

ผลของภาวะพหุสัญญาณของยีน *ABCC2* และ *SLCO1B1* ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วย
ยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทย



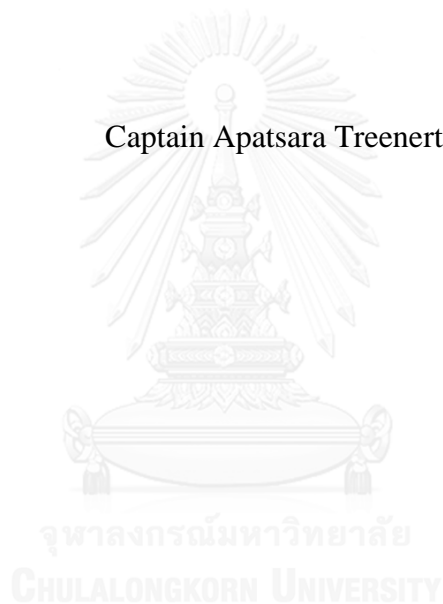
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมคลินิก ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF *ABCC2* AND *SLCO1B1* POLYMORPHISMS ON THE
TREATMENT RESPONSES OF IRINOTECAN-BASED CHEMOTHERAPY
IN THAI METASTATIC COLORECTAL CANCER PATIENTS

Captain Apatsara Treenert



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Clinical Pharmacy
Department of Pharmacy Practice
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2016
Copyright of Chulalongkorn University

อภิธรา ตรีเนตร : ผลของภาวะพหุสัณฐานของยีน *ABCC2* และ *SLCO1B1* ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทย (EFFECTS OF *ABCC2* AND *SLCO1B1* POLYMORPHISMS ON THE TREATMENT RESPONSES OF IRINOTECAN-BASED CHEMOTHERAPY IN THAI METASTATIC COLORECTAL CANCER PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ญ. ดร. ณัฐดา อารีเปี่ยม, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. นพ. สืบพงศ์ ธนสารวิมล, 121 หน้า.

อิริโนทีแคนเป็นยาหลักที่ใช้เป็นอันดับที่สองหรือสามในการรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงระยะแพร่กระจาย มีหลากหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพและความเป็นพิษของยานี้รวมทั้งเภสัชพันธุศาสตร์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของภาวะพหุสัณฐานของยีน *ABCC2* และ *SLCO1B1* ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงระยะแพร่กระจายชาวไทย โดยศึกษาแบบเก็บข้อมูลไปข้างหน้า มีผู้เข้าร่วมการวิจัย 56 ราย เป็นผู้ป่วยนอกที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงและได้รับยาเคมีบำบัดที่มีอิริโนทีแคนเป็นส่วนประกอบ พบความชุกของยีน *ABCC2* (C>T) rs717620 และ *SLCO1B1* (A>G) rs2306283 ร้อยละ 17.86 และ 76.79 ตามลำดับ ไม่พบความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐานของยีนทั้งสองต่อการตอบสนองเคมีบำบัด อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาทั้งสองยีนพร้อมกันพบว่าผู้ป่วยที่ยีน *ABCC2* มีอัลลีล T อย่างน้อย 1 ตำแหน่งและมียีน *SLCO1B1* ที่มีอัลลีล A อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง ได้รับประโยชน์จากการรักษามากกว่ากลุ่มอื่น (ร้อยละ 100 และ ร้อยละ 51.1, $P = 0.031$) ในด้านความเป็นพิษ พบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะพหุสัณฐานของยีน *SLCO1B1* แบบปกกติ (AA) จะมีอุบัติการณ์การเกิดภาวะโลหิตจาง ภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำและภาวะท้องเสียระดับรุนแรงสูงกว่าผู้ป่วยที่มีภาวะพหุสัณฐานของยีน *SLCO1B1* (AG, GG) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษานี้สรุปได้ว่า ภาวะพหุสัณฐานของยีน *ABCC2* ร่วมกับ *SLCO1B1* สัมพันธ์กับการได้รับประโยชน์จากการรักษาด้วยยาอิริโนทีแคนของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงระยะแพร่กระจายชาวไทย

ภาควิชา เภสัชกรรมปฏิบัติ

สาขาวิชา เภสัชกรรมคลินิก

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อนิติกร

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5876130633 : MAJOR CLINICAL PHARMACY

KEYWORDS: GENETIC POLYMORPHISM / IRINOTECAN / COLORECTAL
CANCER / ABCC2 / SLCO1B1

APATSARA TREENERT: EFFECTS OF *ABCC2* AND *SLCO1B1*
POLYMORPHISMS ON THE TREATMENT RESPONSES OF
IRINOTECAN-BASED CHEMOTHERAPY IN THAI METASTATIC
COLORECTAL CANCER PATIENTS. ADVISOR: NUTTHADA
AREEPIUM, Ph.D., CO-ADVISOR: SUEBPONG TANASANVIMON,
M.D., 121 pp.

Irinotecan, anticancer which is mostly used in metastatic colorectal cancer (mCRC) as a second or third line chemotherapy. Several factors affect its efficacy and toxicity, including pharmacogenomics. This study was aimed to investigate the impacts of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on treatment responses and severe toxicities of irinotecan-based chemotherapy in Thai mCRC patients. Fifty-six participants with mCRC received irinotecan-based chemotherapy were enrolled into this prospective cohort study. Analysis of *ABCC2* (C>T, rs717620) and *SLCO1B1* (A>G, rs2306283) genotypes were performed. Allele frequencies of *ABCC2* (C>T) and *SLCO1B1* (A>G) were found at 17.86% and 76.79%, respectively. Neither of them associated with treatment responses. However, patients with allele T of *ABCC2* and allele A of *SLCO1B1* were associated with higher rate of clinical benefit from chemotherapy than the other group (100 % vs. 51.1%, $P = 0.031$). For toxicities, it was found that the risk of severe anemia, severe neutropenia and severe diarrhea were observed higher in patient with homozygous wild type (AA) of *SLCO1B1* than other genotypes. This study can be concluded that combined effect of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms was associated with clinical benefit of irinotecan-based chemotherapy in Thai mCRC patients.

Department: Pharmacy Practice

Field of Study: Clinical Pharmacy

Academic Year: 2016

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express the deepest appreciation to patients who involved in my study.

Then I would like to express my sincere gratitude to my advisors, Dr. Nutthada Areepium from department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for opportunities in this academy and useful comments in this thesis. Her valuable guidance and support help me go through all problems in this study and my co-advisor, Dr.Suebpong Tanasanvimon from Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for the support to make this thesis possible.

Beside my advisors, I would like to thank the rest of my thesis committee who were involved in the validation survey for this thesis; Assistant Professor Sutathip Pichayapaiboon, Assistant Professor Chankit Puttilerpong, and Assistant Professor Suphat Subongkot. Without their passionate participation and input, this thesis could not have been successfully conducted.

My special appreciation is extended to Medical Oncology, Unit Department of Medicine for favor in this study at King Chulalongkorn Memorial Hospital. I also thank to all pharmacists, all nurses, and all members at Medical Oncology Unit, their helpful support in providing information and laboratory facilities.

Finally, I must express my very profound gratitude to my parents and to my friends for providing me with unfailing support and continuous encouragement throughout my years of study and through the process of researching and writing this thesis. This accomplishment would not have been possible without them. Thank you.

CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xii
– Chapter 1 – Introduction	1
1.1 Introduction.....	1
1.2 Rationale	2
1.3 Research Questions.....	4
1.4 Objectives	4
1.5 Hypothesis	5
1.6 Conceptual Framework.....	6
1.7 Operational Definition	7
- Chapter 2 – Literature review	9
2.1 Colorectal cancer	9
2.2 Treatment of colorectal cancer	11
2.3 Monitoring and evaluation of treatment	16
2.4 Irinotecan	16
2.5 Metabolic pathways of irinotecan.....	16
2.6 Irinotecan and <i>ABCC2</i> polymorphism.....	19
2.7 Irinotecan and <i>SLC01B1</i> polymorphism.....	21
- Chapter 3 – Patients and Methods	24
3.1 Research design	24
3.2 Scope of research.....	24
3.3 Population and sample	24
3.4 Methods	25
3.5 Buffy coat extraction	27

	Page
3.6 DNA extraction.....	27
3.7 <i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1</i> genotyping	28
3.8 Research related documents	29
3.9 Data analysis	29
3.10 Ethical consideration	30
- Chapter 4 – Results.....	31
4.1 Patients’ characteristics	31
4.2 Prevalence.....	33
4.3 Tumor response	34
4.4 Genetic polymorphisms and toxicities.....	45
4.4.1 Hematologic toxicities.....	45
4.4.2 Non-hematologic toxicities	49
- Chapter 5 – Discussion	52
PART I Prevalence of <i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1</i> polymorphisms.....	52
PART II Effect of <i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1</i> polymorphisms on treatment responses to irinotecan-based chemotherapy	53
PART III Effect of polymorphisms and toxicities of irinotecan-based chemotherapy	56
Conclusion	57
REFERENCES	59
Appendix A.....	64
Appendix B	73
Appendix C.....	81
Appendix D.....	83
Appendix E	85
Appendix F.....	88
Appendix G.....	99
Appendix H.....	106
Appendix I	112

	Page
Appendix J	117
VITA	121



LIST OF TABLES

Table 1 Definition of treatment response by Response Evaluation Criteria in Solid tumors (RECIST) criteria version 1.....	7
Table 2 Colon cancer stages	11
Table 3 Drug combinations used to treat colon cancer.....	14
Table 4 Data analysis	29
Table 5 Patients' characteristics.....	31
Table 6 Genotype frequency.....	33
Table 7 Allele frequency.....	34
Table 8 Tumor response.....	35
Table 9 Association between factor and overall response	35
Table 10 Association between chemotherapy regimens and irinotecan dose with overall response	37
Table 11 Association between factor and overall response	38
Table 12 Association between genetic polymorphisms and overall responses	39
Table 13 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit	40
Table 14 Association between genetic polymorphisms and overall response in patient who received IFL regimen	41
Table 15 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in patients received IFL regimen	41
Table 16 Association between genetic polymorphisms and overall response in patient who received IFL regimen at irinotecan dose levels equal 150 mg/m ²	42
Table 17 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in patients received IFL regimen plus irinotecan dose levels equal 150 mg/m ²	42
Table 18 Association between genetic polymorphisms and overall response in combined genotype (<i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1*1b</i>)	43
Table 19 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in combined genotype (<i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1*1b</i>)	43
Table 20 Association between genetic polymorphisms and overall response in combined genotype in IFL regimen (<i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1*1b</i>).....	44

Table 21 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in combined genotype in IFL regimen (<i>ABCC2</i> and <i>SLCO1B1*1b</i>).....	44
Table 22 Overall toxicities.....	45
Table 23 Association between genetic polymorphisms and anemia	46
Table 24 Association between genetic polymorphisms and neutropenia	47
Table 25 Association between genetic polymorphisms and thrombocytopenia	48
Table 26 Association between genetic polymorphisms and diarrhea.....	49
Table 27 Association between genetic polymorphisms and neutropenia in subgroup analysis of IFL regimen	51



LIST OF FIGURES

Figure 1 Conceptual framework	6
Figure 2 Irinotecan (CPT-11) metabolism and transport pathway .	19
Figure 3 Schematic showing localization of ABC and SLC transporters involved in pharmacokinetics .	20
Figure 4 Procedure of methodology	26



– Chapter 1 –

Introduction

1.1 Introduction

Colorectal cancer (CRC) is one of the most prevalent and deadly tumor types with the mortality rates continuing to rise worldwide. World Health Organization reported CRC incidence approximately 1.36 million new cases and 0.69 million deaths in 2012.(1) In Thailand, the crude rate of CRC was 9 per 100,000 in men and 7 per 100,000 in women. Half of the patients presented with advanced stage (28.9% with TNM stage 3 and 38.8% TNM stage 4, respectively). Nearly 90% of patients in early diagnosed and optimized therapy will survive 5 years while overall survival rate of metastatic colorectal cancer (mCRC) patients is only 5%.(2)

Chemotherapy is the main treatment option in mCRC.(3) The backbone of the palliative treatment of mCRC is currently formed by the combination of the classic chemotherapy based on the fluoropyrimidin derivative (5-fluorouracil) with folinic acid and irinotecan or oxaliplatin in combination with monoclonal antibody directed against vascular endothelial factor such as bevacizumab or epidermal growth factor receptor such as cetuximab or panitumumab. Anticancer drug, irinotecan, topoisomerase-I inhibitor is approved for the mCRC treatment in combination with 5-fluorouracil and folinic acid in the first line treatment setting or as monotherapy in the second line setting. Overall response rate of irinotecan-based regimens was around 30-50%.(4, 5) While severe adverse events such as diarrhea (20%) and neutropenia (34%) lead to dose reduction, early stop treatment or death.(6)

The severity of these adverse events was related to high concentration of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38), irinotecan's active metabolite. There occurrence were the rationale of many studies conducting to explain factors to predict adverse events of irinotecan. One of very well-known factor was genetic polymorphisms of Uridine 5'-diphosphate-glucuronosyltransferase (UDP-glucuronosyltransferase or UGT), phase II drug metabolizing enzyme involved in SN-38 detoxification which found associated with difference toxicity rate from

irinotecan-based regimen. Higher incidence in severe neutropenia was found in patients with homozygous *UGT1A1**28 similar to *UGT1A1**6 which more common among Asians.

In addition to *UGT1A* polymorphisms, other genes play different role in the irinotecan metabolic pathway. *ABCC2* and *SLCO1B1* are the genes those control activities of SN-38 cellular efflux and influx. Some studies revealed that *ABCC2* polymorphisms also affected on area under the curve (AUC) between SN-38 plasma level and time.(7) While *SLCO1B1* polymorphism was involved with reduced hematologic toxicity.(8, 9)

In Asian, prevalence of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms were reported as 0.205 and 0.64, respectively.(10) Genetic polymorphisms are different among ethnics and it could be the reasons for different treatment responses from irinotecan-based regimen. It is essential to conduct the study to evaluate whether *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms had any impact on treatment responses in Thai mCRC patients who treated with irinotecan or not.

1.2 Rationale

Recent advances in knowledge about anticancer drug metabolizing enzyme polymorphisms are very important. Irinotecan is anticancer which used widely in combination chemotherapy for mCRC. Irinotecan is a prodrug which changed by carboxylesterases into its active metabolite, SN-38, then inhibits topoisomerase I activity in DNA replication. SN-38 is mainly detoxified by UGTs to form the SN-38G that is removed by the biliary tract.

Patients who receive irinotecan-based chemotherapy often have severe neutropenia and diarrhea that can affect the course of treatment and patients' quality of life. Many irinotecan-related pharmacogenomics studies have demonstrated that *UGT1A1* polymorphism are associated with irinotecan-related toxicity.(11) The consistent predictor of severe neutropenia is the *UGT1A1**28/*28 which related to reduced SN-38 glucuronidation, exposure to SN-38.(12, 13) Patients with this genotype have higher risk of toxicity because of reduced UGT1A1 function. Other UGT variants such as the *UGT1A1**6 (211G>A, rs4148323) is commonly found in East Asians while

rarely detected in Caucasians and Africans that associated with reduced UGT1A enzyme function and linked to an increased incidence of severe neutropenia.(14)

Regulatory status of irinotecan treatment based on cumulative evidences associated with UGT1A1 genotypes and risk of severe toxicities, especially neutropenia has led to the clinical use of a diagnostic kit for the *UGT1A1**28 in the US (August 2005).(15) Subsequently, the diagnostic kit of *UGT1A1**28 and *6 was implement in Japan (March 2009).(16) Although variability in irinotecan pharmacokinetic and pharmacodynamic has been partially described by UGT1A variants, the unanswered questions for non-carrier patients who experience irinotecan-induced toxicities and variation in treatment responses are still available further pharmacogenomic study.

In addition to the UGT family, many enzymes involve in irinotecan metabolism. Among those enzymes, the ATP-binding cassette (ABC) and solute-carrier(SLC) family of transporters are also the key modulator of irinotecan PK/PD effect. Irinotecan, SN-38 and SN-38G transport out of the cell into bile by members of the ABC transporter family especially *ABCC2* which also known as canalicular multispecific organic anion transporter (MRP2). While *SLCO1B1* is a major influx transporter, associated with uptake of SN-38 from the blood into the liver. Therefore, single nucleotide polymorphisms of *ABCC2* gene and *SLCO1B1* gene are suspected to influence inter-individual variability on chemotherapy responses and risk of severe toxicity.

