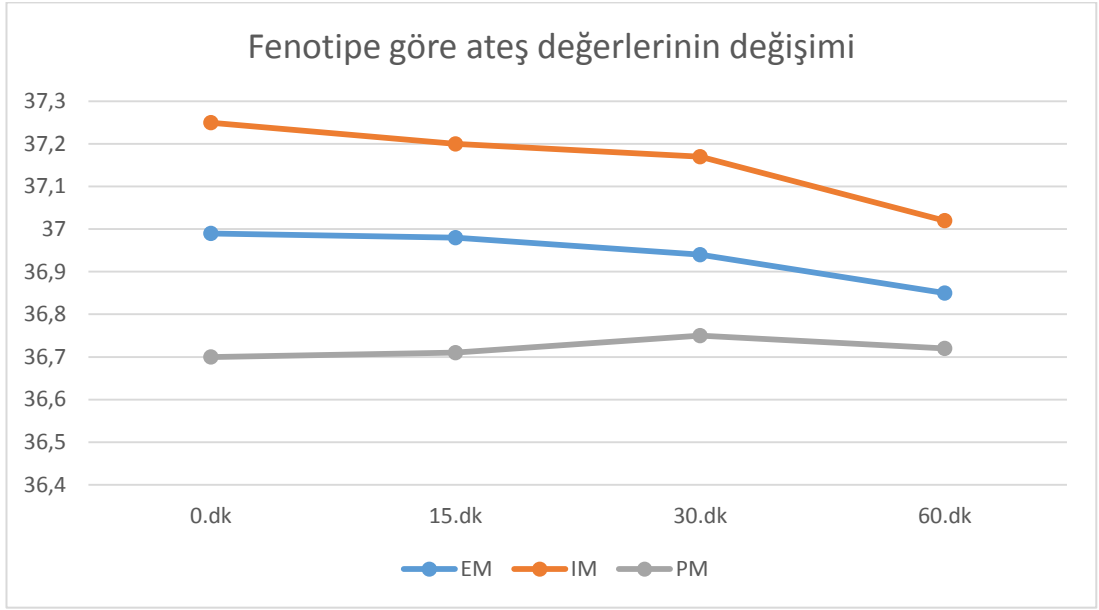
p değeri Fisher Exact Testten elde edilmiştir

Hastaların fenotipleri ve vital bulgularının değişimi birlikte incelendiğinde 0-15-30-60. Dakikalardaki ateş, nabız, sistolik kan basıncı, ve diyastolik kan basıncındaki değişimler normal metabolizer, orta metabolizer ve zayıf metabolizer gruplar arasında istatistiksel farklılık arz etmemektedir (tüm ölçümlerde p değeri<0,05). Sistolik ve diyastolik kan basınçlarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da zayıf metabolizer grupta 0-60. dakikalar arasında diğer gruplara göre daha fazla düşüş olması dikkat çekicidir. Solunum sayısında 60. dakikada gruplar arasında istatistiksel farklılık mevcuttur (p=0,027) (Tablo-13).

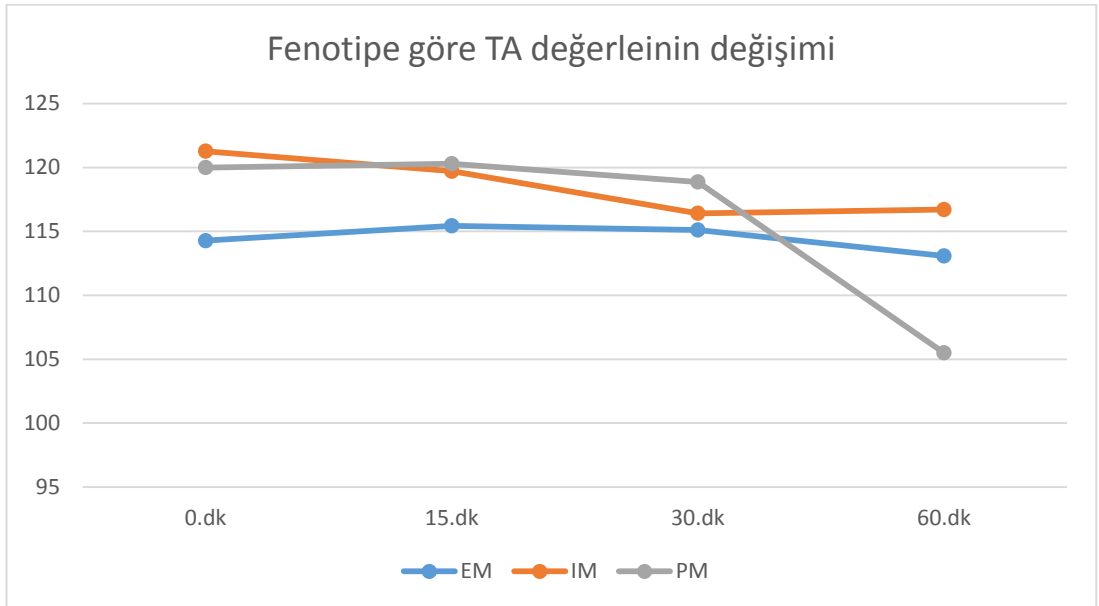
Tablo-13 Fenotiplere göre Vitallerin 0-60. Dakikalardaki Değişimi

		Başlangıç	15.Dakika	30.Dakika	60.Dakika
Ateş	Normal	36,99 ± 0,94	36,98± 0,80	36,94±0,76	36,85±0,64
	Orta Derece Metabolizer	37,25 ± 1,25	37,20 ±1,20	37,17±1,13	37,02±0,89
	Zayıf Metabolizer	36,70± 0,35	36,71± 0,37	36,75±0,42	36,72±0,39
p		0,839	0,808	0,917	0,911
Nabız	Normal	96,98 ±20,25	96,75±19,41	96,87±18,42	93,60±15,06
	Orta Derece Metabolizer	91,14±17,57	93,85±17,40	94,57±17,23	90,85±12,04
	Zayıf Metabolizer	102,62±13,88	103,5±12,86	102,75±12,69	95,37±10,04
p		0,408	0,488	0,581	0,754
SKB	Normal	114,27±17,81	115,44±16,39	115,11±15,55	113,08±12,33
	Orta Derece Metabolizer	121,28±16,10	119,71±16,35	116,42±15,70	116,71±13,96
	Zayıf Metabolizer	120,0±18,34	120,37±16,79	119,87±16,83	115,50±11,31
p		0,291	0,490	0,755	0,507
DKB	Normal	72,10±13,27	73,44±12,80	74,22±11,56	72,64±9,78
	Orta Derece Metabolizer	70,28±13,91	70,85±13,10	71,00±12,52	69,71±9,69
	Zayıf Metabolizer	77,87±13,39	78,62±12,17	78,12±12,38	73,87±8,55
p		0,456	0,428	0,519	0,724
SOL. SAY.	Normal	18,29±2,80	18,10±2,81	18,08±2,75	17,63±2,41
	Orta Derece Metabolizer	16,28±0,75	16,28±0,75	16,28±0,75	15,71±0,75
	Zayıf Metabolizer	18,75±3,53	17,75±2,25	17,75±2,25	16,75±1,48
p		0,056	0,100	0,100	0,027

p Değeri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir.



Şekil 16 : Fenotipe göre ateş değerlerinin değişimi



Şekil 17: Fenotipe göre TA değerlerinin değişimi

Hastaların VAS skorlarının 0-15-30-45-60. dakikalardaki ortalaması ve sahip oldukları kanser türlerine bakıldığında 0-15-30-45 ve 60. dakikalarda VAS skor ortalamaları açısından kanser türleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla p=0,717; p=0,451; p=0,582; p=0,774; p=0,736) (Tablo-14).

Tablo-14 Kanser Türlerine Göre VAS Skorlarının Değişimi

Kanser Türü	Sayı	VAS SKORU				
		VAS- 0	VAS-15	VAS-30	VAS-45	VAS-60
Mesane CA	6	85,0±8,36	78,33±7,52	56,66±19,40	45±16,43	23,33±15,05
Larynx-Nazofarynx CA	6	90,0±12,64	71,66±17,22	51,66±28,57	34,16±28,70	25,00±32,71
Tiroid CA	2	75,0±21,21	70,0±14,14	60,0±28,28	50, 0±42,42	45,00±49,49
GBM+Diğer Beyin TM	5	84,0±15,16	76,0±23,02	63,0±32,32	49,0±35,77	47,00±36,67
HCC+Kolanjiosellüler CA	3	86,66±11,54	66,66±15,27	51,66±2,88	20,0±10,0	6,66±5,77
Primeri Belirsiz	2	90,0±14,14	90,0±14,14	80,08,28±2	35,0±21,21	25,00±35,35
Prostat CA	8	77,5±13,88	70,62±18,21	49,37±25,69	27,5±15,81	18,75±14,57
Akciğer CA	79	79,49±17,58	70,88±18,23	53,03±22,89	35,18±21,25	20,63±21,53
Mide-Özefagus CA	15	84,66±14,07	74,33±18,04	45,66±26,98	31,33±30,44	23,33±32,87
Pankreas CA	12	89,16±15,05	79,16±22,74	62,08±25,88	46,25±26,20	18,33±14,03
Over-Uterus-Servix-Endometrium-Vulva CA	16	80,0±15,05	64,37±13,52	53,43±18,23	32,18±20,65	16,25±15,96
Kolon CA	20	81,25±15,37	72,0±14,63	51,25±20,18	33,25±22,61	23,25±24,77
Meme CA	13	79,23±13,82	69,23±22,53	58,84±23,64	38,84±21,61	30,38±23,66
RCC	4	85,0±10,0	72,5±11,90	40,0±11,54	32,5±12,58	10,0±8,16
<i>p</i>		0,717	0,451	0,582	0,774	0,736

p değerleri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir.

CA=Kanser

Hastaların genotip özellikleri ve VAS skorunun değişimi incelendiğinde; başlangıçta VAS skorları açısından genotipler arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır (p=0,257). CYP2D6 *3/*3 genotipine sahip olan hastaların VAS skorları 0-15-30-60. dakikalarda diğer genotiplere sahip olan hastaların VAS

skorlarına göre daha yüksek saptanmıştır.0-60. dakikalar arasında VAS skor değişimi CYP2D6 *1/*1 genotipine sahip olan hastalarda 67,06±18,58; CYP2D6 *1/*2 genotipine sahip olan hastalarda 88,33±12,58; CYP2D6 *1/*3 genotipine sahip olan hastalarda 88,57±19,51; CYP2D6 *1/*4 genotipine sahip olan hastalarda 80,0±16,32; CYP2D6 *1/*10 genotipine sahip olan hastalarda 85,0±12,86; Compound heterozigot hastalarda 26,52±19,39; CYP2D6 *3/*3 genotipine sahip olan hastalarda ise 25,0±7,07 birim olmuştur. Genotipler arasında VAS skoru ortalamaları açısından 15-30-45 ve 60. Dakikalarda istatistiksel fark mevcuttur (p değerleri tüm ölçüm sürelerinde p=0,0001). Başlangıç ve 60. dakikalar arasındaki VAS skoru değişimi açısından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (p=0,0001) (Tablo-15).

Tablo-15 Genotiplere Göre VAS Skor Değişimi

GENOTİP	VAS SKORU					
	VAS- 0	VAS-15	VAS-30	VAS-45	VAS-60	VAS Değişimi
1/1	79,84±16,13	68,38±17,52	46,39±19,99	27,74±18,91	12,78±13,41	67,06±18,58
Compound Heterozigot	86,08±11,17	83,47±12,65	76,30±16,52	65,21±17,74	59,56±20,50	26,52±19,39
3/3	95,0±7,07	95,0±7,07	90,0±14,14	70,0±14,14	70,0±14,14	25,0±7,07
1/2	88,33±12,58	78,33±20,20	76,66±23,09	53,33±14,43	41,66±24,66	46,67±12,58
1/3	88,57±19,51	80,71±15,39	69,28±20,08	43,57±14,35	27,85±11,49	60,72±19,51
1/4	80,0±16,32	69,61±20,66	58,84±23,28	46,92±22,87	36,15±28,44	43,85±16,32
1/10	85,0±12,86	77,85±14,10	59,28±24,24	36,78±14,08	19,28±15,42	65,72±12,86
p	0,257	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	p ¹ = 0,0001

p değerleri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir.

P¹ değeri ise Mann Whitney U testinden elde edilmiştir.

Hastaların fenotipleri ve VAS skorlarının değişimleri incelendiğinde; başlangıçta normal metabolizer hastaların VAS skor ortalaması 81,08 ± 15,84 , orta derecede metabolizer hastaların VAS skor ortalaması 87,14 ± 11,12 zayıf

metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $87,50 \pm 10,35$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır ($p=0,401$).

15. dakikada normal metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $70,72 \pm 17,68$, orta derecede metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $81,42 \pm 15,73$ zayıf metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $87,5 \pm 10,35$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmıştır ($p=0,009$).

30. dakikada normal metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $51,41 \pm 22,28$; orta derecede metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $72,85 \pm 19,76$; zayıf metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $81,25 \pm 13,82$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmıştır ($p=0,001$).

45. dakikada normal metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $32,52 \pm 20,45$; orta derecede metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $65,71 \pm 17,18$ zayıf metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $75,62 \pm 12,93$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmıştır ($p=0,001$).

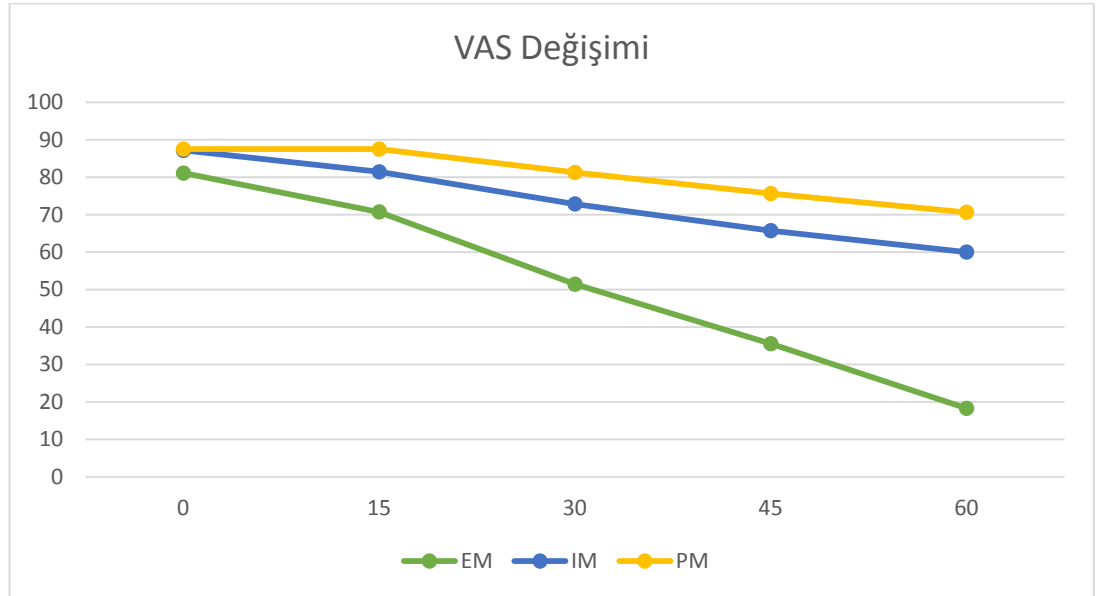
60. dakikada normal metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $18,25 \pm 15,47$; orta derecede metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $60,00 \pm 21,16$ zayıf metabolizer hastaların VAS skor ortalaması $70,62 \pm 13,21$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmıştır ($p=0,001$).

15. dakikada normal ve zayıf metabolizer grup arasında ($p=0,016$), 30. dakikada normal ve zayıf metabolizer grup arasında ($p=0,001$), 45 ve 60. dakikalarda hem normal-orta metabolizer (45. dakika $p=0,002$; 60. dakika $p=0,001$), hem de normal ve zayıf metabolizer ($p=0,0001$ ve $0,0001$) gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo- 16).

Tablo - 16 Fenotiplere göre VAS Skorlarının 0-60. Dakikalardaki Değişimi

		Başlangıç	15.Dakika	30.Dakika	45. Dakika	60.Dakika
VAS	Normal	81,08±15,84	70,72±17,68	51,41±22,28	32,52±20,45	18,25±15,47
	Orta Derece Metabolizer	87,14±11,12	81,42 ± 15,73	72,85±19,76	65,71±17,18	60,00±21,16
	Zayıf Metabolizer	87,50±10,35	87,5±10,35	81,25±13,82	75,62±12,93	70,62±13,21
p değeri	Normal-Orta	-	0,471	0,051	0,002	0,001
	Normal & Zayıf Metabolizer	-	0,016	0,001	0,0001	0,0001
	Orta& Zayıf Metabolizer	-	1	1	1	1
	Tüm Gruplar Arası	0,401	0,009	0,0001	0,0001	0,0001

p değerleri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir.