Previous pharmacogenetic studies had demonstrated that *ABCC2* polymorphism was associated with pharmacokinetic of SN-38 may account for irinotecan related overall response rate. Almost 20% of mRNA level was reduced activity in variant *ABCC2* gene when compared with normal tissue.(17) Area under the curve (AUC) between time and concentration of SN-38 was statistically significant increase in the group with *ABCC2* polymorphism.(7) Genetic polymorphism of *ABCC2* also effect to significantly increased overall response rate and median progression-free survival (PFS) in patient with CC genotype(10) However, conflicting data in Singaporean nasopharyngeal carcinoma patients with CC genotype of *ABCC2* tended to had reduced AUC of irinotecan were reported.(18)

For *SLCO1B1**1b polymorphism, it involved with increased the function which leads to hepatic uptake of SN-38 from plasma to human hepatocytes.(19) Previous

study reported that the *SLCO1B1* polymorphism (rs2306283) was significantly increased the tumor response and presented a rapid response rate in patients with GA/AA genotype.(20) While the other study was found that patients with G/G genotype had significantly increased PFS compared with wild-type patients.(21) Two studies had reported that patients with *SLCO1B1* variant (*1b; 388A> G) was associated with an increased risk of severe gastrointestinal toxicity.(22, 23)

At present, there is no information in prevalence of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms in Thai and there was no data that explore the association between *ABCC2* and *SLCO1B1**1b polymorphisms on treatment response and risk of severe toxicity in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy. Therefore, we need to determine the prevalence of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms in Thai and investigate the impacts of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on treatment responses and risk of severe toxicity of irinotecan-based chemotherapy in Thai mCRC patients.

1.3 Research Questions

In Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy;

1. Are there any differences in treatment response rate among patients with different *ABCC2* and *SLCO1B1* genotypes?
2. Are there any differences in toxicity rate among patients with different *ABCC2* and *SLCO1B1* genotypes?

1.4 Objectives

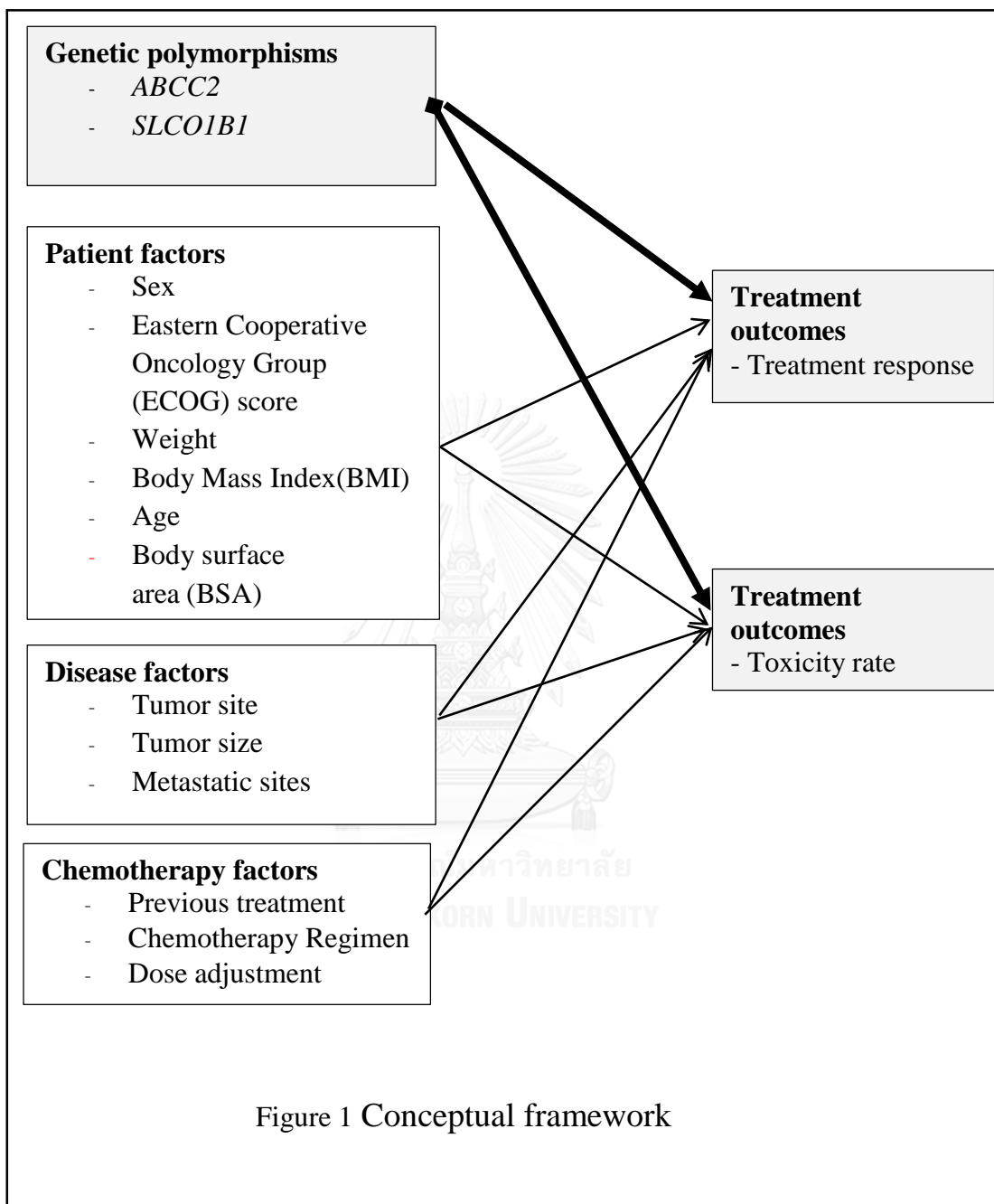
1. To investigate the impacts of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on treatment responses of irinotecan-based chemotherapy in Thai mCRC patients
2. To investigate the impacts of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on severe toxicities of irinotecan-based chemotherapy in Thai mCRC patients

1.5 Hypothesis

1. *ABCC2* polymorphism is associated with treatment response in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy
2. *ABCC2* polymorphism is associated with severe toxicities in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy
3. *SLCO1B1* polymorphism is associated with treatment response in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy
4. *SLCO1B1* polymorphism is associated with severe toxicities in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy



1.6 Conceptual Framework



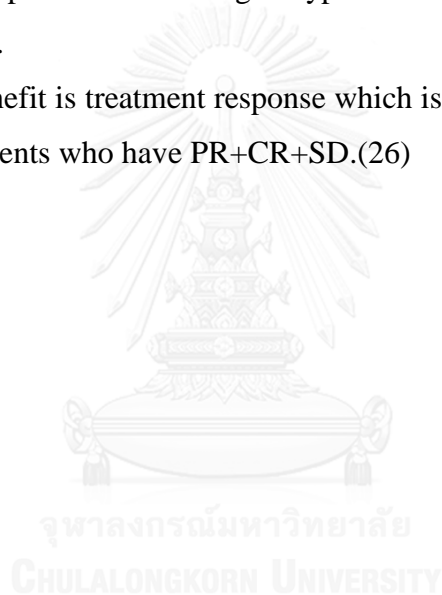
1.7 Operational Definition

1. *ABCC2* polymorphisms was founded on chromosome 10q24, the mutation of cytosine to thiamine on genomic location g.99782821 (-24C>T) rs717620.
2. *SLCO1B1* polymorphisms was founded on chromosome 12p12, the mutation of adenine to guanine on genomic location 21176804 (c.388A>G) rs2306283.
3. Treatment response was objective tumor response which was classified by Response Evaluation Criteria in Solid tumors (RECIST) criteria version 1.(24) Response of treatment was evaluated after completely at least 3 cycles by doctor. There are four categories of response as mention below

Table 1 Definition of treatment response by Response Evaluation Criteria in Solid tumors (RECIST) criteria version 1.

categories	definition
1. Complete response (CR)	Disappearance of all target lesions. Any pathological lymph nodes must have reduction in short axis to < 10 mm.
2. Partial response (PR)	At least a 30% decrease in sum of diameters of target lesions, taking as reference the baseline sum diameters.
3. Progressive disease (PD)	At least 20% increase in sum of diameters of target lesions. In addition to the relative increase of 20 percent, the sum must also demonstrate an absolute increase of at least 5 mm. The appearance of one or more new lesion is also considered progression.
4. Stable disease (SD)	Neither sufficient to qualify for Partial response or Progressive disease, compared to the sum of the smallest diameters at baseline.

4. Responder is patient who has PR+CR and the others patients have PD+SD are classified to non-responder. Response of treatment is assessed by doctor and recorded in patient profile.
5. Toxicities are adverse events caused by irinotecan-based chemotherapy occur after the first cycle of treatment chemotherapy. Adverse events assess according to Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.03 (CTCAE) at every cycle.(25)
6. Grade 3-4 toxicity was considered as severe.
7. Outcomes are treatment response of patients classified by genotypes and proportion of patients in each genotype who have severe toxicities due to chemotherapy.
8. Clinical benefit is treatment response which is classified by RECIST criteria version in patients who have PR+CR+SD.(26)



- Chapter 2 – Literature review

2.1 Colorectal cancer

Colorectal cancer (CRC) represents as one of the most prevalent and deadly tumor types with the mortality rates continuing to rise all over the world. Estimated incidence of CRC patients approximately 95,520 (colon cancer only) new cases and 50,260 (colon and rectal cancers combined) deaths in the United States in 2017.(27) In Thailand, the crude rate of colorectal cancer was 16 per 100,000. Nearly 90% of patients in early diagnosed and optimized therapy would be survived 5 years while overall survival rate of metastatic colorectal cancer (mCRC) patients was only 5%.(2)

Colorectal cancer is cancer that starts in the colon or rectum. The colon and the rectum are parts of the large intestine, which is the lower part of the body's digestive system. The colon is almost 5 feet long. Its four part are the ascending, transverse, descending, and sigmoid colon. The wall of the colon has four main layers that inner layer has contact with stool is called the mucosa. Together, the rectum and anal canal make up the last part of the large intestine and are about 6-8 inches long.

Colorectal cancer often begins as a growth called a polyp, which may form on the inner wall of the colon or rectum. Some polyps become cancer over time. Most colorectal cancers are adenocarcinomas. More than 90% of colorectal carcinomas are adenocarcinomas originating from epithelial cells of the colorectal mucosa. Other rare types of colorectal carcinomas include neuroendocrine, squamous cell, adenosquamous, spindle cell and undifferentiated carcinomas. Conventional adenocarcinoma is characterized by glandular formation, which is the basis for histologic tumor grading. In well differentiated adenocarcinoma >95% of the tumor is gland forming. Moderately differentiated adenocarcinoma shows 50-95% gland formation. Poorly differentiated adenocarcinoma is mostly solid with <50% gland formation. In practice, most colorectal adenocarcinomas (70%) are diagnosed as moderately differentiated. Well and poorly differentiated carcinomas account for 10% and 20%, respectively. (28)

Clinical symptoms are present as a change in bowel habits, blood (either bright red or very dark) in the stool, constipation, and diarrhea, or feeling that the bowel does not empty all the way, Stools that are narrower than usual, Frequent gas pains, bloating, fullness, or cramps, weight loss for no known reason, feeling very tired, vomiting.

Colon cancer often occurs for unknown reasons. Among the risk factor that increases chance of getting a disease; increasing age is the most important risk factor for most cancers. Screening for colon cancer should be a part of routine care for all adults aged 50 years and older, especially for those with first-degree relatives with colorectal cancer.

Approximately 20% of cases of colon cancer are associated with familial clustering, and first-degree relatives of patients with colorectal adenomas or invasive colorectal cancer are at increased risk for colorectal cancer. Genetic susceptibility to colorectal cancer includes well-defined inherited syndromes, such as Lynch syndrome (also known as hereditary nonpolyposis colorectal cancer) and familial adenomatous polyposis. Therefore, it is recommended that all patients with colon cancer be queried regarding their family history and considered for risk assessment, as detailed in the NCCN guidelines for colorectal cancer screening. Other risk factor that is individuals with inflammatory bowel disease (i.e. ulcerative colitis, Crohn's disease) is at an increased risk for colorectal cancer. Other possible risk factors for the development of colorectal cancer include smoking, the consumption of red and processed meats, alcohol consumption, diabetes mellitus, and low levels of physical activity, metabolic syndrome, and obesity.

Tests that examine the colon and rectum are used to find and diagnose colon cancer such as physical exam and history, digital rectal exam, fecal occult blood test (FOBT), barium enema, sigmoidoscopy, colonoscopy, and virtual colonoscopy biopsy. The following tests and procedures may be used in the staging process such as CT scan, MRI, PET scan, chest x-ray, surgery, lymph node biopsy, complete blood count (CBC), and carcinoembryonic antigen (CEA) assay.

In addition, type and stage of colorectal cancer influence how to plan for treatment decision. The staging in colon cancer is based on the TNM (tumor, node, metastases) system that NCCN refers to American Joint Committee on Cancer

(AJCC). (29) A cancer stage is a rating by doctor of the extent of the cancer. In the AJCC system edition 7th the letter T, N, and M describe the areas of cancer growth. The T score describes the growth of the primary tumor. The N score describes nearby cancer growth within the colon or lymph nodes. The M score tells if the cancer has spread to distant sites. The T, N, and M scores are combined to assign the cancer a stage.

Table 2 Colon cancer stages

Stage	Defined
Stage 0 (Carcinoma in Situ)	These cancers are also called carcinoma in situ of the colon. The cancer has not grown beyond the first layer of the colon wall. It is a noninvasive cancer. More treatment may not be needed if all the cancer was removed during an endoscopic polypectomy.
Stage I	The cancer has grown into either the second or third layer of the colon wall. There is no cancer in nearby or distant sites.
Stage II	The cancer has grown into the fourth layer of or outside the colon wall. There is no cancer in nearby or distant sites
Stage III	The cancer has spread from the colon to nearby lymph nodes or there are tumor deposits. Tumor deposits are small secondary tumors within the colon.
Stage IV	The colon cancer has spread to distant organs. Common distant sites include your liver and lungs.

2.2 Treatment of colorectal cancer

Surgery, radiation, and chemotherapy are recommended to treat patients with colorectal cancer. In terms of mCRC, chemotherapy is recommended as the first line treatment. The treatment of colorectal cancer is classified by stage of disease as mention below(27):

- Treatment of stage 0 (carcinoma in situ) may include the following types of surgery includes local excision or simple polypectomy and resection

and anastomosis. This is done when the tumor is too large to remove by local excision.

- Treatment of stage I colon cancer usually includes resection and anastomosis.
- Treatment of stage II colon cancer may include resection and anastomosis

The potential value of adjuvant chemotherapy for patients with stage II colon cancer remains controversial. Although subgroups of patients with stage II colon cancer may be at higher-than-average risk for recurrence (including those with anatomic features such as tumor adherence to adjacent structures, perforation, and complete obstruction) evidence is inconsistent that adjuvant 5-FU-based chemotherapy is associated with an improved overall survival (OS) compared with surgery alone.

Features in patients with stage II colon cancer that are associated with an increased risk of recurrence include the following:

- Inadequate lymph node sampling.
- T4 disease.
- Involvement of the visceral peritoneum.
- A poorly differentiated histology.

The decision to use adjuvant chemotherapy for patients with stage II colon cancer is complicated and requires thoughtful consideration by both patients and their physicians. Adjuvant therapy is not indicated for most patients unless they are entered into a clinical trial.

Stage III colon cancer denotes lymph node involvement. Studies indicated that the number of lymph nodes involved affects prognosis; patients with one to three involved nodes have a significantly better survival than those with four or more involved nodes. Standard treatment options for stage III colon cancer include the following: surgery and adjuvant chemotherapy. Surgery for stage III colon cancer is wide surgical resection and anastomosis. Adjuvant chemotherapy regimens after 2000, Capecitabine is an oral fluoropyrimidine that undergoes a three-step enzymatic conversion to 5-FU with the last step occurring in the tumor cell. For patients with metastatic colon cancer, the equivalence of capecitabine to 5-FU/LV. For patients with

stage III colon cancer, capecitabine provides equivalent outcome to intravenous 5-FU/LV.

For the stage IV colon cancer, approximately 50% to 60% of patient diagnosed with colorectal cancer develop colorectal metastases, and 80% to 90% of these patients have unsectable metastatic liver disease. Metastatic disease most frequently develops after treatment locoregional colorectal cancer, with the liver being the most common site of involvement. Studies of selected patients undergoing surgery to remove colorectal liver metastases have shown that cure is possible in this population. The majority of patients diagnosed with metastatic colorectal disease have unresectable disease. However, for those with liver-limited unresectable disease that because of involvement of critical structures, cannot be resected unless regression is accomplished, chemotherapy is being increasingly considered in highly selected cases in an attempt to downsize colorectal metastases and convert them to a resectable status. In patients undergoing liver or lung resection to increase the likelihood that residual microscopic disease will be eradicated. The total duration of perioperative systemic therapy should not exceed 6 months. Treatment options for stage IV and recurrent colon cancer include the following:

- Surgical resection of locally recurrent cancer.
- Surgical resection and anastomosis or bypass of obstructing or bleeding primary lesions in selected metastatic cases.
- Resection of liver metastases in selected metastatic patients (5-year cure rate for resection of solitary or combination metastases exceeds 20%) or ablation in selected patients.
- Resection of isolated pulmonary or ovarian metastases in selected patients
- Palliative radiation therapy.
- Palliative chemotherapy.
- Targeted therapy.
- Clinical trials evaluating new drugs and biological therapy.
- Clinical trials comparing various chemotherapy regimens or biological therapy, alone or in combination.