Şekil 18: Fenotiplere göre vas skorlarının 0-60. dakikalardaki değişimi

TARTIŞMA

Kanser hastalarında tedavide kullanılan ilaçlara verilen farmakolojik cevapta bireysel farklılıklara neden olan genetik varyasyonları belirlemek ve bu genetik bilgiyi kullanarak ilaç güvenliği ve etkinliği açısından, hastaların bireysel profilini önceden tahmin edilebilir kılmayı hedefleyen çalışmalar günümüzde sık yapılmaktadır (81,83). Bu bağlamda tasarlanan çalışmalar genotip – fenotip arasındaki ilişkiyi kanıtlamayı ve bireysel tedavi düzenlemesi için bilimsel kanıtlar elde etmeyi amaçlar. Bizim çalışmamızdaki amacımız onkolojik ağrı yakınmasıyla acil servise başvuran hastalarda, sitokrom P450 enzim ailesinin bir üyesi olan CYP2D6 enzimideki genetik farklılıkları ortaya koymak ve bu farklılıkların analjezik tedaviye etkisini belirlemektir.

Acil servise onkolojik ağrı yakınmasıyla başvuran 195 hastada tramadolun ağrı tedavisindeki etkinliğini karşılaştırdığımız çalışmada, her üç fenotip grubunda da görsel analog skalaya göre yaptığımız değerlendirmelere göre ağrı şiddetinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını gördük ($p < 0.001$). Her üç fenotip tedavi etkinlikleri açısından incelendiğinde defektif allele sahip zayıf metabolizer enzim aktivitesi olan bireylerde ağrı skorundaki düşüşün, diğer bireylere göre daha az olduğunu saptadık. Yaptığımız literatür araştırmalarında, onkolojik ağrı tedavisinin gen polimorfizmiyle ilişkisinin araştırıldığı çalışmaların oldukça kısıtlı olduğunu gördük. Ayrıca, özellikle yerli literatürde onkolojik CYP2d6 polimorfizminin opiyat etkinliğiyle ilişkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlamadık. Bu bakımdan çalışmamız, onkolojik ağrı tedavisinde tramadol etkinliğinin cyp2d6 gen polimorfizmi ile ilişkisinin ele alındığı ilk çalışmadır.

CYP2D6 günümüzde en iyi karakterize edilmiş polimorfik sitokrom P450 enzimidir. Karaciğerdeki toplam sitokrom P450 enzimlerinin sadece %2'sini oluşturmasına rağmen, sık kullanılan ilaçların yaklaşık % 25'inin metabolizmasından sorumludur.

CYP2D6'nın bazıları enzim aktivitesinde değişikliğe yol açtığı bilinen 100'den fazla alleli mevcuttur. Yaygın kabul gören sınıflandırma sistemine göre CYP2D6 enzim bölgesinde, iki wild tip (wild type: wt) allel için homozigote gösteren bireyler (örneğin CYP2D6 *1/*1) iyi metabolize edicilerdir (extensive metabolizers: EM). EM'ler, hiç mutasyon içermeyen veya enzim fonksiyonunu

etkilemeyecek mutasyonlara sahip olan kişilerdir. Beyaz ırkta popülasyonun %90'ını oluştururlar. Azalmış aktivite gösteren veya hiç aktivite göstermeyen bir varyant allel (varyant allel: vt) taşıyanlar orta düzey metabolize ediciler (intermediate metabolizers: IM) olarak adlandırılır. IM'ler sahip oldukları alellerin mutasyonlarına bağlı olarak, düşük aktiviteli enzim üretirler ve madde metabolize etme hızları EM'lere göre daha yavaştır. Azalmış aktivite gösteren veya hiç aktivite göstermeyen iki varyant allel için homozigot genotipe sahip bireyler ise zayıf metabolize ediciler (poor metabolizers: PM) olarak sınıflandırılırlar. Beyaz ırkın % 5-10' unu oluşturan PM'lerin ise, ortalama %95' inin CYP2D6*3, *4, *5 ve aleline sahip oldukları ve çok düşük aktiviteli yada inaktif enzim ürettikleri ifade edilmektedir. Bu fenotipe sahip kişilerde kullanılan madde veya ilacın metabolizasyonu, çok yavaş olduğundan, maddenin plazmadaki konsantrasyonu yüksek seviyededir ve toksik etkiler ile ters ilaç etkileri yaygın olarak ortaya çıkar. Anti-aritmik olarak kullanılan propafenonun plazma seviyesi PM fenotipli hastalarda normal değerinin 8-10 kat üzerine çıkabilmektedir. Bu durum PM'lerin CYP2D6 aracılığıyla propafenonu metabolize etmede yetersiz kalmalarına bağlı olarak gelişebilmekte ve kardiyojenik şok, akciğer ödemi ve ritim bozuklukları gibi ciddi bir toksisiteyle sonuçlanabilmektedir (83).

Bazı ilaçların CYP2D6 PM hastalarda toksik seviyelere ulaşabiliyor iken, bazılarının ise tedavi konsantrasyonlarına ulaşamayabileceği görülebilmektedir. Bu durum özellikle CYP2D6 enzimi ile aktif forma dönüşen ön ilaçların kullanımında görülmüştür. Örneğin; kodein CYP2D6 enzimi aracılığıyla çok daha aktif form olan morfine dönüşür. Bu nedenle PM fenotipli bireylerde ancak yüksek düzeyde kodein ile analjezik etki sağlanabilmektedir. Beyaz ırkta, Asyalılara oranla PM fenotipin sık görülmesi istenmeyen ilaç etkisinin görülebilmesi açısından daha büyük risk oluşturduğu belirtilmiştir (83,84).

Aynacıoğlu ve arkadaşlarının 1999 yılında Gaziantep Üniversitesi Farmakoloji Derpartmanın'da 404 (226 kadın 108 erkek) sağlıklı bireyde yaptığı çalışmada Türk toplumunda CYP2D6 ile yapılan çalışmalara göre; allel sıklıkları CYP2D6*1 için %37; *2 için %35; *4 için %11; *10 için %6; *5 için %1 ve *17 için %1 olarak bildirilmiştir. Ülkemizdeki normal metabolize edicilerin (EM) oranı

%66,1 , orta metabolize edicilerin (IM) oranı %23,8 , zayıf metabolize edicilerin (PM) oranı %1.49 olarak bildirilmiştir (85). Ülkemizde yapılan çalışmalarda CYP2D6*3 alelinin sıklığı %25 olarak saptanırken CYP2D6*4 allelinin sıklığı %13.4 ile %21 arasında bildirilmiştir (8). *5 (% 1.49) ve *6 (% 0,5) allelleri ise *3 ve *4 allellere oranla daha düşük sıklıkta görülmektedir (86,87).

Bu tez çalışmasında CYP2D6 geninin *2,*3,*4 ve *10 allellerinin 195 hasta ve 100 sağlıklı bireyde genotiplendirilmesi yapılarak toplumumuzdaki allel sıklıkları da belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre CYP2D6 geninin allel sıklıkları *2 için % 14, *3 için % 12,5, *4 için % 8, *10 için % 16 olarak bulunmuştur.

Meyer ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı bir çalışmada, PM fenotipine sahip kişilerin, opiyatları, aktif metabolitine çevirmede yetersiz kaldıklarından, bu kişilerin opiyat bağımlılığına karşı, koruma altında olabileceği düşüncesini savunmuşlardır (88).

Tamminga ve arkadaşlarının, 2003 yılında Hollanda'da , 241 psikiyatri hastası ile yaptığı çalışmada, hastaların % 2.5' i UM, % 8.3' ü ise PM olarak belirlenmiştir ve aynı çalışmada, PM'lerin tedavisinde kullanılan psikotrop maddeler için doz ayarlaması yapılırken dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (89).

Dong ve arkadaşlarının , 2015 yılında Çin'de yaptığı bir çalışmada elektif nefrektomi yapılan yüz yirmi hasta incelenmiştir. CYP2D6 * 10 allel, Çinli bir popülasyonda en yaygın allel olduğu için bu çalışmanın amacı, elektif nefrektomi sonrası Çin popülasyonunda farklı CYP2D6 * 10 genotiplerinin postoperatif tramadol analjezi üzerine etkisinin olup olmadığını değerlendirmektir. Hastalara intravenöz 100 mg tramadol ve 1 mg granisetron yükleme dozu aldıktan sonra 10 mg / ml tramadol içeren hasta kontrollü analjezi (PCA) verildi. Sonuçlara göre hastalar üç gruba ayrıldı (CYP2D6 * 1 / * 1, n = 33; CYP2D6 * 1 / x 10, n = 28; CYP2D6 * 10 / x 10, n = 50). Operasyon sonrası 2. 4. ve 24. saat üç genotip grubu arasında toplam tramadol tüketimi, vizüel analog skala (VAS) skoru ve PCA kontrol süreleri karşılaştırıldı. 120 hastadan dokuzu çalışma dışı bırakıldı; çalışmayı 111 hasta tamamladı. CYP2D6 * 10 alel sıklığı % 57.7 idi. 2 ve 4. saatlerde tramadol tüketimi,