In Thailand, the National Cancer Institute recommended chemotherapy for colorectal cancer as presented in table 3.(30) This recommendation is for treatment of patient with colorectal cancer, including the following:

Table 3 Drug combinations used to treat colon cancer

Mayo regimen	<u>Bolus or infusional 5-FU/leucovorin</u> - Leucovorin 20 mg/m ² /day IV bolus, days 1-5 - 5FU 375-425 mg/ m ² /day IV bolus after Leucovorin, days 1-5 - Repeat every 4-5 weeks for 6 cycles
Capecitabine	- 2,000 mg/ m ² /day divided into 2 doses, days 1-14, followed by 7 days rest - Repeat every 3 weeks for 8 cycles - contraindication: Capecitabine in patient with Glomerular filtration rate (GFR) < 50 ml/min.
Roswell Park regimen	Leucovorin 500 mg/m ² IV weekly for 6 wk over 2 h followed by 5-FU 500 mg/m ² IV bolus weekly for 6 wk; repeat cycle every 8 wk
de Gramont (LV5FU2)	- Leucovorin 200 mg/ m ² /day IV infusion over 2 hours, days 1 and 2 - 5FU 400 mg/m ² IV bolus, then 600 mg/m ² IV over 22 hours continuous infusion, days 1 and 2 - Repeat every 2 weeks for 12 cycles
UFT/Leucovorin (every 5 weeks)	- UFT 300 mg/m ² /d PO day 1-28 (4 wks stop1 wk) - Leucovorin 90 mg/d PO day 1-28 (4 wks stop1 wk)
FOLFOX 4 / mFOLFOX6	<u>FOLFOX 4</u> - Oxaliplatin 85 mg/ m ² / day IV over 2 hour, day 1 simultaneously with - Leucovorin 200 mg/ m ² / day IV over 2 hours, days 1 and 2 - 5FU 400 mg/ m ² / day IV bolus, then 600 mg/ m ² / day IV over 22 hours continuous infusion, days 1 and 2 - Repeat every 2 weeks for 12 cycles <u>mFOLFOX6</u> - Oxaliplatin 85 mg/ m ² / day IV over 2 hour, day 1 simultaneously with - Leucovorin 400 mg/ m ² / day IV over 2 hours, day 1

	<ul style="list-style-type: none"> - 5FU 400 mg/ m²/ day IV bolus day 1, then 2,400 mg/ m² IV continuous infusion over 46 hours - Repeat every 2 weeks for 12 cycles
FLOX	<ul style="list-style-type: none"> - Oxaliplatin 85 mg/ m²/ day IV over 2 hour, day 1, 15, 29 - Leucovorin 500 mg/ m²/ day IV days 1, 8, 15, 22, 29 and 35 - 5FU 500 mg/ m²/ day days 1, 8, 15, 22, 29 and 35 - Repeat every 8 weeks for 3 cycles
Capecitabine/ Oxaliplatin (CapeOx)	<ul style="list-style-type: none"> - Capecitabine 2,000 mg/ m²/ day PO divided into 2 doses, days 1-14, followed by 7 days rest - Oxaliplatin 130 mg/m² IV infusion over 2 hour, day 1 - Repeat every 3 weeks
Capecitabine	<ul style="list-style-type: none"> - Capecitabine 2,500 mg/ m²/ day PO divided into 2 doses, days 1-14, followed by 7 days rest - Repeat every 3 weeks
FOLFIRI	<ol style="list-style-type: none"> 1. Irinotecan 180 mg/ m² IV infusion over 2 hours, day 1 - Leucovorin 200mg/ m² IV infusion over 2 hours prior to 5-FU, days 1 and 2 - 5FU 400 mg/ m² IV bolus, then 600 mg/ m² IV over 22 hours continuous infusion, days 1 and 2 - Repeat every 2 weeks 2. Irinotecan 180 mg/ m² IV infusion over 90 minutes, day 1 - Leucovorin 2 400mg/ m² IV infusion over 2-hour infusion during irinotecan, day 1 - 5-FU 400 mg/ m² IV bolus, then 2,400 mg/m² IV continuous infusion over 46 hours - Repeat every 2 weeks
Irinotecan	<ul style="list-style-type: none"> Irinotecan 100-125mg/ m² IV infusion over 90 minutes, once a week for 4 weeks - Repeat every 6 weeks
FOLFOXIRI	<ul style="list-style-type: none"> - Irinotecan 165 mg/ m² IV infusion over 60 minutes, day 1 - Oxaliplatin 85 mg/m² IV infusion over 2 hour, day 1 - Leucovorin 400 mg/m² IV infusion over 2 hours, days 1 - 5FU 3,200 mg/m² IV continuous infusion over 48 hours - Repeat every 2 weeks

5-FU = fluorouracil; AIO = Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie; bid = twice a day; IFL = irinotecan, 5-FU, and leucovorin; IV = intravenous; LV = leucovorin.

2.3 Monitoring and evaluation of treatment

In patient has lung or liver metastasis should be considered Chest x-ray or CT chest and CT abdomen every 3-6 months for 2 years and every 6-12 months until 5 years.

2.4 Irinotecan

Irinotecan (Camptosar or CPT- 11) is a semi- synthetic derivative of camptothecin, an alkaloid extract from *Camptotheca acuminata*. It is metabolized to SN- 38. Irinotecan and SN- 38 bind to topoisomerase I, preventing the enzyme from repairing the broken DNA strand as a result, the cell is unable to divide lead to cell death.

Irinotecan is mainly indicated in mCRC. It was found to be effective in other solid tumors as well such as lung, cervical, ovarian cancer, neuroendocrine tumors, and glioblastoma. As single- agent therapy, irinotecan is administered by intravenous infusion over 30-90 minutes at a dose of 350 mg/m², once every 3 weeks. It is also administered as a 90 minutes intravenous infusion at a dose of 125 mg/m², weekly for 4 weeks, repeatedly every 6 weeks. Irinotecan is also approved in combination with other chemotherapy agents, at doses usually comprised between 180 and 240 mg/m² every 2 weeks. However irinotecan treatment has been associated with severe adverse effects, mainly neutropenia and diarrhea. Together with variability in treatment outcomes of irinotecan therapy, these adverse effects represent major clinical problems.

2.5 Metabolic pathways of irinotecan

The metabolic pathway of irinotecan was shown in figure 1. In summary, irinotecan is hydrolyzed by carboxylesterases enzyme (CES) which can be divided into 2 isoforms, CES1 and CES2. These enzymes are the most commonly found in liver, blood, small intestine and tumor tissue. The active metabolite, SN- 38 which is 100 to 1,000 times more active than its substrate. Irinotecan is also undergoes oxidative

metabolism by cytochrome P450, CYP3A4/5 enzymes to form the 7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin (APC) and 7-ethyl-10-[4-amino-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin (NPC). Both of these are inactive metabolites. NPC can be further metabolized by carboxylesterases into SN-38 and increased SN-38 in blood. Although *CYP3A* polymorphisms were correlated with enzyme function, but it was thought that the influence of other confounding factors such as liver function, co-medication, or nutrition was stronger than genetic factors.

SN-38 was cleared via formation of SN-38 glucuronide (SN-38G) by Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A family of enzyme (UGT1A1, UGT1A7 and UGT1A9) isoform in human liver. SN-38 is conjugated with glucuronic acid by hepatic and extra hepatic UGTs changing SN-38 to SN-38G, inactive metabolite of irinotecan. Irinotecan and SN-38G were excreted 10-20% in urine and approximately 52-64% in bile (31-34). Therefore, the efficiency of SN-38 glucuronidation and transport relies heavily on UGT1A enzymes and drug transporter activity. Consequently, SN-38G is excreted in bile via small intestine and reabsorbed by bacterial endogenous β -glucuronidases lead into prolong its bioavailability and direct intestinal mucosa injury or late-onset diarrhea. The median onset time is 5-7 days after chemotherapy was given (35). Discover studies have reported which increased SN-38 and irinotecan exposure are associated with lower absolute neutrophil counts (ANC) and failure of intestinal cell wall lining.

Research has been overemphasized on the role of UGT1A1 in influencing the pharmacokinetics of irinotecan and the progress of toxicities, essentially neutropenia and severe diarrhea. The best of study *UGT1A* polymorphism, *UGT1A1**28 (rs8175347), founding a seven thymine-adenine (TA) repeat in the promoter region, has been associated with increased irinotecan and SN-38 exposure as well as severe irinotecan-induced toxicities in Caucasians, due to reduced glucuronidation capacity. *UGT1A1**28 shows high frequencies in Africans (35-56%) and Caucasians (26-39%) but lower frequencies in East Asians (7-16%) (16-20). Moreover, another variant

*UGT1A1**6 (211G>A, rs 4148323) is commonly found in East Asians (13-24%) but rarely detected in Caucasians and Africans(17-19,21) and associated with reduced UGT1A enzyme function. This variant shows marked inter-ethnic variability in Asian with homozygous carries displaying higher SN-38 levels than non-carries and higher risks of neutropenia. Regulatory status and current issues of irinotecan therapy based on cumulative evidence of association of *UGT1A1* genotypes with severe toxicities, especially neutropenia, after irinotecan therapy, has led to the clinical use of a diagnostic kit for the *UGT1A1**28 in the US (August 2005). Subsequently, in Japan considering the clinical use of a diagnostic kit for *UGT1A1**28 and *6 (March 2009). Furthermore, in Singapore where three Asian ethnic groups (i.e., Indians, Malays and Chinese) has recommended updating the label for irinotecan considering the increased risk for serious adverse reaction associated with patients who are carries of either *28 or *6 in 2010.

Although variability in irinotecan pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) had been partially described by *UGT1A* variants, they do not explain the reason for the subgroup of non-carrier patients who may experience irinotecan-induced toxicities. Apart from drug-metabolizing enzymes, the ATP-binding cassette (ABC) and solute-carrier (SLC) family of transporters can also modulate irinotecan PK/PD effects. The clinical significance of drug transporter genetic polymorphisms had been investigating in various ethnic groups, and these studies had also revealed distinct ethnic differences in transporter polymorphisms.

In addition, the intracellular/extracellular of irinotecan, SN-38 and SN-38G were determined by the coordinated activity of uptake carrier, solute carrier organic anion transporter family member 1B1 (SLCO1B1) and efflux carrier. ATP-binding cassette (ABC) transporter family including ABCB1, multi-drug resistance associated protein 1 (MRP1 or ABCC1), multi-drug resistance associated protein2 (MRP2 or ABCC2) and ABCG2. Irinotecan, SN-38 and SN-38G were transported out of the cell into bile by members of the ATP-binding cassette transporter family, especially ABCC2. On the other hand, SLCO1B1 is a major influx transporter. SLCO1B1 is associated with uptake

of SN-38 from the blood into the liver. For this reason, the transportation of irinotecan, SN-38 and its glucuronides across cellular membranes is highly dependent on the functionality of these transporters. In fact, the inter-individual variability displayed in patient populations could be the result of genetic polymorphisms in these transporter-coding genes.

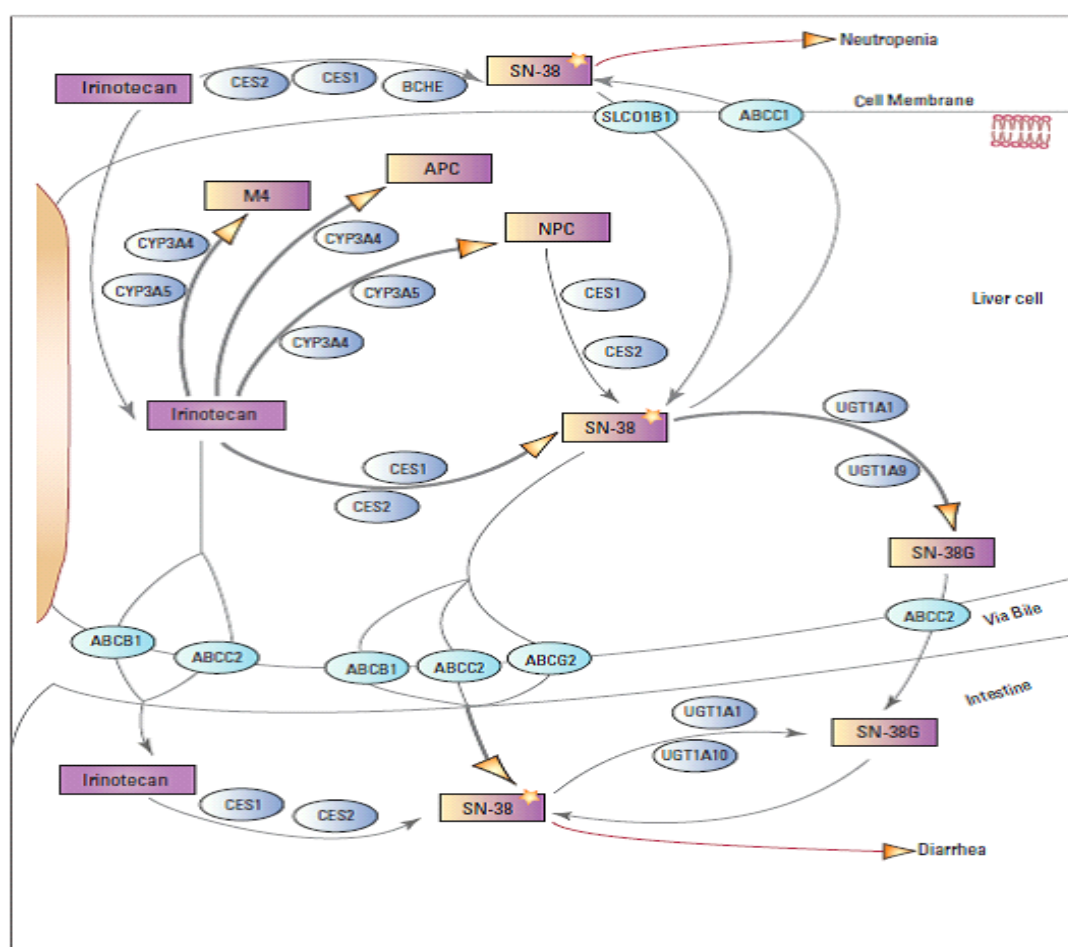


Figure 2 Irinotecan (CPT-11) metabolism and transport pathway (36).

2.6 Irinotecan and *ABCC2* polymorphism

Irinotecan, SN-38 and SN-38G are transported out of cells by *ABCB1* (multi-drug resistance protein [MDR1]; P-glycoprotein [P-gp]), *ABCC1* (multi-drug resistance protein [MRP1]), *ABCC2* (canalicular multispecific organic anion transporter [C-

MOAT]; MRP2) and *ABCG2* (breast cancer resistance protein [BCRP]), specifically ATP-binding cassette, sub-family C, number 2 (*ABCC2*)(37, 38).

ABCC2 gene is founded on chromosome 10q24, Genomic location g.99782821C>T, rs717620 and encodes a 1,545-aminoacid polypeptide, like several other transporters of the ABC superfamily. The *ABCC2* gene is the most commonly express in the canalicular membrane of the hepatocyte. Furthermore, the *ABCC2* gene is founded on the apical membrane of polarized cells in the liver, kidneys, and small intestines and endogenously in the canalicular membrane of hepatocytes.

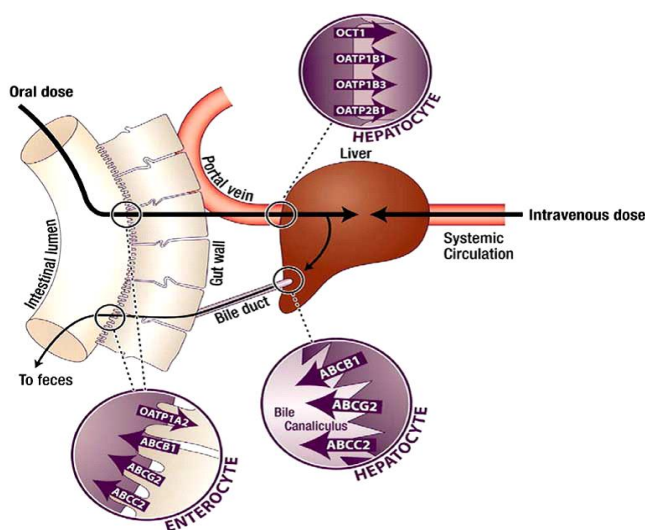


Figure 3 Schematic showing localization of ABC and SLC transporters involved in pharmacokinetics (39).