pca pompalama sayıları ve VAS skoru; CYP2D6 * 10 / * 10 (PM) grubunda, CYP2D6 * 1 / * 1 (EM) veya CYP2D6 * 1 / * 10 (IM) grubundakilere göre anlamlı derecede yüksekti. EM ve IM grup arasında farklılık gözlenmedi. 2. Saat sonunda VAS değerleri EM ve IM grupta 3.7 iken, PM grupta 5,6 idi . Yine 2. saat sonunda pca pompalama sayıları IM ve EM gruplarında 0.8 iken PM grupta 1.9 bulundu. Üç grup arasında bulantı ve kusma sıklığı açısından fark yoktu (P> 0.05). Elektif nefrektomi sonrası Hun uyruklu hastalarda farklı CYP2D6 * 10 genotiplerinin hastalarda tramadolün analjezik etkisini etkilediği kanısına ulaşıldı. Bu çalışmaya göre klinik genotipleme, bir hastayı CYP2D6 zayıf metabolizör (PM) olarak tanımlarsa, mevcut tavsiye kodeinden kaçınılmasını ve PM'lerde tramadol, hidrokodon veya oksikodon dışındaki bir alternatif analjezik kullanılması önermektedir (90). Bizim çalışmamızda da onkolojik ağrı ile başvuran hastalarda 60. Dakika sonunda vas skoru PM grubunda EM ve IM grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı. 60. dakika sonunda PM grubunda vas skorundaki düşüş 16,88 iken , IM grubunda bu değer 27,11 , EM grubunda ise 62,83 olarak bulundu.

Gan SH ve arkadaşları tarafından, 2007 yılında Malezya Bilim Üniversitesinde Farmakoloji biriminde yapılan bir araştırmada, tramadolun farmakokinetik ve farmakodinamik ilişkisini kurmak için farklı genotipli Malezya hastalarında tramadolun farmakokinetiği ve etkileri karşılaştırılmıştır. Çalışmaya ortopedik implantın çıkarılması, açık redüksiyon veya kırık fiksasyonu gibi elektif operasyon geçiren 138 hasta dahil edilmiştir. Tüm hastalara ameliyat sonrası ilk analjezik olarak intravenöz tramadol 100mg dozu 5 dakikada uygulanmış. Kan 0., 30. ve 60. dakikada örneklenmiştir. Hastalar CYP2D6 * 1, * 3, * 4, * 5, * 9, * 10 ve * 17 alel için spesifik PCR vasıtasıyla genotiplendirilmiş. Ağrı Görsel Analog Ölçekler kullanılarak ölçülmüş ve yan etkiler kaydedilmiştir. Ancak bu çalışmada, deneklerin çoğunda güvenle ağrıyı ölçmede başarılı olamamış ve bu nedenle, hastaların yaşadığı olumsuz etkilere odaklanılmış.. Hastaların yaklaşık yarısında vahşi tip allel vardı (CYP2D6 *1), CYP2D6 *10 alleli geri kalanın çoğunu oluşturuyordu (% 40). Genotiplerin hiçbiri zayıf metabolizer saptanmadı. Hastaların %27'sinde orta metabolizer (IM) ve % 2.9'unda ultra hızlı (UM) metabolizer ; Kalan % 70, normal metabolizörler (EM) idi. UM ve EM gruplarında IM' den sırasıyla 2.6

ve 1.3 kat daha hızlı tramadolun elimine edildiği saptanmış. İlacın yarı ömrü IM, EM ve UM grupları arasında 7.1, 5.6 ve 3.8 saat bulunmuş. Ancak, tramadolün analjezik etkileri, tam terapötik etkilerini ortaya koymak için postoperatif hastalar arasında yeterince ölçülmemiş. Çeşitli genotip grupları arasında, yan etki profillerinde, IM grubu EM'den daha fazla olumsuz etki gösterdiği saptanmış (91).

Stamer ve arkadaşları tarafından 2009 yılında Kafkas Üniversitesinde yapılan bir çalışmada PM genotipinin postoperatif hastalarda tramadol analjeziye yanıtı üzerinde bir etkisi olup olmadığını araştırmıştır. Prospektif bir çalışma tasarımı kullanılmış ve abdominal cerrahiden iyileşen 300 hasta çalışmaya alınmıştır. Bireysel yükleme dozu iv 100mg tramadol uygulandıktan sonra, hastaların genotipi, gerçek zamanlı bir PCR ve hibridizasyona dayalı genotipleme yöntemi kullanılarak en yaygın PM ile ilişkili CYP2D6 mutasyonları dikkate alınarak analiz edilmiştir. EM (n = 241, %80,33) ve PM (n = 30, %10) olarak saptandı. Ağrı skorları, ve kurtarma ilacı ihtiyacı normal metabolizörler (EM) ve zayıf metabolizör (PM) arasında karşılaştırıldı. Cevap vermeyenlerin yüzdesi PM grubunda (% 46.7) EM grubuna göre (% 21.6; p = 0.005) anlamlı olarak daha yüksek bulundu. PM genotipini gösteren daha fazla sayıda hasta, en az bir vahşi tip alleli olan hastalardan daha fazla kurtarma ilacı gerektirmiştir (21,6'ya karşı% 43,3, p = 0,02). CYP2D6 için PM, postoperatif tramadol analjezisine yanıt oranını EM'den daha düşük göstermiştir. Bu nedenle, CYP2D6 genotipinin tramadol ile analjezi üzerinde etkisi olduğu aşıkardır (92). Bizim çalışmamızda da hasta grubunda EM sıklığı % 92,30, PM sıklığı %4,10 olarak bulunmuş, onkolojik ağrı analjezisine yanıt oranı, Stamer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde PM genotipinde, EM genotipinden oldukça düşük saptanmıştır.

St Sauver ve arkadaşlarının Temmuz 2013 , Haziran 2015 tarihleri arasında Amerika'da yaptığı çok merkezli bir araştırmada opioid tedavisi alan 257 hasta çalışmaya alınmış. Hastalar üç fenotip şeklinde sınıflandırılmış: zayıf, orta ila yoğun veya ultrarapid CYP2D6 metabolizörleri. Bunlardan 40'ı (% 15) PM, 146'si (% 57) EM ve 71'i (% 28) UM imiş. Zayıf ya da ultrarapid fenotipli hastaların orta ya da normal fenotipli hastalara kıyasla, ya zayıf ağrı kontrolü ya da yan etki semptomları görülme olasılığı 2.7 kat daha fazla bulunmuş. Sonuçlar , zayıf veya ultrarapid

CYP2D6 fenotipine sahip hastaların >% 30'unun, kodein, tramadol, oksikodon veya hidrokodon reçete edildikten sonra olumsuz bir sonuç alabileceğini göstermiştir. Bu ilaçlar ağrı kesici için sıklıkla reçete edilmekte ve ABD popülasyonunun ~% 39'unun bu fenotiplerden birini taşıması beklenmesinden dolayı, bu gen-ilaç etkileşimlerinin popülasyon düzeyindeki etkisinin önemli olabileceğini düşündürmüştür (93).

Tanaka ve arkadaşları tarafından Hamamatsu Üniversitesi Tıp Fakültesinde 2012 yılında yapılan çalışmada , kanser hastalarında CYP2D6 fenotipinin tramadolün plazma yerleşimi ve metabolik oranı üzerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Kanser ağrısı nedeniyle oral tramadol alan 40 Japon hasta çalışmaya alındı. Tramadol, ODT(O-desmetilat) ve NDT(N-desmetilat)'nin plazma konsantrasyonları, ilaca başladıktan sonra 4. günde doz sonrası 9 saatte veya daha sonra belirlenmiştir. Kayıtlı hastalar genetik varyantlara (* 1, * 2, * 5 ve * 10) dayanarak üç CYP2D6 fenotipinde gruplandırıldı. CYP2D6 normal metabolizör (EM), ara metabolizör (IM) ve zayıf metabolizör (PM) sayıları sırasıyla 31, 13 ve 1 olarak saptanmış. CYP2D6 EM grubundaki ODT'nin plazma konsantrasyonu, IM + PM grubundakilerden önemli ölçüde yüksekti. CYP2D6 EM grubundaki NDT'nin plazma konsantrasyonu, IM + PM grubundakilerden önemli ölçüde düşüktü. bunun sebebi tramadol NDT formuna CYP2B6 ve CYP3A4 ile metabolize edilmesi olarak değerlendirilmiş (94). Bizim çalışmamızda da onkoloji hastalarında fenotip sayıları sırasıyla EM=180, IM=7 PM:8 olarak bulunmuştur. Japon hastalardaki normal metabolizör yüzdesi bizim hastalarımızla benzer olup, zayıf metazbolizer yüzdesi daha düşüktür.

Seripa ve arkadaşlarının 2012 yılında İtalya'da abdominal yada torasik cerrahi geçiren 90 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada CYP2D6 fenotipinin postoperatif ağrı tedavisinin sonucundaki rolünün araştırılmıştır. Post-op ağrısı olan hastalara 100 mg tramadol iv 10dk infüzyon uygulanmış olup. Ağrı (Nümerik Derecelendirme Skalası) NRS ile değerlendirilmiştir. Derecelendirme aralığı 0-30 (hafif ağrı), 40-70 (orta derecede ağrı) ve 80-100 (şiddetli ağrı) olarak belirlenmiş. Operasyon sonrası 120. dk değerler hesaplanmıştır. CYP2D6-EM fenotipine sahip hastalarda ortalama ağrı düşüşü 57,50 puan iken IM fenotipinde bu değer 37,10, PM de ise 17.0 olarak saptanmıştır. Bu çalışma, tramadol operasyon sonrası ağrı tedavisinde, CYP2D6 IM fenotipleri olan hastaların, normal CYP2D6-EM fenotipine

kıyasla, erken post-op döneminde farklı bir analjeziye sahip olduğunu ileri sürmüştür (95). Bizim çalışmamızda EM fenotipine sahip hastalarda 60. Dakikada ortalama ağrı düşüşü 62,83 puan iken IM fenotipinde bu değer 27,14 , PM fenotipinde ise sadece 16,88 puandı. Literatürdeki diğer çalışmalarda da olduğu gibi beyaz ırk fenotipindeki benzerlikler burda da göze çarpmaktaydı.

Wu ve arkadaşlarının 2014 yılında Zhengzhou Üniversite Hastanesinde gerçekleştirdiği prospektif çalışma , mide kanseri nedeniyle radikal gastrektomiden iyileşen 212 hastayı içeriyordu. Analjezi pompasını çalıştırmak için gerekli eğitim sağlandıktan sonra, hastalar hasta kontrollü (PCA) intravenöz analjezi yoluyla kendileri fentanil vermiştir. Kendi kendine uygulanan kümülatif miktarda fentanil ve buna bağlı yan etkiler, ameliyat sonrası 6, 12, 24 ve saatlerde kaydedildi. Çalışmaya alınan 212 hastadan beşi, çalışmayı tamamlayamadı. Kalan 207 hasta genotiplerine göre üç gruba ayrıldı: W / W grubu (n = 44), M / W grubu (n = 112) ve M / M grubu (n = 51). Elde edilen sonuçlar, PM grubunda kümülatif miktarda fentanil tüketiminin EM grubuna göre ameliyat sonrası 6, 12 ve 24. saatlerde anlamlı şekilde arttığını gösterdi (p <0.05). Ek olarak, PM grubundaki görsel analog skala (VAS) skoru 6. saatte 90 puandan 60'a, EM grubunda 92 puandan 31'e gerilemişti. PM grubundaki VAS skoru, IM grubundan farklı değildi (96). Bizim çalışmamızda da PM ve EM grubundaki vas skoru değişimleri benzer olup , PM grubunda 87,50 den 70,62 ye gerilerken , EM grubunda 81,08 den 18,25 e gerilemişti. Ancak Wu ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak IM grubunda ki değişim de , PM grubundan anlamlı olarak farklıydı.

Iwahashi K 2004 yılında yaptığı çalışmada; olanzapin ile tedavi gören üç şizofreni hastasının açlık kan şekerinin olanzapin ile tedavi edilmesi sırasında yükseldiğini ve bu sırada her üç hastada da kilo artışı olduğunu bildirdiği çalışmasında, hastaların CYP1A2 ve/veya CYP2D6 enzimlerinin de yavaş çalıştığını tespit etmiştir. Çalışma kandaki yüksek olanzapin seviyesinin enzim polimorfizmine bağlı olabileceğini, ancak her zaman hiperglisemiye neden olmayabileceğini bildirmektedir. Sadece olanzapin seviyesinin değil aynı zamanda hastaların orta hızlı metabolizör (IM) oluşlarının da pankreatik beta-hücre fonksiyonlarında hasara yol açabileceğini ve kan-glukoz seviyesinin bu nedenlerle bozulabileceğini vurgulamıştır (97).

Kobylecki ve arkadaşları 2009 yılında çalışmalarında, yatarak antipsikotik tedavisi görmekte olan ve verilen ilacın doza göre en yüksek kararlı durum plazma konsantrasyonuna sahip olan, CYP2D6*3, *4, *5 ve *6 allellerinin genotipleme sonucuna göre PM olan 18 hastayı seçmiştir. Buna karşılık kontrol grubu olarak ise 18 IM, 18 EM olduğu bilinen hastayı seçmiş ve 3 grubu da yaş, tanı ve yan etkilere göre karşılaştırmıştır. Tardif diskineziyi de kapsayan ekstrapiramidal yan etkilere PM grupta diğer iki gruba kıyasla anlamlı olarak daha sık rastlanmıştır. Bu da CYP2D6 enziminin aktivitesinin antipsikotik ajanlarla tedavi gören PM kişilerde yan etki görülme olasılığının yüksek olduğu gerçeğini bir kez daha açığa çıkarmıştır (98). Çalışmamızda ise 60. dakika vital değerlere bakıldığında sistolik kan basıncındaki düşüşün PM fenotipe , IM ve EM fenotipe oranla daha fazla olduğu görülmüştür.

Chiurillo ve arkadaşları 2009 yılında, Venezuela'da 110 gönüllü ile yaptıkları çalışma neticesinde CYP2D6 enziminin zayıf metabolize eden allellerinin toplam frekansını %19.5 olarak bulmuş ve bu allelerin varlığının postmortem farmakogenetik analiz açısından önemini vurgulamıştır. Bu allelere sahip olan kişilerde ilaçların terapötik aralığının daraldığı ve toksik yan etkilere eğilimli hale geldikleri gösterilmiştir (99). Çalışmamızda zayıf metabolize fenotip sıklığı hasta grubunda %8 iken , sağlıklı grupta %13 bulunmuştur.

Andreassen arkadaşlar 1997 yılında 100 şizofrenik hastada yaptığı çalışmada %18'inin *4, %0,5'inin *3 olduğunu ve 100 hastadan 5'inin CYP2D6*4/*4 olduğunu, bu hastaların diğerlerine oranla daha fazla yan etki gösterdiklerini ve bu yan etkilerin uzun dönem antipsikotik kullanımlarında kalıcı bir hal aldığını bildirmiştir Bu sonuçlar, genetik olarak bozulmuş CYP2D6 metabolizmasının, kalıcı TD'nin gelişimi için katkıda bulunan bir faktör olabileceğini göstermektedir (100).

Kawanishi ve arkadaşlarının 2004 de yaptığı çalışmada, duygu durum bozukluğu olan ve CYP2D6 genotipi belirlenen 108 hasta arasında 81 hastanın antidepresan tedaviye direnç gösterdiğini ve bunların %10'ununda gen duplikasyonu (UM) olduğunu tespit etmiştir. Tespit edilen bu sıklığın, normal popülasyonda görülen %0,8-1,0 sıklığa oranla anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur. Gen duplikasyonunun devamlı duygu durum bozukluğu gelişiminde olası bir neden olduğu kanısına varılmıştır (101).

Riccardi ve arkadaşları 2009 da 120 gönüllüde , CYP2D6 enziminin pek çok ilaç gibi pestisitleri de metabolize ettiğine ve zayıf metabolizörlerde pestisit maruziyetine bağlı olarak Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların görülebilme riskinin varlığına dikkat çekerek CYP2D6 polimorfizminin sadece bireysel tedavide değil, meslek hastalıkları alanında da önemli olduğunu vurgulamıştır (102).

Herken ve arkadaşları Şubat 1999 ile Mart 2000 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesinde 68 psikiyatri hastası ile yapılan çalışmaya göre, psikiyatrik tedavide kullanılan ve CYP2D6 ile metabolize edilen maddeler için hastaların % 1.45' i zayıf metabolizör (PM) olarak, % 10.29' u ise hızlı metabolizör(UM) olarak saptanmıştır. Bulgulara göre Türk hastalara sitokrom P450-2D6 enzimiyle metabolize edilen antipsikotik ve antidepresanlar veya bu enzimce metabolize edilen herhangi bir ilaç verildiğinde hastaların yaklaşık %10'unda etkili kan düzeyi elde edilemeyeceği ve %1-2 hastada kan düzeylerinin aşırı yükselmesine bağlı olarak şiddetli yan etki görülmesi beklenebilir. Antipsikotik ve antidepresanların kullanılmasından önce bir bireyin P450-2D6 enzim aktivitesinin tayin edilmesi etki ve yan etkilerin öngörülebilmesi bakımından yararlı olacağı kanısına varılmıştır (103).