ABCC2 is responsible for the biliary excretion of carboxylate forms of irinotecan and SN-38 and the carboxylate and lactone forms of SN-38G. The *ABCC2* polymorphism decreases the transport of irinotecan into the bile leads to increased hepatic metabolism, increased transport of irinotecan into the bile by *ABCB1* or *ABCG2*, increased transport back into the circulation by *ABCC1*. Biliary excretion of irinotecan and its metabolites were first observed to be significantly lower in *ABCC2* variant rats (Chu et al., 1997a, 1997b). As one of the transporters involved in drug efflux into the bile, irinotecan pharmacokinetic may be modulated by polymorphisms in *ABCC2* gene. The *ABCC2* variants identified, the best studied polymorphism is *ABCC2*-24C>T(rs717620) and *ABCC2*-24C>T is commonly found in all ethnic groups (18-25%)(21,29-33) The study found that almost 20% of mRNA levels was reduced activity

in variant *ABCC2* gene when compared with normal tissue (17). Moreover, patients with CT or TT genotype (heterozygous and homozygous variant of *ABCC2* polymorphism) might be decreasing clearance of irinotecan and systemic of irinotecan slower than patients whom with CC genotype (wild type).

The effects of *ABCC2* polymorphism on the pharmacokinetic of irinotecan in 31 mCRC Japanese patients who were given irinotecan plus infusional 5-fluorouracil/leucovorin (FOLFIRI) found that patients with C/T genotype (heterozygous) or T/T genotype (homozygous) variant had significant increased AUC of SN-38 higher than patients with C/C genotype group ($P = 0.026$) (7). Akiyama et al. reported result from study of 61 Japanese mCRC patients who received first-line chemotherapy FOLFIRI. The allele frequency of *ABCC2* (-24C>T) was 0.344 and patients with CC genotype at -24 in *ABCC2* significantly increased overall response rate more than the CT plus TT genotype (52.5% and 23.8%), relatively. ($P = 0.0313$) odd ratio = 3.54(95% CI=1.09-11.5). Patients with CC genotype had the longest median progression-free survival (PFS) of 7.9 months, followed by patients with C/T genotype was 6.5 months and T/T genotype was 3.0 months ($P = 0.00910$). In contrast of the other study in Singaporean nasopharyngeal carcinoma patients, which study found that *ABCC2* polymorphism at -24C>T tended to had reduced AUC of irinotecan. Patients with CC genotype (wild type) was the lowest AUC of irinotecan in comparison with patients whom with C/T and T/T (18).

In term of toxicities, it was found that *ABCC2* polymorphism at -24C>T significantly reduced risk of grade 3/4 neutropenia compared with wild-type patients (odd ratio (OR) =0.22, 95% CI= 0.06-0.85). The C/T genotype significantly decreased the risk of neutropenia. However, patients with T/T genotype had significantly decreased PFS and lowered response rates (HR=0.62, 95% CI=0.40-0.95)(37).

2.7 Irinotecan and *SLC01B1* polymorphism

In human, there are more than 300 individual proteins that are organized into 47 families of SLCs. The SLC families encode membrane proteins that have been identified as passive transporters, ion coupled transporters, and exchangers. Particular focus has been applied to the organic anion transporting polypeptides (OATP) and

the gene family that encodes them, *SLCO* (previously called *SLC21*). OATPs mediate the sodium-independent transport of a wide range of amphipathic organic compounds, including steroid conjugates, anionic oligopeptides, thyroid hormones, bile salts, xenobiotic, and pharmaceuticals.

Solute carriers account for variable pharmacokinetics of irinotecan for example, *SLCO1B1* which has major role for influx transporter expressed on the basolateral membrane of human hepatocytes. *SLCO1B1*1b* gene is founded on chromosome 12, genomic location 21176804 A>G, rs2306283. Some studies found that single nucleotide polymorphism *SLCO1B1*1b* was involved with increased the function which leads to hepatic uptake of SN-38 from plasma to human hepatocytes. Therefore, polymorphisms of *SLCO1B1* genes might be important factors to explain the interpatient variability in disposition of irinotecan (19).

Some studies reported the association between *SLCO1B1* polymorphism and tumor responses. In 137 Chinese mCRC patients who were given irinotecan-based chemotherapy such as FOLFIRI or mCapeIRI (irinotecan plus capecitabine). The allele frequency of *SLCO1B1* (A>G) was 0.22. The results showed patients with GA/AA genotype of the *SLCO1B1* gene (rs2306283) significantly increased in tumor response and presented a rapid response rate (response within 12 weeks of chemotherapy) higher than whom with G/G genotype (odds ratio [OR] =3.583, 95% CI =1.301-9.871, $P = 0.011$). Furthermore, the GA/AA genotype was also an independent prognostic factor of longer progression-free survival (PFS) (hazard ratio =0.402, 95% CI = 0.171-0.945, $P = 0.037$) (20). The other study found that patients with *SLCO1B1* (388G/G) homozygous significantly increased PFS compared with whom with wild-type (HR=1.60, 95% CI=1.04-2.46) (21).

The association of irinotecan toxicities and genetic polymorphisms of *SLC* transporter had been reported. Almost 50% of patients whom with *SLCO1B1*1b* polymorphism had higher absolute neutrophil count (ANC) at nadir when compared with others (8). The other study found that patients with *SLCO1B1*1b* significantly increased the ANC nadir (9).

Similar to hematologic toxicities, *SLCO1B1* polymorphism was found to relate with GI toxicity. The reported from 26 mCRC patients who had undergone to irinotecan-based chemotherapy showed significant difference between patients whom

with G/A genotype at 388G>A) and other groups. Three out of nine patients with G/A genotype had grade ≥ 3 GI toxicity while 14 of 17 patients in other group had no GI toxicity ($P = 0.0277$). Hence, *SLCO1B1* transporter genes were associated with GI toxicity induced by irinotecan-based chemotherapy in mCRC patients. (22) In addition, data from 81 Korean with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) presented significant association between the *SLCO1B1* polymorphism and irinotecan toxicities, G/G genotype of *SLCO1B1* was associated with ≥ 3 grade GI toxicity ($P = 0.046$). (23)



- Chapter 3 – Patients and Methods

3.1 Research design

The design of this study was prospective cohort.

3.2 Scope of research

All metastatic colorectal cancer patients receive irinotecan-based chemotherapy at out-patient department, King Chulalongkorn Memorial hospital (KCMH), Bangkok, Thailand.

3.3 Population and sample

3.3.1. Target Population: all metastatic colorectal cancer patients received irinotecan-base chemotherapy at KCMH

3.3.2. Sample: all metastatic colorectal cancer patients received irinotecan-base chemotherapy at out-patient department, KCMH during January 2017 – June 2017 or 6 months after ethical approval were included in to this study and all patients signed written informed consent. The sampling technique was purposive sampling.

Inclusion criteria

Patients who were included into this study must be met all criteria as listed below

1. Had confirmed histopathology or cytology for metastatic colorectal cancer and received irinotecan-based chemotherapy
2. Older than 18 years
3. Lesions can be assessed for chemotherapy treatment response
4. Had Eastern Cooperative Oncology Group(ECOG) performance status of 0-2
5. Absolute Neutrophil Count (ANC) $>1500 /\text{mm}^3$
6. Platelet count $\geq 80,000/\text{mm}^3$
7. Serum creatinine ≤ 1.25 upper limit normal(ULN)
8. Total bilirubin ≤ 1.25 ULN

9. Alanine aminotransferase(ALT) and Aspartate aminotransferase(AST) ≤ 2.5 ULN (≤ 5 ULN with liver metastasis)
10. Signed written informed consent.

Exclusion criteria

Patients were excluded from the study if

1. Received irinotecan-based chemotherapy less than 2 cycles.
2. Were given co-medication which could interact with irinotecan such as ketoconazole, carbamazepine, phenobarbital and phenytoin during treatment chemotherapy.

Sample size and calculation

From previous study, allele frequency of *ABCC2* polymorphism reported in Japanese mCRC patients was 0.205(10). Patients with wild type had higher chance in treatment response 2.20 times compared with variants resulted in 134 cases for this study.(40)

Set: p_1 = incidence of treatment response in patients whom with *ABCC2* polymorphism = 0.238 $Z_{\beta}=0.10$, $Z_{\alpha/2}=1.96$, $Z_{\beta}=1.28$, $RR= 2.2$, $P= (p_1 (1+R))/2 = 0.380$, $1-P=0.619$

$$n/\text{group} = \frac{[Z_{\alpha/2}\sqrt{2P(1-P)} + Z_{\beta}\sqrt{p_1(1+R) - p_1(1+R)^2}]^2}{(p_1 (1-R))^2}$$

3.4 Methods

1. Patients who accomplish inclusion criteria were invited to participate the study when they arrived to outpatient department for chemotherapy or follow-up. The investigator explained benefits/risks and answered the questions until patients fully understood. Patient freely decided whether to participate or not before signing inform consent.
2. The demographic and clinical data were collected from medical records.

3. After informed consent was given, 5-10 milliliters of peripheral blood were drawn from each patient by a professional nurse and stored in EDTA tubes.
4. Genomic DNA was extracted from blood sample using QiaGen blood kit at laboratory, department of Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.
5. Variations in the *ABCC2* and *SLCO1B1* genotyping were analyzed with real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) system according to Taqman genotyping assay at laboratory, GENE PLUS Company Limited, Ratchadaphisek Rd. Huaikhwang, Huaikhwang Bangkok, Thailand.
6. Treatment responses were evaluated after at least 3 cycles according to imaging study per RECIST criteria by patients' attending physician.
7. Toxicities were assessed at every cycle by patients interviewing and laboratory results evaluation.
8. All data were performed statistical analysis by SPSS version 22.0 (SPSS. Co., Ltd., Bangkok, Thailand).

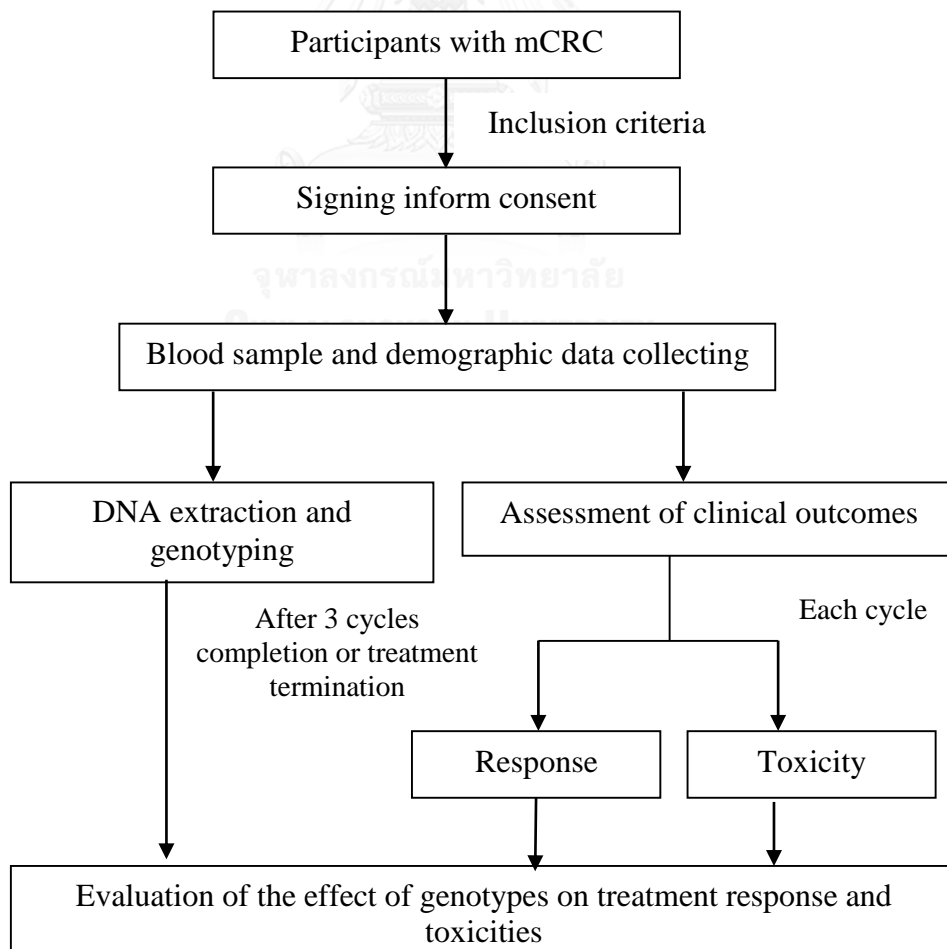


Figure 4 Procedure of methodology

3.5 Buffy coat extraction

QIAamp DNA Blood Mini Kits provided fast and easy methods for purification of total DNA for reliable PCR. Total DNA was purified from whole blood. Whole blood was drawn from patients before chemotherapy administration approximately 5-10 milliliter and collected in vacutainer tube (purple-stopper) containing EDTA.

Buffer coat is a leucocyte-enriched fraction of whole blood which is a source of DNA. Preparing a buffy coat by centrifuging whole blood at 2,500 x g for 10 minutes at room temperature (15-25°C). After centrifugation, 200 microliter of buffy coat was pipette into microcentrifuge tube size 1.5 ml and stored in freezer at -80°C until extracted DNA with the use of a QIAamp blood kit (QAIGEN GmbH, Hilden, Germany).

3.6 DNA extraction

Buffy coat was used for DNA extraction by utilizing QIAamp® DNA Blood Mini kit per following protocol;

1. Equilibrated buffy coat to room temperature
2. Pipetted 20 microliter QIAGEN protease into a 1.5 ml microcentrifuge tube containing buffy coat 200 microliter.
3. Added 200 microliter Buffy AL to tube. Mix by vortex mixer for 15 seconds.
4. Incubated at 56°C for 10 minutes
5. Added 200 microliter of 100% ethanol to sample, and mixed again by vortex mixer for seconds.
6. Carefully applied the mixture to QIAamp mini spin column (in a 2 ml collection tube) without wetting the rim. Closed the cap, and centrifuged at 6000 x g (8000 rpm) for 1 minute. Placed the QIAamp mini spin column in a 2 ml clean collection tube, and discarded the tube containing the filtrate.
7. Carefully opened the QIAamp Mini spin column and added 500 microliter buffer AW1 without wetting the rim. Closed the cap and centrifuged at full speed (20,000 x g; 14,000 rpm) for 3 min.

8. Carefully opened the QIAamp Mini spin column and added 500 microliter buffer AW2 without wetting the rim. Closed the cap and centrifuged at full speed (20,000 x g; 14,000 rpm) for 3 min.

9. Placed the QIAamp Mini spin column in a new 2 ml collection tube and discarded the old collection tube with the filtrate. Centrifuge at full speed for 1 min.

10. Placed the QIAamp Mini spin column in a clean 1.5 ml microcentrifuge tube, and discarded the collection tube containing the filtrate. Carefully opened the QIAamp Mini spin column and added 200 microliter Buffer AE. Incubated at room temperature (15-25°C) for 1 min, and then centrifuged at 6000 x g (8000 rpm) for 1 min.

After DNA extraction were done, Thermo Scientific NanoDrop 2000c spectrophotometer was use for measuring the concentration and purity of DNA samples.

3.7 *ABCC2* and *SLCO1B1* genotyping

The polymorphisms were genotyped using the 5' nuclease assay for allelic discrimination with commercially available TaqMan® genotyping assays (Applied Biosystems, USA) for amplifying and detecting specific SNP alleles in purified genomic DNA samples. The assay IDs were described as follow

1. *ABCC2* polymorphism (C>T), Assay ID: rs717620

2. *SLCO1B1* polymorphism (388A > G), Assay ID: rs2306283

ABCC2 polymorphism (C>T, rs717620) and *SLCO1B1**1b (388A > G, rs2306283) was analyzed by the polymerase chain reaction (PCR)-restriction fragment length polymorphism method. the primers and probes were commercially available(applied Biosystems Inc., Foster city, CA USA).The reaction mixture consisted of DNA template 2 µl (10 ng/1µl of genomic DNA) + nuclease-free water 7 µl + TaqMan® Universal master mix 10 µl + TaqMan® probe with primers 1µl in a final volume of 20 µl was performed by following program: An initial denaturation at 60°C for 30s then 95°C for 10 min was followed by 40 cycles of 15s at 95°C, 1 min at 60°C and 30s at 60°C. After PCR amplification, perform an endpoint plate read on a

StepOnePlus Real time PCR System (Applied Biosystem Inc., Foster City, CA USA). Using the fluorescence measurements made during the plate read, the SDS software plots R_n values based on the fluorescence signals from each well, then determines which alleles are in each sample.

3.8 Research related documents

Data collection form, Information for Attendees research and Inform consent of this study.

1. Data collection form (appendix A)
2. Information for Attendees research (appendix B)
3. Inform consent of this study (appendix C)

3.9 Data analysis

Statistic was calculated by SPSS version 22.0 data analysis. Demographic data such as sex, extent of diseases, and location of primary tumor, ECOG performance status score, and previous treatment were presented as percentage. Continuous variable such as age, tumor marker levels, baseline sum of longest diameter, and disease free survival were presented as mean \pm standard deviation (SD) or median and inter quartile range (IQR).

Table 4 Data analysis

Hypothesis	Variable	statistics
1. <i>ABCC2</i> polymorphisms is associated with response of irinotecan base chemotherapy in mCRC patients.	Independent : <i>ABCC2</i> genotypes (categorical variable) CC, CT and TT. Dependent: treatment response, Responder = PR or CR, Non-responder = PD or SD. (categorical variable)	Chi-squared test or Fisher's exact test and <i>P-values</i> < 0.05

Hypothesis	Variable	statistics
2. <i>SLCO1B1</i> polymorphisms is associated with response of irinotecan-based chemotherapy in mCRC patients.	Independent : <i>SLCO1B1</i> genotypes (categorical variable) GG, GA, and AA. Dependent: treatment response, Responder = PR or CR, Non-responder = PD or SD. (categorical variable)	Chi-squared test or Fisher's exact test and <i>P-values</i> < 0.05
3. <i>ABCC2</i> polymorphisms is associated with severe toxicities of irinotecan-based chemotherapy in mCRC patients.	Independent: <i>ABCC2</i> genotypes (categorical variable) CC, CT and TT. Dependent : toxicity rate (categorical variable)	Chi-squared test or Fisher's exact test, odd ratio and <i>P-values</i> < 0.05
4. <i>SLCO1B1</i> polymorphisms is associated with severe toxicities of irinotecan-based chemotherapy in mCRC patients.	Independent: <i>SLCO1B1</i> genotypes (categorical variable) GG, GA, and AA. Dependent : toxicity rate (categorical variable)	Chi-squared test or Fisher's exact test and <i>P-</i> <i>values</i> < 0.05

3.10 Ethical consideration

The study was reviewed and approved by ethics committee, Institutional Review Board Faculty of Medicine, Chulalongkorn University. The approval number was 699/59.

- Chapter 4 –

Results

4.1 Patients' characteristics

The study was prospective cohort study, 56 participants with mCRC received irinotecan-based chemotherapy during January to June 2017 at the oncology department, King Chulalongkorn Memorial Hospital (KCMH) were enrolled. Two participants were admitted because of infection and 3 participants were awaiting for evaluation of response by doctor. Thus, 51 participants were evaluated for tumor response.

Thirty-six male patients accounted for 64.28% as the major genders groups. The mean age was 59.91 ± 11.67 , ranging from 26 to 81 years-old.

Adenocarcinoma with moderated differentiated histology was the most common in 25 patients (44.64%). Twenty-one patients (37.50%) had primary tumor site at colon. Fourteen patients (25.0%) had metastasis to lung and liver. Most of patients received irinotecan-base chemotherapy as second line treatment (38 patients, 67.86%). Twenty-three patients (41.07%) had number of metastatic site at one organ. Almost of participants were in good performance status represented by ECOG score 0 and 1. Most of patients had surgical resection and chemotherapy (35 patients, 62.50%) as previous treatment. All basic clinical data was shown in Table 5

Table 5 Patients' characteristics

Characteristic	N (%)	
Total number of participants	56	
Age	$59.91 \pm 11.67 (26,81)$	
Characteristic	N	%
Gender		
▪ Male	36	64.28
▪ Female	20	35.72

Characteristic	N (%)	
Performance status		
▪ ECOG score=0	4	7.14
▪ ECOG score=1	52	92.85
Histology		
▪ well differentiated	22	39.29
▪ moderately differentiated	25	44.64
▪ poorly differentiated	6	10.71
▪ No data	3	5.36
Primary tumor site		
▪ colon	21	37.50
▪ sigmoid colon	18	32.14
▪ rectum	17	30.36
Metastatic site		
▪ liver	14	25.0
▪ lung	6	10.71
▪ other ^a	8	14.29
▪ lung and liver	14	25.0
▪ liver or lung and other ^a	14	25.0
Treatment line		
▪ first line	8	14.29
▪ Second line	38	67.86
▪ >second line	10	17.85
Number of metastatic site		
▪ 1	23	41.07
▪ 2	20	35.72
▪ >2	13	23.21
Previous treatment		
▪ chemotherapy	5	8.93
▪ surgery+chemotherapy	35	62.50
▪ surgery+radiotherapy+chemotherapy	12	21.43
▪ radiotherapy+chemotherapy	4	7.14
Treatment regimen		
▪ Irinotecan	5	8.93
▪ Irinotecan+capecitabine	13	23.21
▪ IFL	33	58.93
▪ Irinotecan+other(eg. cetuximab, bevacizumab)	5	8.93

Characteristic	N (%)	
Alcohol Status		
▪ Never	33	58.93
▪ Ever	23	41.07
Smoking status		
▪ Never	35	62.50
▪ Ever	21	37.50

Abbreviation: ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group.

^aIncludes peritoneal,pelvic,bladder,ovarian,spleen,ovary,bone

The data for genotype frequencies were presented in Table 6. For *ABCC2* polymorphism, (C>T, rs717620) was found the wild type (C/C), heterozygous variant (C/T) and homozygous variant (T/T) at 66.07 %, 32.14 %, 1.79 %, respectively. For *SLCO1B1* polymorphism, (A>G, rs2306283) was found the wild type (A/A), heterozygous variant (A/G) and homozygous variant (G/G) were 12.50 %, 21.43 %, 66.07 %, respectively.

Table 6 Genotype frequency

Total number of participants = 56	N	%
<i>ABCC2</i> genotype		
▪ Homozygous wild genotype (C/C)	37	66.07
▪ Heterozygous variant genotype (C/T)	18	32.14
▪ Homozygous variant genotype(T/T)	1	1.79
<i>SLCO1B1</i> genotype		
▪ Homozygous wild genotype (A/A)	7	12.50
▪ Heterozygous variant genotype (A/G)	12	21.43
▪ Homozygous variant genotype(G/G)	37	66.07

4.2 Prevalence

Genotype distributions were checked for agreement with those expected under Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) by means of χ^2 test, which required a $P < 0.05$ for statistical significance. HWE was the relationship between allele frequencies and

genotype frequencies in populations. HWE was usually described using a trait for which there are two allele presents at the locus of interest.

Allele frequencies equation – $p+q=1$

Genotype frequencies equation- $p^2+2pq+q^2=1$

The prevalence of *ABCC2* polymorphism were p allele frequency equal to 0.8214 and q allele frequency equal to 0.178 (χ^2 test = 0.118. *P-value* = 0.731).

The prevalence of *SLCO1B1* polymorphism were p allele frequency equal to 0.2321 and q allele frequency equal to 0.767 (χ^2 test =4.654. *P-value* = 0.030).

Allele frequencies of *ABCC2* polymorphism, (C>T, rs717620) was found at 17.86 % and allele frequencies of *SLCO1B1* polymorphism, (A>G, rs2306283) was found at 76.79 %, as shown in Table 7.

Table 7 Allele frequency

Total number of participants 56							
Gene	Allele	56 x 2 allele		Genotype	N	%	Predicted (HWE)
		N	%				
<i>ABCC2</i>	C	92	82.14	CC	37	66.1	37.78
				CT	18	32.1	16.43
	T	20	17.86	TT	1	1.8	1.79
<i>SLCO1B1</i>	A	26	23.21	AA	7	12.50	3.02
				AG	12	21.43	19.96
	G	86	76.79	GG	37	66.07	33.02

4.3 Tumor response

Fifty-six participants who received irinotecan-based chemotherapy were enrolled to this study. Two participants were admitted because of infection and 3 participants were pending for evaluation of response by doctor. Therefore, fifty-one participants treated with irinotecan-based chemotherapy were evaluated tumor response. The proportion of progressive disease (PD) and stable disease (SD) were the same, at 43.1%, while partial response (PR) was equal at 13.7%. None of patient had complete response (CR) were showed in Table 8.

Table 8 Tumor response

Total number of participants 51		
Response	N	%
Partial response(PR)	7	13.72
Stable disease (SD)	22	43.14
Progressive disease (PD)	22	43.14

There were no statistically significant difference in the overall response rate in each gender, age, histology, primary tumor site, metastatic site, treatment line, and number of metastatic site, previous treatment, performance status, alcohol status, smoking status, (N=51). These factors were not associated with overall response were showed in Table 9.

Table 9 Association between factor and overall response

Total number of participants = 51					
Factor	N	Overall response		χ^2 value	P-value
		PR (%)	SD + PD (%)		
Gender				0.20	0.686
▪ Male	33	4 (12.12)	29 (87.88)		
▪ Female	18	3 (16.67)	15 (83.33)		
Age				2.27	0.221
▪ ≤ 60 years	28	2 (7.14)	26 (92.86)		
▪ >60 years	23	5 (21.74)	18 (78.26)		
Performance status				0.46	0.457
▪ ECOG score=0	4	1(25)	3(75)		
▪ ECOG score=1	47	6(12.77)	41(87.23)		
Histology				2.99	0.393
▪ Well differentiated	20	4 (20)	16 (80)		
▪ Moderately differentiated	22	2 (9.09)	20(90.91)		
▪ Poorly differentiated	6	0(0)	6(100)		
▪ No data	3	1 (33.33)	2(66.67)		

Total number of participants = 51					
Factor	N	Overall response		χ^2 value	P-value
		PR (%)	SD + PD (%)		
Primary tumor site				0.05	0.975
▪ colon	20	3(15)	17(85)		
▪ sigmoid	15	2(13.33)	13(86.67)		
▪ rectum	16	2(12.50)	14(87.50)		
Metastatic site				4.92	0.295
▪ liver	11	3(27.27)	8(72.73)		
▪ lung	6	0(0)	6(100)		
▪ other ^a	8	0(0)	8(100)		
▪ lung and liver	14	3(21.43)	11(78.57)		
▪ liver or lung+other ^a	12	1(8.33)	11(91.67)		
Treatment line				1.53	0.465
▪ first line	7	2(28.57)	5(71.43)		
▪ second line	34	4(11.76)	30(88.24)		
▪ >second line	10	1(10)	9(90)		
Number of metastatic site				0.39	0.823
▪ 1	20	3(15)	17(85)		
▪ 2	19	3(15.78)	16(84.22)		
▪ >2	12	1(8.33)	11(91.67)		
Previous treatment				1.36	0.714
▪ Chemotherapy	4	1(25)	3(75)		
▪ Surgery+ chemotherapy	32	5(15.63)	27(84.37)		
▪ Surgery+ radiotherapy+ chemotherapy	11	1(9.09)	10(90.91)		
▪ Radiotherapy+ chemotherapy	4	0(0)	4(100)		
Alcohol Status				1.37	0.402
▪ Never	32	3(9.38)	29(90.62)		
▪ Ever	19	4(21.05)	15(78.95)		
Smoking status				0.33	0.673
▪ Never smoker	34	4(11.76)	30(88.24)		
▪ Ever smoker	17	3(17.65)	14(82.35)		

Abbreviation: ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group.

^aIncludes peritoneal,pelvic,bladder,ovarian,spleen,ovary,bone

The significant differences in treatment response were found in each treatment regimen and irinotecan dose levels ($P=0.005$ and $P= 0.009$, respectively). The results showed that patients who received irinotecan plus cetuximab or bevacizumab regimen were higher overall response than other regimen. According to the Table 10, the highest percentage of overall response in each irinotecan dose levels was patient with irinotecan dose equal 180 mg/m² when compared with 150 mg/m² and 100-125mg/m² at 66.67%, 17.39% and 4%, relatively. In group of patients were received irinotecan dose equal 180 mg/m², 2 participants were patients who received irinotecan plus capecitabine regimen and 1 participant was received single irinotecan regimen.

Table 10 Association between chemotherapy regimens and irinotecan dose with overall response

Total number of participants = 51					
Factor	N	Overall response		χ^2 value	P-value
		PR (%)	SD + PD (%)		
Treatment regimen				12.88	0.005*
▪ Irinotecan	5	0(0)	5(100)		
▪ Irinotecan+capecitabine	11	4(36.36)	7(63.64)		
▪ IFL	31	1(3.23)	30(96.77)		
▪ Irinotecan+other(eg. cetuximab, bevacizumab)	4	2(50)	2(50)		
Irinotecan dose				9.359	0.009*
▪ 100-125mg/m ²	25	1(4)	24(96)		
▪ 150mg/m ²	23	4(17.39)	19(82.61)		
▪ 180mg/m ²	3	2(66.67)	1(33.33)		

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

The overall response rates in patients with chemotherapy delayed schedules or reduced dose were by any causes were shown in Table 11. These factors were not associated with overall response. Postpone of chemotherapy was counted in patient who received chemotherapy delay from schedule more than 1 week and these data were recorded in patients' profile by doctor.

The non-response group were higher percentage of postponed chemotherapy than response group at 12/15 (80%) and 3/15 (20%). However, there was no significant effect on overall response, $P=0.406$. The reasons of postpone were 2 participants feel characterless, 3 participants had diarrhea, 3 participants had infection and 4 participants had ANC level less than $1500/\text{mm}^3$.

Patients in non-response group were higher percentage of dose reduction than patients in responder group at 90.90% and 9.10%. The reasons of reducing the dose were 1 participants had impair liver function test at after cycle 1, 1 participants had diarrhea, 7 participants had ANC level less than $1500/\text{mm}^3$, 1 participant had severe neutropenia and 1 participant was reduced dose without record of the reason.

Table 11 Association between factor and overall response

Total number of participants = 51					
Factor	N	Overall response		χ^2 value	P-value
		PR (%)	SD + PD (%)		
Postpone of chemotherapy				0.706	0.406
▪ Yes	15	3(20)	12(80)		
▪ No	36	4(11.10)	32(88.90)		
Reduced dose				0.254	1.000
▪ Yes	11	1(9.10)	10(90.90)		
▪ No	40	6(15)	34(85)		

Differences in overall response rate among genotypes of *ABCC2* and *SLCO1B1* were described in Table 12. The results showed one patient with heterozygous variant type (T/T) of *ABCC2* was the highest of overall response rate. When combined effect of C/T genotype and T/T genotype was evaluated, patients with homozygous wild type (C/C) had higher rate of overall response when compared with C/T plus T/T genotypes (17.65% vs. 5.88%). However, there were no statistically significant differences. ($P=0.401$). For *SLCO1B1* polymorphism, patients with G/G genotypes had higher rate

of overall response (17.14% vs.6.25%) when compared with A/A and A/G genotypes. Similar to *ABCC2*'s effect, the differences was not at a statistically significant level.

Table 12 Association between genetic polymorphisms and overall responses

Gene	Genotype	N	Overall response		χ^2 test	P-value
			PR (%)	SD + PD (%)		
<i>ABCC2</i>					9.27	0.010*
	CC	34	6(17.65)	28(82.35)		
	CT	16	0(0)	16(100)		
	TT	1	1(100)	0(0)		
<i>ABCC2</i>						
	CC	34	6(17.65)	28(82.35)	1.32	0.401
	CT,T/T	17	1(5.88)	16(94.12)		
<i>SLCO1B1</i>					1.34	0.512
	AA	5	0(0)	5(100)		
	AG	11	1(9.09)	10(90.91)		
	GG	35	6(17.14)	29(82.86)		
<i>SLCO1B1</i>						
	AA,AG	16	1(6.25)	15(93.75)	1.10	0.410
	GG	35	6(17.14)	29(82.86)		

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

In term of clinical benefit, patients with variant type (C/T, T/T) of *ABCC2* had higher rate of clinical benefit (70.59% vs. 50%) when compared with C/C genotype ($P=0.233$). For *SLCO1B1* polymorphism, patient with G/G genotype had higher rate of clinical benefit (57.14% vs. 56.25%) when compared with patient with at least one wild type allele (A/A, A/G). However, neither of them associated with clinical benefit at a statistically significant level, as shown in Table 13.

Table 13 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit

Gene	Genotype	N	Clinical benefit		χ^2 test	P-value
			PR + SD (%)	PD (%)		
<i>ABCC2</i>					2.33	0.311
	CC	34	17(50)	17(50)		
	CT	16	11(68.75)	5(31.25)		
	TT	1	1(100)	0(0)		
<i>ABCC2</i>					1.95	0.233
	CC	34	17(50)	17(50)		
	CT,T/T	17	12(70.59)	5(29.41)		
<i>SLCO1B1</i>					0.787	0.678
	AA	5	2(40)	3(60)		
	AG	11	7(63.64)	4(36.36)		
	GG	35	20(57.14)	15(42.86)		
<i>SLCO1B1</i>					0.004	1.000
	AA,AG	16	9(56.25)	7(43.75)		
	GG	35	20(57.14)	15(42.86)		

In this study, majority of patient (31, 63.3%) received IFL regimen. When focusing in this subgroup, the patient with homogenous wild type of *ABCC2* had higher overall response when compared with others. For *SLCO1B1* polymorphism, patients with G/G genotype had higher overall response when compared with A/G, A/A genotypes. However, there were no significant relationship between overall response and both genes, as shown in Table 14.