Son yıllarda bazı hastalıklar ile CYP2D6 metabolik fenotipi veya allel sıklıkları ilişkili bulunmuştur. Bu hastalıklardan bazıları Parkinson hastalığı, Alzheimer, çeşitli kanser türleri, epilepsi, sistemik lupus eritamatozis ve Balkan nefropatisidir. PM fenotipin, Parkinson hastalığına duyarlılığa yol açarken bazı kanser türleri açısından daha düşük risk içerdikleri öne sürülmektedir (108).

Aydın ve arkadaşları 2006 yılında İstanbul üniversitesinde 249 pediyatrik ve yetişkin akut myeloblastik (AML) ve akut lenfoblastik lösemili (ALL) tanılı hasta ve 140 sağlıklı birey üzerinde yaptıkları çalışmada , CYP2D6 geninin allel sıklıklarını araştırmışlardır. CYP2D6 için PM fenotip sıklığı %5, EM fenotip sıklığı %95 bulunmuştur. Bu değerler sırasıyla kontrol grubunda için ise %4 ve %73,6 bulunmuştur. Bu sonuçlar ile EM fenotipinin lösemi riskini arttırdığı ileri sürülmüştür (104).

Biyotransformasyon enzimlerini kodlayan genlerde meydana gelen değişikliklerin hematolojik neoplazi riskini değiştirebileceğini düşünen Lemos ve arkadaşları, 1999 yılında yaptıkları çalışmada, CYP2D6'nın temel genetik polimorfizmleri ile hematolojik neoplazi riski arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. 160

hasta ve 128 kontrol üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada CYP2D6*4 genotiplendirilmiştir. Lösemi hastalarında, CYP2D6 EM genotipinin kontrollere kıyasla daha yüksek bir sıklıkta bulunduğu saptanmış (%88, %64) ve EM genotipinin lösemi riskini arttırdığı ileri sürülmüştür (105).

Pekin üniversitesi onkoloji departmanında 2006 yılında 286 meme kanser tanılı hasta 305 gönüllü kadın ile yapılan çalışmada CYP2D6 polimorfizimleri incelenmiştir. EM genotipe sahip bireyler hasta grubunda %94 iken , kontrol grubunda %75,4 olarak saptanmıştır. EM genotipi meme kanserine yatkınlık yarattı öne sürülmüştür (106). Literatürde bu üç çalışma ve benzeri çalışmalarda EM fenotipinin onkolojik ve hematolojik maligniteye yatkınlık yarattığı öngören çalışmalar mevcut olup , bizim çalışmamızda da bunu destekler nitelikteydi. Çalışmamızda hasta grubundaki EM fenotip sıklığı %92,3 iken , sağlıklı kontrol grubunda bu oran %74 te kalmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkarak EM fenotipinin onkolojik maligniteye de yatkınlık yarattığını düşünebilmekteyiz.

Laforest ve arkadaşlarının 2000 yılında Fransa ve İsviçre’de 150 hasta 100 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada, CYP2D6*3, *4, *5, *16ve CYP2D6*2Nx2 genotip sıklıkları ile akciğer kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. En sık CYP2D6*4 allele rastlanılmıştır. Vakaların %37,8’nin ve kontrollerin %20,9’unun bu defektif alleli taşıdığı tespit edilmiştir. Sigaraya bağlı kanserlere karşı bireysel duyarlılığın kısmen tütün kanserojenlerini metabolize etmek için genetik olarak belirlenmiş bir kabiliyete bağlı olduğu ileri sürülmektedir (107). Bizim çalışmamızda da bu çalışmayı destekler şekilde hasta grubunda en sık CYP2D6*4 allele rastlanmıştır.

SONUÇLAR

- Çalışmamızın sonucunda, acil servisimize onkolojik ağrı şikayeti ile başvuran hastaların tedavisinde, aynı doz ve sürede uygulanan analjezik etkinliği , bireylerin sahip olduğu genetik polimorfizme göre değiştiği saptanmıştır..
- Zayıf metabolizör aktivitesine sahip olan bireylerin analjezik ajana verdiği yanıt , normal metabolizör bireylere göre oldukça düşüktür. Bu veriler literatürde diğer çalışmalarla uyumludur (98,99).
- Çalışmamızın sonucunda hasta grubunda fenotip oranlarına baktığımızda ise normal metabolizör aktivitesine sahip bireylerin %92,3 ile çoğunluğu oluşturduğunu , bunu %3.5 ile orta seviye metabolizör , % 4,1 ile zayıf metabolizör aktivitesine sahip bireylerin izlediğini görmekteyiz.
- Aynı zamanda zayıf metabolizer aktiviteye sahip bireylerde tramadolun hipotansif etkisi daha belirgin görülmektedir. Bu literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. (96,98)
- Eğer klinik genotipleme, bir hastayı CYP2D6 zayıf metabolizör (PM) olarak tanımlarsa, zayıf metabolizer bireylerde, tramadol dışındaki bir alternatif analjezik kullanılması tercih edilebilir.
- Kişiyeye özgü tedavi protokollerinde CYP2D6 polimorfizminin belirlenmesi onkolojik ağrı tedavisinde ciddi etkinlik artışı ve yan etkilerin azaltılmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- 1-Ateş Önal; Algoloji Nobel tıp kitabevi; 2004 bölüm ; ağrı s1-(571).
- 2- Bonica JJ 1985 biology, pathophysiology and treatment of acut pain.in: lipton s,Mles j(eds) persistant pain.grime-stratton Orlando,pp1-32
- 3- Cousins MJ, Phillips GD(eds)1986 Acut pain management. Clinics in critical care medicine. churcill livingstone , edinburg
- 4- Kehlet H 1988 Modification of responses to surgery by neural blocade: clinical implications. In: Cousins MJ, Bridenbough PO(eds) neural blocade : clinical anesthesia and management of pain 2.edn. lippincott, philadelphia,pp 145-188
- 5- Urquhart E 1993 Central analgesic activity of nonsteroidal antiinflamatuar drugs in animal and human pain models. Seminors in arthritis and rheumatism 23:198-205
- 6- Dubner R, Ren K 1994. Central Mechanisms of thermal and mechanical hyperalgesia following tissue inflammation. In : Boivie J, Hansson P,Lindblom U(eds) touch, temperature, and pain in healt and disease: Mechanisms and assesments.IASP Pres, seatle,pp 267-277
- 7- G. Edward Morgan , Jr Maged S. Mikhail Michael J. Murray klinik anestezioloji Lange Ağrı tedavisi editör;prof dr.melek tulunay , prof.dr. handan cuhruk 4.baskı; s398-399
- 8- Raj PP. Ağrı: Ağrı Taksonomisi. Erdine S(ed). Alemdar ofset Nobel tıp, İstanbul;s12-19
- 9- Wilcox GL 1991 Exitatory neuromitters and pain. In: bond MR, Charlton JE, Wolf CJ(eds) proceeding of the 6. World congress on pain. Elseiver , Amsterdam,pp97-117
- 10- Payne R. Chronic pain: challenges in the assessment and management of cancer pain. J Pain Symptom Manage. 2000;19:12-5.
- 11- Hori Y, Endo K, Takahoshi T 1992 Presynaptic inhibitory action of enkephalin on excitatory transmission in superficial dorsal horn of rat spinal cord. Journal of the pshysology 450:673-685
- 12- 1-ACPA 2011 American Pain Society. Pain Control in the Primary Care Setting. Glenview, IL: American Pain Society, 2006.
- 13- Marcus AD. In: Opioids in Chronic Pain. Marcus AD, editor; Chronic Pain, Totowa, New Jersey, Humana pres Inc 2005; p269-87