Table 14 Association between genetic polymorphisms and overall response in patient who received IFL regimen

Total number of participants 31								
Gene	Genotype	N	Overall response		P-value	OR	95% CI	
			PR (%)	SD + PD (%)			Lo-wer	Up-per
<i>ABCC2</i>	CC	19	1(5.3)	18(94.7)	1.000	0.94	0.85	1.05
	CT + TT	12	0(0)	12(100)				
<i>SLCO1B1</i>	AA+AG	9	0(0)	9(100)	1.000	1.04	0.95	1.14
	GG	22	1(4.5)	21(95.5)				

For the clinical benefit, patient with C/T, T/T genotypes of *ABCC2* had higher clinical benefit (58.3% and 36.8%) than patient with C/C genotypes ($P=0.288$). For *SLCO1B1* polymorphism, patients with A/A, A/G genotypes had higher clinical benefit (55.6% vs. 40.9%) when compared with G/G genotype ($P=0.693$). Similar to overall response, there were no relationship between clinical benefit and both genes as shown in Table 15.

Table 15 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in patients received IFL regimen

Total number of participants 31								
Gene	Genotype	N	Clinical benefit		P-value	OR	95% CI	
			PR + SD (%)	PD (%)			Lo-wer	Up-per
<i>ABCC2</i>	CC	19	7(37)	12(63)	0.288	0.41	0.09	1.82
	CT + TT	12	7(58)	5(42)				
<i>SLCO1B1</i>	AA+AG	9	5(56)	4(44)	0.693	1.80	0.37	8.64
	GG	22	9(41)	13(59)				

In this study, majority of patient (11, 21.56%) received IFL regimen at irinotecan dose levels equal 150 mg/m². In this subgroup, patients with homogenous wild type of *ABCC2* had higher overall response when compared with others at 25%

and 0%. For *SLCO1B1* polymorphism, patients with G/G genotype had higher overall response when compared with A/G, A/A genotypes at 16.70% and 0%. Though, there were no significant relationship between overall response and both genes, as shown in Table 16

Table 16 Association between genetic polymorphisms and overall response in patient who received IFL regimen at irinotecan dose levels equal 150 mg/m².

Total number of participants 11								
Gene	Genotype	N	Overall response		P-value	OR	95% CI	
			PR (%)	SD + PD (%)			Lo-wer	Up-per
<i>ABCC2</i>	CC	4	1(25)	3(75)	0.364	0.75	0.42	1.32
	CT	7	0(0)	7(100)				
<i>SLCO1B1</i>	AA+AG	5	0(0)	5(100)	1.000	1.20	0.83	1.71
	GG	6	1(16.70)	5(83.30)				

For the clinical benefit, patients with CC genotypes of *ABCC2* had higher clinical benefit (75% and 57.10%) than whom with CT plus TT genotypes ($P=1.000$). For *SLCO1B1* polymorphism, patients with A/A, A/G genotypes had higher clinical benefit (80% and 50%) when compared with G/G genotype ($P=0.545$). There were no relationship between clinical benefit and both genes as shown in Table 17.

Table 17 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in patients received IFL regimen plus irinotecan dose levels equal 150 mg/m².

Total number of participants 11								
Gene	Genotype	N	Clinical benefit		P-value	OR	95% CI	
			PR + SD (%)	PD (%)			Lo-wer	Up-per
<i>ABCC2</i>	CC	4	3(75)	1(25)	1.000	2.25	0.14	33.9
	CT + TT	7	4(57.10)	3(42.90)				
<i>SLCO1B1</i>	AA+AG	5	4(80)	1(20)	0.545	4.00	0.26	60.3
	GG	6	3(50)	3(50)				

When combined effect of both genetic polymorphisms was evaluated, there was no significant difference in overall response as presented in Table 18. Conversely, the trend in differences of clinical benefit rate was found while effects of both genetic polymorphisms were combined. As described in Table 19, patients with at least one variant allele of *ABCC2* and one wild type allele of genotype of *SLCO1B1* had higher clinical benefit rate ($P=0.031$).

Table 18 Association between genetic polymorphisms and overall response in combined genotype (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*)

Total number of participants 51						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	Overall response		χ^2 value	P-value
			PR (%)	SD + PD (%)		
AA+AG	CC	10	1(10)	9(90)	2.29	0.513
AA+AG	CT + TT	6	0(0)	6(100)		
GG	CC	24	5(20.83)	19(79.17)		
GG	CT + TT	11	1(9.09)	10(90.91)		
GG and CC		24	5(20.80)	19(79.20)	1.93	0.232
other		27	2(7.40)	25(92.60)		

Table 19 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in combined genotype (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*)

Total number of participants 51						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	Clinical benefit		χ^2 value	P-value
			PR + SD (%)	PD (%)		
AA+AG	CC	10	3(30)	7(70)	7.53	0.057
AA+AG	CT + TT	6	6(100)	0(0)		
GG	CC	24	14(58.33)	10(41.67)		
GG	CT + TT	11	6(54.55)	5(45.45)		
AA+AG and CT + TT		6	6(100)	0(0)	5.15	0.031*
other		45	23(51.10)	22(48.90)		

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

Similar patterns were found in patients received IFL regimen as shown in Table 20. No difference of overall response rate but trend of difference for clinical benefit rate was found in combined effect of both genetic polymorphisms. Patients with at least one variant allele of *ABCC2* and one wild type allele of genotype of *SLCO1B1* had tended to gain more clinical benefit ($P=0.096$).

Table 20 Association between genetic polymorphisms and overall response in combined genotype in IFL regimen (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*)

Total number of participants 31						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	Overall response		χ^2 value	P-value
			PR (%)	SD+PD (%)		
AA+AG	CC	5	0(0)	5(100)	1.25	0.740
AA+AG	CT + TT	4	0(0)	4(100)		
GG	CC	14	1(7.14)	13(92.86)		
GG	CT + TT	8	0(0)	8(100)		

Table 21 Association between genetic polymorphisms and clinical benefit in combined genotype in IFL regimen (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*)

Total number of participants 31						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	Clinical benefit		χ^2 value	P-value
			PR + SD (%)	PD (%)		
AA+AG	CC	5	1(20)	4(80)	6.35	0.096
AA+AG	CT + TT	4	4(100)	0(0)		
GG	CC	14	6(42.86)	8(57.14)		
GG	CT + TT	8	3(37.50)	5(62.50)		

4.4 Genetic polymorphisms and toxicities

Anemia was the most common adverse events found in this study (38 patients, 67.86%), followed by delay diarrhea (15 patients, 26.79%), thrombocytopenia (9 patients, 16.07%) and neutropenia (5 patients, 8.93%). Incidences of toxicities were listed in Table 22. Grade and distribution of toxicities was shown in Appendix F.

Table 22 Overall toxicities

Total number of participants 56				
Toxicities	All grades N (%), after Cycle 1	Grade		
		Grade 0	Grade 1-2	Grade 3-4
Anemia	38/56 (67.86)	18(32.14)	36 (64.29)	2 (3.57)
Diarrhea	15/56(26.79)	41(73.21)	14(25)	1(1.79)
Thrombocytopenia	9/56 (16.07)	47(83.93)	8(14.28)	1(1.79)
Neutropenia	5/56 (8.93)	51(91.07)	3(5.36)	2 (3.57)

There were no statistically significant difference in anemia each gender, age, histology, primary tumor site, metastatic site, treatment line, number of metastatic site, previous treatment, performance status, treatment regimen and irinotecan dose levels. These factors were not associated with anemia, neutropenia, and thrombocytopenia and delay diarrhea. The significant differences in delay diarrhea were found in each histology and previous treatment ($P=0.037$ and $P=0.016$), relatively. The data were described in Appendix G.

4.4.1 Hematologic toxicities

To compare differences in toxicities among various genotypes precisely, we decided to evaluate rate of toxicity after each cycle of chemotherapy was given. Table 23 showed the effect *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on anemia, the risk of severe anemia after cycle 2 of chemotherapy were higher in patients with homozygous wild type (A/A) of *SLCO1B1* (16.67% vs. 0%) than other genotypes ($P=0.016$).

Anemia was analyzed in patient who had reducing in hemoglobin level, taking as reference the baseline before start chemotherapy cycle 1 follow by CTCAE criteria.

Table 23 Association between genetic polymorphisms and anemia

Gene	Genotype	N	Anemia		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
anemia after chemotherapy cycle 1									
<i>ABCC2</i>									
	CC	37	35(94.59)	2(5.41)	1.06	0.587	1		
	CT	18	18(100)	0(0)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	19	19(100)	0(0)	1.06	0.544	0.9	0.8	1.0
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	7	6(85.71)	1(14.29)	2.85	0.239	1		
	AG	12	12(100)	0(0)					
	GG	37	36(97.30)	1(2.70)					
	AA,AG	19	18(94.74)	1(5.26)	0.23	1.000	0.5	0.0	8.4
anemia after chemotherapy cycle 2									
<i>ABCC2</i>									
	CC	36	35(97.22)	1(2.78)	0.53	0.764	1		
	CT	18	18(100)	0(0)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	19	19(100)	0(0)	0.53	1.000	0.9	0.9	1.0
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	6	5(83.33)	1(16.67)					
	AG	12	12(100)	0(0)					
	GG	37	37(100)	0(0)					
	AA,AG	18	17(94.44)	1(5.56)	2.09	0.327	0.9	0.8	1.0

Gene	Genotype	N	anemia		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
anemia after chemotherapy cycle 3									
<i>ABCC2</i>									
	CC	34	32(94.12)	2(5.88)	0.98	0.613	1		
	CT	15	15(100)	0(0)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	16	16(100)	0(0)	0.98	1.000	0.9	0.8	1.0
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	5	4(80)	1(20)					
	AG	11	11(100)	0(0)					
	GG	34	33(97.06)	1(2.94)					
	AA,AG	16	15(93.75)	1(6.25)	0.31	0.542	0.4	0.0	7.7

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

Similar to anemia, rate of severe neutropenia after cycle 2 of chemotherapy also found higher in rate patients with homozygous wild type (AA) of *SLCO1B1* (16.67% and 0%) than patient with other genotypes ($P=0.016$) as presented in Table 24. Both *ABCC2* and *SLCO1B* genetic polymorphisms did not affect on differences in rate of severe thrombocytopenia as seen in Table 25.

Table 24 Association between genetic polymorphisms and neutropenia

Gene	Genotype	N	neutropenia		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
neutropenia after chemotherapy cycle 1									
<i>ABCC2</i>									
	CC	37	36(97.30)	1(3.70)	0.32	0.850	1		
	CT	18	17(94.44)	1(5.56)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	19	18(94.74)	1(5.26)	0.23	1.000	2.0	0.1 1	33. 85

Gene	Genotype	N	neutropenia		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	7	6(85.71)	1(14.29)					
	AG	12	12(100)	0(0)					
	GG	37	36(97.29)	1(2.71)					
	AA,AG	19	18(94.74)	1(5.36)	0.23	1.000	0.5	0.03	8.46
neutropenia after chemotherapy cycle 2									
<i>ABCC2</i>									
	CC	36	36(100)	0(0)					
	CT	18	17(94.44)	1(5.56)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	19	18(94.74)	1(5.26)	1.93	0.345	1.0	0.94	1.17
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	6	5(83.33)	1(16.67)					
	AG	12	12(100)	0(0)					
	GG	37	37(100)	0(0)					
	AA,AG	18	17(94.44)	1(5.56)	2.09	0.327	0.9	0.84	1.05

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

Table 25 Association between genetic polymorphisms and thrombocytopenia

Gene	Genotype	N	thrombocytopenia		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2(%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
Thrombocytopenia after chemotherapy cycle 1									
<i>ABCC2</i>									
	CC	37	37(100)	0(0)					
	CT	18	17(94.44)	1(5.56)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	19	18(94.74)	1(5.26)	1.98	0.339	1.0	0.9	1.1
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	7	7(100)	0(0)					
	AG	12	12(100)	0(0)					
	GG	37	36(97.30)	1(2.70)					
	AA,AG	19	19(100)	0(0)	0.52	1.00	1.0	0.9	1.0

4.4.2 Non-hematologic toxicities

After cycle 1 chemotherapy was given, the risk of severe diarrhea were found higher in patients with homozygous wild type (A/A) of *SLCO1B1* (14.29% vs. 0%) than patient with other genotypes ($P=0.028$).

Table 26 Association between genetic polymorphisms and diarrhea

Gene	Genotype	N	diarrhea		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
diarrhea after chemotherapy cycle 1									
<i>ABCC2</i>									
	CC	37	36(97.30)	1(2.70)	0.52	0.770	1		
	CT	18	18(100)	0(0)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	19	19(100)	0(0)	0.52	1.000	0.97	0.9	1.0
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	7	6(85.71)	1(14.29)	7.12	0.028*	1		
	AG	12	12(100)	0(0)					
	GG	37	37(100)	0(0)					
	AA,AG	19	18(94.74)	1(5.26)	1.98	0.339	0.94	0.8	1.0
diarrhea after chemotherapy cycle 2									
<i>ABCC2</i>									
	CC	36	32(88.88)	4(11.12)	2.04	0.360	1		
	CT	16	16(100)	0(0)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	17	17(100)	0(0)	2.04	0.293	0.88	0.7	0.9
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	5	5(100)	0(0)	0.46	0.794	1		
	AG	11	10(90.91)	1(9.09)					
	GG	37	34(91.89)	3(8.11)					
	AA,AG	16	15(93.75)	1(6.25)	0.05	1.000	1.32	0.1	13.7

Gene	Genotype	N	diarrhea		χ^2 test	P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)				Lower	Upper
diarrhea after chemotherapy cycle 3									
<i>ABCC2</i>									
	CC	34	32(94.12)	2(5.88)	0.98	0.613	1		
	CT	15	15(100)	0(0)					
	TT	1	1(100)	0(0)					
	CT,TT	16	16(100)	0(0)	0.98	1.00	0.94	0.86	1.0
<i>SLCO1B1</i>									
	AA	5	5(100)	0(0)					
	AG	11	11(100)	0(0)					
	GG	34	32(94.12)	2(5.88)					
	AA,AG	16	16(100)	0(0)	0.98	1.00	1.06	0.97	1.1

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

When combined genotypes were determined for association between genetic polymorphism and risk of severe anemia, severe neutropenia, and thrombocytopenia and delayed diarrhea (N=56). Results presented that there were no statistically significant differences in the risk of toxicity between the each group of combined genotype (*ABCC2* and *SLCO1B1*). Association between genetic polymorphisms and severe anemia in combined genotype (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*) were described in Appendix H.

In subgroup received IFL regimen, there was no statistical association between *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms and the risk of toxicity, nevertheless it was found that the risk of severe neutropenia were higher in patient with homozygous wild type (A/A) of *SLCO1B1* polymorphism (33.33% vs. 0%) than patient with other genotype ($P=0.006$). When considering combined genotype of both genes in IFL regimen (N=33) on the risk of toxicity (severe anemia, severe neutropenia, severe thrombocytopenia, and diarrhea), the results showed that there was no statistical association between *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms and the risk of toxicity. Association between genetic polymorphisms and severe anemia in combined genotype in IFL regimen (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*) were described in Appendix I.

Table 27 Association between genetic polymorphisms and neutropenia in subgroup analysis of IFL regimen

Gene	Allele	N	neutropenia		χ^2 value	P- value	OR	95% CI	
			Grade 0-2(%)	Grade 3-4 (%)				Lo- wer	Up- per
neutropenia after chemotherapy cycle 1									
<i>ABCC2</i>	CC	19	18(94.74)	1(5.26)	0.05	1.000	1.38	0.07	24.2
	CT	14	13(92.86)	1(7.14)					
	TT	0	0(0)	0(0)	0.05	1.000			
	CT + TT	14	13(92.86)	1(7.14)					
<i>SLCO 1B1</i>	AA	2	2(100)	0(0)	4.52	0.104	1		
	AG	8	8(100)	0(0)					
	GG	22	21(95.46)	1(4.54)	0.26	1	0.47	0.02	8.41
	AG+GG	11	10(90.91)	1(9.09)					
neutropenia after chemotherapy cycle 2									
<i>ABCC2</i>	CC	19	19(100)	0(0)	1.40	0.424	1.07	0.93	1.24
	CT	14	13(92.86)	1(7.14)					
	TT	0	0(0)	0(0)	1.40				
	CT + TT	14	13(92.86)	1(7.14)					
<i>SLCO 1B1</i>	AA	3	2(66.67)	1(33.33)	10.3	0.006*	1		
	AG	8	8(100)	0(0)					
	GG	22	22(100)	0(0)	2.06	0.333	0.91	0.75	1.09
	AG+GG	11	10(90.91)	1(9.09)					

*P-value of < 0.05 was considered statistically significant

- Chapter 5 – Discussion

The main objective of this prospective cohort study was to evaluate impact of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on treatment responses and toxicities in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy. Our study was the first in reporting prevalence of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms in Thai. Both genetic polymorphisms were quite common. Moreover, there were some interesting findings in the differences of treatment responses as well as rate of toxicities among different genotypes.

PART I Prevalence of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms

The prevalence *ABCC2* of allele C→T (rs717620) was found around 15-32% in Caucasians while none of polymorphism was found in African.(8, 41). In Asians, Akiyama reported variant allele frequency in advanced colorectal cancer as 20.50% which comparable to our finding at 17.86 %.(10)

For *SLCO1B1**1b, allele frequency of A→G (rs2306283) were reported in Caucasians at around 45% which less than presented in Japanese advanced colorectal cancer patients as 64.7-75% (6, 20). In our study, variant allele was found at 76.79% which similar to previously reported in Japanese.

In this study *ABCC2* genotype distributions followed the HWE law, except for *SLCO1B1* genotype rs2306283 was significantly departed from the HWE, ($P=0.030$). The reason might be limited sample size or that this SNP was associated with risk of colorectal cancer. But there was no report this SNP was associated with the incidence of colorectal cancer.

PART II Effect of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on treatment responses to irinotecan-based chemotherapy

The previous publications stated that *ABCC2* and *SLCO1B1*1b* polymorphisms contributed to various responses to irinotecan-based chemotherapy in mCRC patients.(10, 20) We hypothesized that genetic polymorphisms were associated with treatment responses. The results (N=51) was found patients with GG of *SLCO1B1* plus CC of *ABCC2* genotype had higher overall response than other genotype (20.80% vs. 7.40%), ($P=0.232$). However, our results indicated neither of them associated with treatment responses but combined effect of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms were associate with clinical benefit in term of partial response (PR) and stable disease (SD) ($P=0.031$).

In term of clinical benefit or disease control rate (DCR) defined as the percentage of patients with metastatic cancer who have achieved CR, PR and SD to a therapeutic intervention of anticancer agent.(26) Disease stabilization, neither sufficient to qualify for PR or PD, has often been viewed as an equivocal result and is therefore of unclear clinical value. Conversely, tumor growth has been associated with worse outcomes and early death.

Some study suggested that DCR (CR+PR+SD) was a more strong predictor of subsequent survival than the traditional response rate (CR+PR) in patients receiving platinum-based chemotherapy for advanced stage NSCLC,(N=984). The reduction in the risk of death was substantially more significant for DCR ($P < 0.0001$) than it was for standard CR+PR rate alone. DCR at week 8 was also associated with longer survival, with an HR of 0.45 (95% CI, 0.39 to 0.52; $P < 0.0001$). Patients with SD had significantly longer survival times than did those with PD, median survival times among patients with SD and PD were 12.0 and 6.4 months, ($P < 0.0001$). Thus, DCR may serve as a surrogate for survival after systemic therapy. Our study (N=51) was found patients with AG, AA genotype plus CT, TT genotype had higher clinical benefit than other groups, (100% vs. 51.10%), $P=0.031$). (42)

The results of treatment responses to irinotecan-based chemotherapy in term of treatment response (CR, PR) was seen in 51 participants (13.72%) and clinical benefit (CR+PR+SD) was seen 56.86%. According to the evidence, in the latest guideline

update, the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) recommended FOLFIRI or FOLFOX plus cetuximab chemotherapy regimen as the first-line treatment in KRAS/NRAS wild-type mCRC patients.(43) Since we include patients from out-patients setting, patients treated with these regimen were not include to our study. It might be cause of founding low percentage of patients with response group in this study.

- Effect of *ABCC2* polymorphism on treatment responses

ABCC2 controls drug efflux into the bile. Haenisch (2006) revealed that polymorphism at -24(C>T) was related with lower mRNA levels in normal tissue and with almost 20% reduced activity in vitro.(17) The reduced transportation of irinotecan into the bile by *ABCC2* polymorphism led to increased hepatic metabolism, increased transport of irinotecan into the bile by ABCB1 or ABCG2, or increased transport back into the circulation by ABCC1. Patients with variant *ABCC2* had decreased clearance of irinotecan and slower systemic irinotecan metabolism which could influence outcomes of irinotecan-based chemotherapy.

The relationship between *ABCC2* polymorphism and overall response rate were explained in previous studies. Fujita K (2007) presented the effects of *ABCC2* polymorphism on pharmacokinetic of irinotecan. It was found that patients with C/T genotype or T/T genotype had significant increased SN-38 AUC than patients with C/C genotype group ($P = 0.026$) (7). Akiyama (2012) also reported the relationship between *ABCC2* polymorphism and overall response rate on the efficacy of first-line FOLFIRI regimen (irinotecan dose 180mg/m²), patients with C/C genotype had significantly increased overall response rate than patients with the C/T plus T/T genotype (52.5% vs. 23.8%), relatively, N=61 ($P = 0.0313$). Similar to our finding , patients with homozygous wild type (CC) had higher rate of overall response (17.65% vs. 5.88%) than patient with C/T and T/T genotypes even if it was not at a statistically significant level ($P=0.401$). Our finding that the irinotecan dose was associated with treatment response, ($P=0.009$). These results suggested that irinotecan dose and variety regimen might be related to the treatment response and majority of patients received irinotecan dose 100-150mg/m² (94.12%) might be a reason of difference of our results and Akiyama (2012).

The results revealed that patient with heterozygous variant type (T/T) of *ABCC2* was the highest of overall response rate who was received irinotecan-based chemotherapy, cetuximab 400 mg/m² intravenous infusion on day 1; irinotecan 150 mg/m², 90 min intravenous infusion on day 1; leucovorin (LV) 20 mg/m² intravenous infusion on day 1; fluorouracil 500 mg/m² Intravenous bolus on day 1; repeated every 2 weeks. Previous study suggest cetuximab plus irinotecan were improve PFS and response rate.(44) This reasons might be caused of patient with heterozygous variant type (T/T) was the highest of overall response rate.

- Effect of *SLCO1B1**1*b* polymorphism on treatment responses

SLCO1B1 control a major influx transporter expression on the basolateral membrane of human hepatocytes that SN-38 disposition which transports a variety of drugs and their metabolites from blood to liver in human. *SLCO1B1**1*b* polymorphism was involved with the increased function led to hepatic uptake of SN-38 from plasma to human hepatocytes. The association between *SLCO1B1* polymorphism and tumor response were reported in previous study. Patients with GA/AA genotype had significant higher tumor response rate and presented a rapid response rate than whom with G/G genotype ($P = 0.011$).⁽²⁰⁾ In contrary to our finding, we found higher overall response rate in patients with G/G genotype than in patients with A/G, A/A genotype but not statistically significance. Similar to report of Teft (2015) who found that patients with *SLCO1B1* (388G/G) had significantly increased PFS compared with whom with wild type. (HR=1.60, 95% CI=1.04-2.46).⁽²¹⁾

- Combined effect of *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms on treatment responses to irinotecan-based chemotherapy

This was the first time that *ABCC2* and *SLCO1B1* polymorphisms considered together. In short, polymorphism of *ABCC2* which resulted in lower irinotecan exposure in term of AUC, should lead to more treatment response. While *SLCO1B1* polymorphism impacted on increased function of hepatic uptake of SN-38 from plasma to human hepatocytes which should result in better drug response. Therefore we hypothesized that patients with wild type of *ABCC2* and variant of *SLCO1B1* were

favorable genotype. We did not find significant difference in terms of response rate but the trend in clinical benefit rate was found in our study.

PART III Effect of polymorphisms and toxicities of irinotecan-based chemotherapy

Irinotecan-based chemotherapy related toxicities were assessed according to Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.03 (CTCAE). Recent publications discovered that polymorphisms of *ABCC2* and *SLCO1B1*1b* were related to toxicities of irinotecan-based chemotherapy. We also found some interesting findings in terms of relationship between genetic polymorphism and toxicities in Thai mCRC patients treated with irinotecan-based chemotherapy

- Effect of *ABCC2* polymorphism and toxicities

It was found in previous study that patients with heterozygous *ABCC2* polymorphism (C/T) at -24C>T had significantly reduced risk of severe neutropenia when compared with wild-type patients (odds ratio (OR) =0.22, 95% CI= 0.06-0.85).(21) While Han (2007) indicated that *ABCC2*, -24C > T was not associated with severe neutropenia and severe diarrhea in advanced non-small cell lung cancer patients (44). We found no statistically significant difference in hematologic toxicities and non-hematologic toxicities consistent with earlier reports ($P > 0.05$).

- Effect of *SLCO1B1*1b* polymorphism and toxicities

Few publications demonstrated the correlation with toxicities and *SLCO1B1*1b* polymorphism in mCRC patients. However, there were discrepancies in previous studies. Innocenti F (2009) and Crona DJ (2016) indicated that almost 50% of patients with *SLCO1B1*1b* polymorphism had higher absolute neutrophil count (ANC) at nadir when compared with wild type (8, 9). While the other study found that patients with *SLCO1B1*1b* polymorphism had significantly increased the ANC nadir (9). Di Martino MT (2011) found that 3/9 patients with G/A genotype was with grade ≥ 3 GI toxicity while 14 of 17 patients in other group had no GI toxicity ($P = 0.0277$).(22) Similar to this study, it was found that the risk of severe anemia were higher in patients with homozygous wild type (AA) of *SLCO1B1* polymorphism than patients with other

genotypes at a statistically significant level ($P=0.016$). The *SLCO1B1* polymorphism had impact on severe neutropenia that was significantly higher in patient with homozygous wild type (AA) than patient with other genotype ($P=0.006$). One patient with A/A genotype had severe neutropenia that these results might be related to dose reduction and non-response in chemotherapy treatment.

For non-hematologic toxicities, the *SLCO1B1* polymorphism was associated with severe diarrhea that was significantly higher in patient with homozygous wild type (AA) than patient with other genotype ($P=0.028$). Inconsistent to report of Han JY (2008) which significantly association between the *SLCO1B1* polymorphism and irinotecan toxicities were found. Patients with G/G genotype of *SLCO1B1*1b* was associated with ≥ 3 grade GI toxicity in Korean patients with NSCLC ($P= 0.046$).⁽²³⁾

The strength of our study was prospective design which minimizes recall bias and incomplete medical record which gathering into patients' interview. We also used standard commercial assay for genotyping evaluation. All treatment responses were objectively evaluated by attending physician for each patient per routine standard practice without recognizing patients' genotypes. Nonetheless, relatively small sample size of this study could have a small number of patients in each genotypes accounting for under power of statistic testing. Furthermore, heterogeneous irinotecan treatment regimen and dosing level might be important confounding factors to weaken polymorphism effect. Future studies with larger sample size and more homogeneous treatment pattern should be conducted to elucidate the significance of these genetic polymorphisms on treatment response prior to summarize whether these genetic polymorphisms impact on treatment outcomes.

Conclusion

Results from this study indicated *ABCC2* (rs717620) and *SLCO1B1*1b* (rs2306283) genetic polymorphisms in Thai mCRC patients. Prevalence of *ABCC2* (rs717620) and *SLCO1B1*1b* (rs2306283) polymorphisms were 17.86% and 76.79%, respectively. We also found possibility of association between treatment responses and genetic polymorphism in mCRC patients. Our results indicated that combined effect of both genes were associated with rate of clinical benefit from irinotecan. In term of

toxicity, *SLCO1B1* polymorphism were associated with dose reduction which can lead to treatment failure. Therefore, single nucleotide polymorphism of *ABCC2* and *SLCO1B1*1b* might be factors influence inter-individual variability on chemotherapy response of irinotecan-based chemotherapy in Thai mCRC patients.



REFERENCES

1. Hashim D, Boffetta P, La Vecchia C, Rota M, Bertuccio P, Malvezzi M, et al. The global decrease in cancer mortality: trends and disparities. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2016;27(5):926-33.
2. Phiphatpatthamaamphan K, Vilaichone R. Colorectal Cancer in the Central Region of Thailand. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2016;17(7):3647-50.
3. Benson AB, 3rd, Venook AP, Cederquist L, Chan E, Chen YJ, Cooper HS, et al. Colon Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2017;15(3):370-98.
4. Colucci G, Gebbia V, Paoletti G, Giuliani F, Caruso M, Gebbia N, et al. Phase III randomized trial of FOLFIRI versus FOLFOX4 in the treatment of advanced colorectal cancer: a multicenter study of the Gruppo Oncologico Dell'Italia Meridionale. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(22):4866-75.
5. Tournigand C, Andre T, Achille E, Lledo G, Flesh M, Mery-Mignard D, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2004;22(2):229-37.
6. Fuchs CS, Moore MR, Harker G, Villa L, Rinaldi D, Hecht JR. Phase III comparison of two irinotecan dosing regimens in second-line therapy of metastatic colorectal cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2003;21(5):807-14.
7. Fujita K, Nagashima F, Yamamoto W, Endo H, Sunakawa Y, Yamashita K, et al. Association of ATP-binding cassette, sub-family C, number 2 (ABCC2) genotype with pharmacokinetics of irinotecan in Japanese patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan plus infusional 5-fluorouracil/leucovorin (FOLFIRI). *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2008;31(11):2137-42.
8. Innocenti F, Kroetz DL, Schuetz E, Dolan ME, Ramirez J, Relling M, et al. Comprehensive pharmacogenetic analysis of irinotecan neutropenia and pharmacokinetics. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27(16):2604-14.
9. Crona DJ, Ramirez J, Qiao W, de Graan AJ, Ratain MJ, van Schaik RH, et al. Clinical validity of new genetic biomarkers of irinotecan neutropenia: an independent replication study. *The pharmacogenomics journal*. 2016;16(1):54-9.
10. Akiyama Y, Fujita K-i, Ishida H, Sunakawa Y, Yamashita K, Kawara K, et al. Association of ABCC2 Genotype with Efficacy of First-line FOLFIRI in Japanese Patients with Advanced Colorectal Cancer. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2012;27(3):325-35.
11. Han FF, Guo CL, Yu D, Zhu J, Gong LL, Li GR, et al. Associations between UGT1A1*6 or UGT1A1*6/*28 polymorphisms and irinotecan-induced neutropenia in Asian cancer patients. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2014;73(4):779-88.
12. Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, Chen PX, Das S, Kocherginsky M, et al. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2004;22(8):1382-8.

13. Paoluzzi L, Singh AS, Price DK, Danesi R, Mathijssen RH, Verweij J, et al. Influence of genetic variants in UGT1A1 and UGT1A9 on the in vivo glucuronidation of SN-38. *Journal of clinical pharmacology*. 2004;44(8):854-60.
14. Liu D, Li J, Gao J, Li Y, Yang R, Shen L. Examination of multiple UGT1A and DPYD polymorphisms has limited ability to predict the toxicity and efficacy of metastatic colorectal cancer treated with irinotecan-based chemotherapy: a retrospective analysis. *BMC cancer*. 2017;17(1):437.
15. Kim TW, Innocenti F. Insights, challenges, and future directions in irinogenetics. *Therapeutic drug monitoring*. 2007;29(3):265-70.
16. Miyata Y, Touyama T, Kusumi T, Morita Y, Mizunuma N, Taniguchi F, et al. UDP-glucuronosyltransferase 1A1*6 and *28 polymorphisms as indicators of initial dose level of irinotecan to reduce risk of neutropenia in patients receiving FOLFIRI for colorectal cancer. *International Journal of Clinical Oncology*. 2016;21:696-703.
17. Haenisch S, Zimmermann U, Dazert E, Wruck CJ, Dazert P, Siegmund W, et al. Influence of polymorphisms of ABCB1 and ABCC2 on mRNA and protein expression in normal and cancerous kidney cortex. *The pharmacogenomics journal*. 2007;7(1):56-65.
18. Zhou Q, Sparreboom A, Tan EH, Cheung YB, Lee A, Poon D, et al. Pharmacogenetic profiling across the irinotecan pathway in Asian patients with cancer. *British journal of clinical pharmacology*. 2005;59(4):415-24.
19. Nozawa T, Minami H, Sugiura S, Tsuji A, Tamai I. Role of organic anion transporter OATP1B1 (OATP-C) in hepatic uptake of irinotecan and its active metabolite, 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin: in vitro evidence and effect of single nucleotide polymorphisms. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2005;33(3):434-9.
20. Huang L, Zhang T, Xie C, Liao X, Yu Q, Feng J, et al. SLCO1B1 and SLC19A1 gene variants and irinotecan-induced rapid response and survival: a prospective multicenter pharmacogenetics study of metastatic colorectal cancer. *PloS one*. 2013;8(10):e77223.
21. Teft WA, Welch S, Lenehan J, Parfitt J, Choi YH, Winkquist E, et al. OATP1B1 and tumour OATP1B3 modulate exposure, toxicity, and survival after irinotecan-based chemotherapy. *British journal of cancer*. 2015;112(5):857-65.
22. Di Martino MT, Arbitrio M, Leone E, Guzzi PH, Rotundo MS, Ciliberto D, et al. Single nucleotide polymorphisms of ABCC5 and ABCG1 transporter genes correlate to irinotecan-associated gastrointestinal toxicity in colorectal cancer patients: a DMET microarray profiling study. *Cancer biology & therapy*. 2011;12(9):780-7.
23. Han JY, Lim HS, Shin ES, Yoo YK, Park YH, Lee JE, et al. Influence of the organic anion-transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1) polymorphisms on irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 2008;59(1):69-75.
24. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European journal of cancer*. 2009;45(2):228-47.
25. ctep.cancer.gov. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 2016 [updated June 14, 2010; cited 2016 Sep 1]. Available from: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/ctc.htm.
26. Sznol M. Reporting disease control rates or clinical benefit rates in early clinical trials of anticancer agents: useful endpoint or hype? *Current opinion in investigational drugs (London, England : 2000)*. 2010;11(12):1340-1.
27. Board PDQATE. Colon Cancer Treatment (PDQ(R)): Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002.