- 14- Gureje O, Von Korff M, Simon GE, Gater R. Persistent Pain and Well-Being: A World Health Organization Study in Primary Care. *JAMA*1998;280: 287-51.
- 15- Harstall C, Ospina M. How Prevalent is Chronic Pain ?. *Pain Clinical Update* 2003; 11:1-4.
- 16- Breivik H, Collett B, Ventafridda V, Cohen R, Gallacher D. Survey of Chronic Pain in Europe: Prevalence, Impact on Daily Life, and Treatment. *Eur J of Pain* 2006;10:287-333.
- 17- Yaksh TL 1999 Central pharmacology of nociceptive transmission. In :Wall PD, Melzack R(eds) textbook of pain 4.edn Churchill Livingstone pp253-308
- 18- Bennett GJ, Kajander KC, Sahara Y, Iadarola MJ, Sugiimoto T 1989 Neurochemical and anatomical changes in the dorsal horn of spinal cord. Plenum, Amsterdam pp463-471
- 19- Daubell TP, Mannion RJ, Woolf CJ 1999 The dorsal horn :state-dependent sensory processing, plasticity and the generation of pain. In : wall PD, Melzack R(eds) textbook of pain 4.edn Churchill Livingstone pp165-182
- 20- Mc Mahon SB 1991 Mechanism of sympathetic pain. *British Medical Bulletin*47:584-600
- 21- McLachlan EM, Jänig W, Devar M, Michaelis M 1993 Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. *Nature*:363:543-546
- 22- Jänig W The puzzle of reflex sympathetic dystrophy: mechanisms, hypotheses, open questions. In : Jänig W, Stanton-Hicks M(eds) reflex sympathetic dystrophy a reappraisal IASP press, Seattle pp1-24;1996
- 23- Lang et al. 1996: Ben Dabba M, Targerson WS et al 1996 persistent back pain and sciatica in the United States: patient characteristics. *Journal of spinal disorders* 9(1):40-58
- 24- Ben Dabba M, Targerson WS, Long DM 1997 Personality traits, pain duration and severity, functional impairment and psychological distress in patients with persistent low back pain *Spine*72:115-125
- 25- Hayes C, Molloy AR 1997 Neuropathic pain in the perioperative period. In: Molloy AR, Power I(eds) international anesthesiology clinics. Acute and chronic pain. Lippincott-Raven, Philadelphia pp67-81
- 26- Zeynep Kayhan, Klinik anestezi 3.baskı (ağrı fizyolojisi) s924-36

- 27- Banning A, Sjogren P, Henssen H. Pain causes in 2000 patients referred to a multidisciplinary cancer pain clinic. *Pain* 45:45-48;1991
- 28- Twycross R, Harcourt, Bergi S 1996 A survey of pain in patients with advanced cancer. *Journal of the pain and symptom management* 12:273-282
- 29- Caraceri A, Portenoy RK 1999 An international survey of cancer pain characteristics and syndromes IASP Task Force on cancer pain. *International association for the study of pain. Pain*:82:263-274
- 30- Dout RL, Cleeland CS 1982 The prevalence and severity of pain in cancer 50:1913-1918
- 31- Grossman SA, Sheidler VR, Sweeden K, Mucenski J, Piatadosi S, 1991 Correlation of patient and caregiver ratings of cancer pain. *Journal of pain and symptom management* 6:53-57
- 32- Emanuel ES 1996 Pain and symptom control. Patient rights and physician responsibilities. *Hematology –oncology clinics of North America* 10:41-56
- 33- Foley KM, 1987 Pain syndromes in Patients with cancer medical clinics of North America 71:169-184
- 34- Pain in a comprehensive cancer center: more frequently due to treatment than underlying tumor (meeting abstract) proceeding annual meeting of the American Society of Clinical Oncologists 15:abstract1717
- 35- Ahles TA, Martin JB 1992 CANCER PAIN :a multidimensional perspective. *Hospice Journal* 8:25-48
- 36- Mounsell E, Brisson J, Deschenes L, 1993 Arm problems and psychological distress after surgery for breast cancer. *Canadian Journal of Surgery* 36:315-320
- 37- Rsenfeld CS, Broder LE 1984 Cisplatin-induced autonomic neuropathy. *Cancer treatment reports* 68:659-660
- 38- Zyllic Z 1997 Dealing with people who want to die. *Palliative care today* 6(3):38
- 39- Doyle D, Hanks GWC, Mac Donald N 1998 Oxford textbook of Palliative medicine, 2nd edn Oxford University Press, London
- 40- Grand S, Zeck D, Diefenback C, Rodbruck L, Lehmann KA 1996 Assessment of cancer pain: a prospective evaluation in 2266 cancer patients referred to a pain service. *Pain*:64:107-114

- 41- Prof. Dr. Gül Köknel Talu: Ağrı kliniği serisi;ağrı tedavisinin genel prensipleri editör; Prof. Dr. Gül Köknel Talu, 2010;s13
- 42- Camu F, Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic anagesics. Best practice and research clinical anesthesiology 2002; 4: 475-488
- 43- Eisenberg E, Berkey C, Carr DB, Mosteller F, Chalmers C. Efficacy and safety of nonsteroidal antiinflamatory drugs for cancer pain:a meta-analysis. J Clin Oncol 1994; 12:2756-2765
- 44- Ripamonti CI, Bandieri E, Roila F. Management of cancer pain: ESMO Clinical Practice Guidelines. Ann Oncol 2011; 22(suppl 6): 69-77
- 45- Mcquay HJ, and Moore RA. Opioid problems and morphin metabolism and excretion. İn: Dickenson AH, Besson J-M(eds) Handbook of experimental pharmacolgy, 130 pp 335-360. Berlin: Springer- Verlag
- 46- Veering B, Strichartz GR. Local Anesthetics. İn: Brown DL. Regional Anesthesia and Analgesia. Philadelphia: 1996: 188-207.
- 47- Paksoy M. Kapalı Minör Ürolojik Girişimlerde Ağrı Tedavisi İçin Lornoksikam ve Tramadol Uygulamalarının Karşılaştırılması (Uzmanlık Tezi). İstanbul: Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006.
- 48- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al: Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an atypical opioid analgesic. J Pharmacol Exp Ther 1992; 260:275-85.
- 49- Bamigbade TA, Langford RM. The clinical use of tramadol hydrochloride. Pain 1998;5:155-82.
- 50- Demirhan A. Toraks Cerrahisinde Postoperatif Uygulanan İntravenöz Tramadolün ve Tramadole Deksmetomidin İlavesinin Analjezi ve Solunum Parametreleri Üzerine Etkileri (Uzmanlık Tezi). Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi; 2008.
- 51- Beltran J, Martin-Mola E, Figueroa M, et al. Comparison of dexketoprofen trometamol and ketoprofen in the tre
- 52- Levis KS, Han NH. Tramadol: a new centrally acting analgesic. Am J Health Syst Pharm 1997;54:643-
- 53- Scott LJ, Perr CM. Tramadol. Drugs 2000;60:139-76.

- 54- Nightingale SL. Important new safety information for tramadol hydrochloride. JAMA 1996;275:1224.
- 55- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W., Çev: Menteş, G., Ersöz, B. (1993) Harper' in Biyokimyası, s 811-817, Appleton&Lange / Barış Kitabevi, istanbul.
- 56- Parkinson, A. (2001) Biotransformation of Xenobiotics, Casarett&Doull' s Toxicology The Basic Science of Poisons (Klaassen C.D. edt.) 6th, Vol 6, pp 133-224, McGraw-Hill, New York.
- 57- Sharif, Z.A. (2003) Pharmacokinetics, metabolism, and drug-drug interactions of atypical antipsychotics in special populations. Primary Care Companion. J Clin Psychiatry 5 (suppl 6) : 22–25.
- 58- Rollas, S. (1992) Biyotransformasyon Reaksiyonları, İlaçların metabolizması; s 2-9, s 53-57, Marmara Ün. Yayınları, No: 525, İstanbul.
- 59- Vural, N. (1996) Toksikoloji, s 42-77, A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73, A.Ü. Basımevi, Ankara.
- 60- Hasler, J.A., Estabrook, R., Murray, M., Pikuleva, I., Waterman, M., Capdevila, J., Holla, V., Helvig, C., Falck, J.R., Farrell, G., Kaminsky, L.S., Spivack, S.D., Boitier, E., Beaune, P. (1999) Human Cytochromes P450, Mol. Aspects. Med. 20
- 61- Nelson, D.(2003) Cytochrome P450s in Humans
- 62- Endrizzi, K., Fischer, J., Klein, K., Schwab, M., Nussler, A., Neuhaus, P., Eichelbaum, M., Zanger, U.M. (2002) Discriminative quantification of cytochrome P4502D6 and 2D7/8 pseudogene expression by TaqMan real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction, Anal. Biochem., 300: 121-131.
- 63- Zackrisson, A.L., Holmgren, P., Gladh, A.B., Ahlner, J., Lindblom, B. (2004) Fatal intoxication cases: cytochrome P450 2D6 and 2C19 genotype distributions, Eur. J. Clin. Pharmacol., 60: 547-552.
- 64- McKinnon, R.A., Evans, A.M. (2000) Cytochrome P450: Clinically relevant drug interactions. Aust J. Hosp Pharm. 30: 102-105.
- 65- Açikkol, M., Mercan, S. (2011) CYP2D6 Polymorphism of Opiate Addicts and Contributions to Forensic Sciences, Türkiye Klinikleri J. Med. Sci., 31: 1418-1424.
- 66- Bertilsson, L., (2002) Clinicalrelevance of the CYP2D6 polymorphism for the treatment of psychiatric disorders, International Congress Series, 1244: 11–20.

- 67- Zanger, U.M., Raimundo, S., Eichelbaum, M. (2004) Cytochrom P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol., 369: 23-37.
- 68- Meyer, U.A. (1994) Pharmacogenetics: the slow, the rapid, and the ultrarapid, Proc Natl Acad Sci U S A. 91 (6) : 1983-1984.
- 69- Rogers, J.F., Nafziger, A.N., Bertino, J.S. (2002) Pharmacogenetics Affects Dosing, Efficacy, and Toxicity of Cytochrome P450-Metabolised Drugs, Am. J. Med., 113: 746-750.
- 70- Marez, D., Legrand, M., Sabbagh, N., Guidice, J.M., Spire, C., Lafitte, J.J.,
- 71- Daly, A.K. (2003) Pharmacogenetics of the major polymorphic metabolizing enzymes, Fundam. Clin. Pharmacol., 17:27-41.
- 72- Sachse, C., Brockmoller, J., Bauer, S., Roots, I. (1997) Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences, Am. J. Hum. Genet., 60: 284-295.
- 73- Herken, H., Aynacıoğlu, Ş., Esgi, K., Vırit, O. (2001) Psikiyatri Hastalarında Sitokrom P450 2D6 Yavaş ve Ultra Hızlı Metabolizör Sıklıkları, Türk Psikiyatri Dergisi, 12(2): 83-88.
- 74- Ingelman-Sundberg, M., Oscarson, M., McLellan, R.A. (1999) Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment, Trends Pharmacol. Sci. 20: 342-349.
- 75- Koseler, A., Ilcol, Y.O., Ulus, I.H., (2007) Frequency of Mutated Allele CYP2D6*4 in the Turkish Population, Pharmacology 79: 203-206.
- 76- Aydın, M., Hatirnaz, O., Erensoy, N., Ozbek, U. (2005) CYP2D6 and CYP1A1 mutations in the Turkish population, Cell Biochem Funct., 23: 133-135.
- 77- Solak M, Bağcı H, Şengil AZ, Öztaş S. Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi. 1. Baskı, Ankara: Uyum Ajans, 2000.
- 78- Temizkan G, Arda N. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 2004.
- 79- Baykal Y, Özet A, Güran Ş, Özet G. P53 ve Onkogenezdeki Rolü. Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi,1996; 6(2):111-115.
- 80- Akar N. Klinik Moleküler Patoloji'ye Giriş. 2. Baskı, Antıp A.Ş. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları, 1999: 167-230.

- 81- Klepstad P, K.S., Cherny N, Hanks G, De Conno F, Research Steering Committee of the EACP, Pain and treatments in European palliative care units. A cross sectional survey from the European Association for Palliative Care Research Network. *Palliat Med* 2005;19:477–84.
- 82- Hearn J, H., Cancer pain epidemiology: a systematic review. In: Bruera ED, Portenoy RK, editors. *Cancer pain: assessment and management*. London Cambridge University Press. 2003. p. 19–23.
- 83- Lhermitte M, Allorge D, Broly F. [Xenobiotic-metabolizing polymorphic enzymes. An opportunity for individualized drug treatment]. *Bull Acad Natl Med*. 2006; 190 (1): 55-69; discussion 69-73.
- 84- Teh LK, Bertilsson L. Pharmacogenomics of CYP2D6: molecular genetics, interethnic differences and clinical importance. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2012; 27 (1): 55-67.
- 85- Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schröder T, et al.,. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clin Pharmacol Ther*. 1999 Aug;66(2):185-92.
- 86- Aydin M, Hatirnaz O, Erensoy N, Ozbek U. CYP2D6 and CYP1A1 mutations in the Turkish population. *Cell Biochem Funct*. 2005;23 (2): 133-5.
- 87- Koseler A, Ilcol YO, Ulus IH. Frequency of mutated allele CYP2D6*4 in the Turkish population. *Pharmacology*. 2007;79 (4): 203-6.,).
- 88- Meyer, U.A. (2000) Pharmacogenetics and adverse drug reactions, *Lancet*, 356: 1667-1671.
- 89- Tamminga, W.J., Wemer, J., Ooesterhuis, B., DeBoer, A. , Wranckx, S., Drenth, B.F., DeZeeuw, R.A., DeLeij, L.F., Jonkman, J.H. (2003) Polymorphic drug metabolism (CYP2D6) and utilisation of psychotropic drugs in hospitalised psychiatric patients: a retrospective study, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 59: 57-64.
- 90- Dong H, Lu SJ, Zhang R, Liu DD Effect of the CYP2D6 gene polymorphism on postoperative analgesia of tramadol in Han nationality nephrectomy patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2015 Jun;71(6):681-686. doi: 10.1007/s00228-015-1857-4. Epub 2015 May 8.

- 91- Gan SH, Ismail R, Wan Adnan WA, Zulmi W. Impact of CYP2D6 genetic polymorphism on tramadol pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Mol Diagn Ther.* 2007;11(3):171-81.
- 92- Stamer UM¹, Lehnen K, Höthker F, Bayerer B, Wolf S, Hoeft A, Stuber F. Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. 2003 Sep;105(1-2):231-8.)
- 93- St Sauver JL , Olson JE , Roger VL , Nicholson WT , Black JL 3rd , Takahashi PY CYP2D6 phenotypes are associated with adverse outcomes related to opioid medications. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2017 Jul 24;10:217-227. doi: 10.2147/PGPM.S136341. eCollection 2017.
- 94- H. Tanaka , T. Naito , H. Sato ,J. Kawakami Impact of CYP2D6 Phenotype on Tramadol Pharmacokinetics and Metabolic Pathways In Cancer Patients <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.05.112>)
- 95- Davide Seripa, BiolD, PhD, Paola Latina, MD Role of CYP2D6 Polymorphisms in the Outcome of Postoperative Pain Treatment *Pain Medicine* 2015; 16: 2012–2023
- 96- Wu SB, Cai LN, Yang XH, Fu HG, Sun K, Yuan F, Dong TL. Impact of CYP2D6 Polymorphisms on Postoperative Fentanyl Analgesia in Gastric Cancer Patients.
- 97- Iwahashi K. (2004) Olanzapine metabolism by CYP1A2/CYP2D6 and hyperglycaemia, *Acta Neuropsychiatrica*, 16: 229-230.).
- 98- Kobylecki, C.J., Jakobsen, K.D., Hansen, T., Jakobsen, I.V., Rasmussen, H.B., Werge, T. (2009) CYP2D6 genotype predicts antipsychotic side effects in schizophrenia inpatients: a retrospective matched case-control study, *Neuropsychobiology*, 59 (4) : 222-226.
- 99- Chiurillo, M.A., Grimán, P., Morán, Y., Camargo, M.E., Ramírez, J.L. (2009) Analysis of CYP2D6 gene variation in Venezuelan population: Implications for forensic toxicology, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*
- 100- Andreassen, O.A., MacEwan, T., Gulbrandsen, A.K., McCreadie, R.G., Steen, V.M. (1997) Non-functional CYP2D6 alleles and risk for neuroleptic-induced movement disorders in schizophrenic patients, *Psychopharmacology*, 131 (2) : 174-9
- 101- Kawanishi, C., Lundgren, S., Agren, H., Bertilsson, L. (2004) Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders:

ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study, *Eur J Clin Pharmacol.* 59: 803-807.

102- Riccardi, L.N., Bini, C., Ceccardi, S., Trane, R., Luiselli, D., Pelotti, S. (2009) CYP2D6 polymorphism studies: How forensic genetics helps clinical medicine, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2: 485-486.

103- Herken, H., Aynacıoğlu, Ş., Esgi, K., Vırt, O. (2001) Psikiyatri Hastalarında Sitokrom P450 2D6 Yavaş ve Ultra Hızlı Metabolizör Sıklıkları, *Türk Psikiyatri Dergisi*, 12(2): 83-88.

104- Aydın M, Hatırmaz O, Erensoy N, Özbek U. Roles of CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1, genes in the susceptibility to acute leukemias. *Am J Hematol* 2006; 8: 162-70.

105- Lemos MC, Cabrita FJ, Silva HA, Vivian M, Plácido F, Regateiro FJ. Genetic polymorphism of CYP2D6, GSTM1 and NAT2 and susceptibility to haematological neoplasias. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1225-9.

106- Feng L, Xu Y, Yao L, Ouyang T, Li J, et al. The association of CYP2D6 *10 polymorphism with breast cancer risk and clinico-pathologic characteristics in Chinese women. *Acta Oncol* 2006; 45: 597-601.

107- Laforest L. CYP2D6 gene polymorphism in Caucasian smokers: lung cancer susceptibility and phenotype–genotype relationships. *Eur J Can* 2000; 36: 1825-1832.

108- Gaedigk A, Casley WL, Tyndale RF, Sellers EM, Jurima-Romet M, Leeder JS. Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) allele frequencies in Canadian Native Indian and Inuit populations. *Can J Physiol Pharmacol.* 2001;79 (10): 841-7.