28. Fleming M, Ravula S, Tatischev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2012;3(3):153-73.
29. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of surgical oncology*. 2010;17(6):1471-4.
30. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. แนวทางการตรวจคัดกรอง วินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง. 1 ed. กรุงเทพฯ: บริษัท โฆสิตการพิมพ์ จำกัด; 2558.
31. Gagne JF, Montminy V, Belanger P, Journault K, Gaucher G, Guillemette C. Common human UGT1A polymorphisms and the altered metabolism of irinotecan active metabolite 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38). *Molecular pharmacology*. 2002;62(3):608-17.
32. Guillemette C. Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes. *The pharmacogenomics journal*. 2003;3(3):136-58.
33. Mackenzie PI, Bock KW, Burchell B, Guillemette C, Ikushiro S, Iyanagi T, et al. Nomenclature update for the mammalian UDP glycosyltransferase (UGT) gene superfamily. *Pharmacogenetics and genomics*. 2005;15(10):677-85.
34. Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2000;40:581-616.
35. Michael M, Brittain M, Nagai J, Feld R, Hedley D, Oza A, et al. Phase II study of activated charcoal to prevent irinotecan-induced diarrhea. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2004;22(21):4410-7.
36. pharmgkb.org. Pathway of irinotecan (CPT-11) metabolism and transport in the hepatocyte Stanford, California: Shriram Center for Bioengineering and Chemical Engineering, Inc;2001. Available from: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA2029#tabview=tab0&subtab=>
37. Chu XY, Kato Y, Sugiyama Y. Multiplicity of biliary excretion mechanisms for irinotecan, CPT-11, and its metabolites in rats. *Cancer research*. 1997;57(10):1934-8.
38. Sugiyama Y, Kato Y, Chu X. Multiplicity of biliary excretion mechanisms for the camptothecin derivative irinotecan (CPT-11), its metabolite SN-38, and its glucuronide: role of canalicular multispecific organic anion transporter and P-glycoprotein. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 1998;42 Suppl:S44-9.
39. Franke RM, Gardner ER, Sparreboom A. Pharmacogenetics of drug transporters. *Current pharmaceutical design*. 2010;16(2):220-30.
40. ปิยะลัมพร หะวานนท์ วป. หลักการทำวิจัย : สู่ความสำเร็จในการปฏิบัติ. กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2555.
41. de Jong FA, Scott-Horton TJ, Kroetz DL, McLeod HL, Friberg LE, Mathijssen RH, et al. Irinotecan-induced diarrhea: functional significance of the polymorphic ABCC2 transporter protein. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2007;81(1):42-9.
42. Lara PN, Jr., Redman MW, Kelly K, Edelman MJ, Williamson SK, Crowley JJ, et al. Disease control rate at 8 weeks predicts clinical benefit in advanced non-small-cell lung cancer: results from Southwest Oncology Group randomized trials. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(3):463-7.
43. Provenzale D, Jasperson K, Ahnen DJ, Aslanian H, Bray T, Cannon JA, et al. Colorectal Cancer Screening, Version 1.2015. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2015;13(8):959-68; quiz 68.
44. Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, Scheithauer W, Abubakr YA, Lutz MP, et al. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure

in patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of clinical oncology* : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2008;26(14):2311-9.



APPENDIX



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

9. ชื่อเคมีบำบัดและขนาดยาที่ได้รับ

Dosage regimen	C1/...../...	C2/...../...	C3/...../...	C4/...../...	C5/...../...	C6/...../...
Dosage regimen	C7/...../...	C8/...../...	C9/...../...	C10/...../...	C11/...../...	C12/...../...

10. การปรับลดขนาดยา/เลื่อนให้ยา

การปรับขนาดยา/...../.../...../.../...../.../...../.../...../.../...../...
เหตุผล						

11. Previous treatment 1) Surgery 2) Radiotherapy 3) Chemotherapy

.....

12. ประวัติการดื่มแอลกอฮอล์ ไม่มี มี.....

13. ประวัติการสูบบุหรี่ ไม่มี มี.....

14. ประวัติการใช้อาหารเสริม สมุนไพร ยาแผนโบราณ ไม่มี มี

.....

15. อาการไม่พึงประสงค์จากยาเคมีบำบัด

อาการ	รอบการรักษา					
	C1 .../.../...	C2 .../.../...	C3 .../.../...	C4 .../.../...	C5 .../.../...	C6 .../.../...
ปวดหัวเวียนหัว						
อ่อนเพลีย						
เหนื่อยง่าย						
ปวดเมื่อยร่างกาย						
มือเท้าลอก						
การรับรสเปลี่ยน						
เจ็บปากมีแผลในปาก						
ปวดท้องท้องอืด						
ท้องเสีย						
ท้องผูก						
คลื่นไส้						
อาเจียน						
นอนไม่หลับ						
อื่นๆ						

อาการ	รอบการรักษา					
	C7 .../.../...	C8 .../.../...	C9 .../.../...	C10 .../.../...	C11 .../.../...	C12 .../.../...
ปวดหัวเวียนหัว						
อ่อนเพลีย						
เหนื่อยง่าย						
ปวดเมื่อยร่างกาย						
มือเท้าลอก						
การรับรสเปลี่ยน						
เจ็บปากมีแผลในปาก						
ปวดท้องท้องอืด						
ท้องเสีย						
ท้องผูก						
คลื่นไส้						
อาเจียน						
นอนไม่หลับ						
อื่นๆ						

16. แบบฟอร์มบันทึกผลทางห้องปฏิบัติการ

ผลทางห้องปฏิบัติการ	รอบการรักษา					
	C1 .../.../...	C2 .../.../...	C3 .../.../...	C4 .../.../...	C5 .../.../...	C6 .../.../...
CBC						
Hgb (g/dL) (12-15)						
Hct (36-45)						
WBC (4.5-11)						
Neutrophil (40-70.9)						
Platelet (150-450)						
ANC						
Blood chem						
Bilirubin direct (0.2)						
Bilirubin total (1.2)						
ALT (40)						
AST (33)						
ALP (40-120)						
Creatinine (0.5-1)						
BUN (7-10)						
อื่นๆ						
CEA						

ผลทางห้องปฏิบัติการ	รอบการรักษา					
	C7 .../.../...	C8 .../.../...	C9 .../.../...	C10 .../.../...	C11 .../.../...	C12 .../.../...
CBC						
Hgb (g/dL) (12-15)						
Hct (36-45)						
WBC (4.5-11)						
Neutrophil (40-70.9)						
Platelet (150-450)						
ANC						
Blood chem						
Bilirubin direct (0.2)						
Bilirubin total (1.2)						
ALT (40)						
AST (33)						
ALP (40-120)						
Creatinine (0.5-1)						
BUN (7-10)						
อื่นๆ						
CEA						

17. การตอบสนองต่อการรักษา

ผลรวมของเส้นผ่าศูนย์กลางที่ยาวที่สุด(cm)

(ก่อนการรักษา)..... (หลังการรักษา).....รอบที่.....

Progression free survival.....เดือน

ผลการตอบสนอง

1) Complete response

2) Partial response

3) Stable response

4) Disease progression

ผู้ป่วยจัดอยู่ในกลุ่ม

1) Responder

2) Non-responder

ผลการตรวจ Genotype*ABCC2* Polymorphisms

1) C/C

2) C/T

3) T/T

4) ระบุไม่ได้

SLCO1B1 Polymorphisms

1) G/G

2) G/A

3) A/A


4) ระบุไม่ได้



ผลทางห้องปฏิบัติการ	รอบการรักษา					
	C7 .../.../...	C8 .../.../...	C9 .../.../...	C10 .../.../...	C11 .../.../...	C12 .../.../...
CBC						
Hgb (g/dL) (12-15)						
Hct (36-45)						
WBC (4.5-11)						
Neutrophil (40-70.9)						
Platelet (150-450)						
ANC						
Blood chem						
Bilirubin direct (0.2)						
Bilirubin total (1.2)						
ALT (40)						
AST (33)						
ALP (40-120)						
Creatinine (0.5-1)						
BUN (7-10)						
อื่นๆ						
CEA						

Appendix B

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet)

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0 หน้า0/7
---	--	---	-----------------------------

คำชี้แจงผู้วิจัย ในการเขียนเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยตามตัวอย่างโครงร่าง

ผู้วิจัยสามารถปรับแก้ต้นแบบ (template) เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้เข้ากับบริบทงานวิจัยของตนเอง สามารถตัดหัวข้อที่ไม่เกี่ยวข้องออก เช่น ถ้าเป็นงานวิจัยที่ให้ตอบแบบสอบถามเท่านั้น สามารถตัดหัวข้อเรื่องความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือดออกเป็นต้น


เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ผู้วิจัยจัดทำเป็นครั้งแรก ให้ใส่เป็น Version 1.0 พร้อมลงวันที่ เดือน ปีที่จัดทำกำกับ ถ้ามีการแก้ไขครั้งที่ 1 ให้ใส่เป็น Version 2.0 พร้อมลงวันที่ เดือน ปีที่จัดทำกำกับและถ้ามีการแก้ไขอีกให้เปลี่ยน Version ใหม่พร้อมลงวันที่ เดือน ปีกำกับทุกครั้งที่มีการแก้ไข

ให้ลดการใช้ศัพท์แพทย์ ศัพท์เทคนิคให้เหลือน้อยที่สุด ในกรณีจำเป็นไม่มีคำศัพท์ภาษาไทย ให้เขียนทับศัพท์คำอ่านและวงเล็บภาษาอังกฤษต่อท้าย

ในกรณีที่วิธีดำเนินการวิจัยที่จะเกิดขึ้นกับอาสาสมัครมีหลายขั้นตอนและซับซ้อนควรสรุปเป็นตารางหรือแผนภาพ (Diagram) ให้เข้าใจง่าย

ในหัวข้อการจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ ขอให้ผู้วิจัยเลือกรวบรวมตัวอย่างชีวภาพที่เหลือเพียงข้อใดข้อหนึ่งเท่านั้น

หากโครงการวิจัยไม่มีการเก็บตัวอย่างทางชีวภาพ ขอให้ตัดส่วนของคำยินยอมและลงนามการเก็บตัวอย่างทางชีวภาพออก

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0
			หน้า1/7

ชื่อโครงการวิจัย : ผลของภาวะพหุสัญญาณของยีนABCC2และSLCO1B1ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทย

ผู้วิจัยหลัก

ชื่อ นางสาวอภัสรา ตรีเนตร นิสิตปริญญาโท
ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ 086-3758037

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์


ชื่อ อาจารย์เภสัชกรหญิง ดร.ณัฐดา อารีเปี่ยม
ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท
แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10330
เบอร์โทรศัพท์ 08-1622-2858

แพทย์ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ อาจารย์นายแพทย์สีบพงศ์ธนสารวิมล
ที่อยู่ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1873 ถนนพระรามที่ 4
แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน จังหวัดกรุงเทพมหานคร
เบอร์โทรศัพท์ 099-0956370

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคน ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้ ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่า จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0
			หน้า2/7

เหตุผลความเป็นมา

การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด สูตรยาที่มียาอิริโนทีแคนใช้เป็นยาสูตรผสมซึ่งได้รับการยอมรับให้เป็นยาทางเลือกแรกสำหรับรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจาย เพื่อลดอัตราการกลับเป็นซ้ำของโรคและลดอัตราการเสียชีวิตได้ แต่ในขณะเดียวกันการใช้อาจเกิดอาการข้างเคียงได้ เป็นสาเหตุให้ต้องลดขนาดยา ผู้ป่วยหยุดรับการรักษาหรือเสียชีวิต ซึ่งปัญหาดังกล่าวก่อให้เกิดความเสียหายต่อผู้ป่วยทั้งในแง่ของผลลัพธ์การรักษาที่ล้มเหลว จนนำไปสู่การเสียชีวิตที่เพิ่มมากขึ้น รวมทั้งความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจและสังคมของประเทศ นอกจากนี้ปัญหาการเกิดอาการข้างเคียงจากยาอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยด้วย การศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่ไม่แปรผัน ได้แก่ ยีน ซึ่งมีความแตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละรายต่อการตอบสนองต่อการรักษาและการเกิดอาการข้างเคียง มีการศึกษาอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ แต่ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาในประชากรชาวไทย ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะศึกษาผลของภาวะที่มีหลายรูปแบบของยีนเอบีซีซีทู (ABCC2) และเอสแอลซีโอวันบีวัน (SLCO1B1) ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทยเพื่อเป็นแนวทางในการเลือกยาให้กับผู้ป่วย เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพและเกิดอาการข้างเคียงจากยาน้อย

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาครั้งนี้ คือ เพื่อศึกษาผลของภาวะที่มีหลายรูปแบบของยีนเอบีซีซีทู (ABCC2) และเอสแอลซีโอวันบีวัน (SLCO1B1) ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทยและผลของภาวะที่มีหลายรูปแบบของยีนเอบีซีซีทู (ABCC2) และเอสแอลซีโอวันบีวัน (SLCO1B1) ต่อการเกิดผลข้างเคียงระดับรุนแรงจากยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทยจำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย 134 คน จากเก็บข้อมูลที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์


วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจะเจาะเลือดจำนวน 10 มิลลิลิตร (2 ซ้อนชา) เพื่อนำไปวิเคราะห์ภาวะที่มีหลายรูปแบบของยีนเอบีซีซีทู (ABCC2) และเอสแอลซีโอวันบีวัน (SLCO1B1) เมื่อเสร็จสิ้นการวิจัยแล้วข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับผู้เข้าร่วมในการวิจัยจะถูกทำลาย เช่น จะทำลายเลือด

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใครขอความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

เพื่อความปลอดภัย ท่านไม่ควรใช้วัคซีน หรือรับประทานยาอื่น จากการจ่ายยาโดยแพทย์อื่นหรือซื้อยาจากร้านขายยา ขอให้ท่านปรึกษาผู้ทำวิจัย ทั้งนี้เนื่องจากวัคซีน หรือยาดังกล่าวอาจมีผลต่อยาอิริโนทีแคนที่ท่านได้รับจากผู้ทำวิจัย ดังนั้นขอให้ท่านแจ้งผู้ทำวิจัยเกี่ยวกับยาที่ท่านได้รับในระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0
			หน้า3/7

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาปัจจัยในระดับยีนจึงต้องมีความจำเป็นในการเจาะเลือดจำนวน 10 มิลลิลิตร(2 ซ้อนชา) เพื่อนำไปวิเคราะห์ จึงมีความเสี่ยงเพียงเล็กน้อย เช่น ท่านอาจรู้สึกเจ็บบริเวณที่ถูกเจาะเลือด

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา


หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัย

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรงใดๆจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะทำให้คณะผู้วิจัยสามารถหาปัจจัยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดยาอิริโนทีแคนกับผู้ป่วยแต่ละรายที่มีและไม่มีภาวะที่มีหลายรูปแบบของยีนเอบีซีซีทู(*ABCC2*) และเอสเอลซีโอวันปีวัน(*SLCO1B1*)ซึ่งสามารถนำมาใช้ในทางคลินิกและแนวทางประกอบการตัดสินใจเลือกสูตรยาเคมีบำบัดที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายในอนาคต ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโดยรวมทุกคนที่จะได้รับการรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายด้วยยาเคมีบำบัดและนำไปสู่การรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยยืดอายุและเพิ่มคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0
			หน้า4/7

วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่น ๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้


- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การชื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัยทุกครั้งทันที หมายให้มาพบ

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการเข้าร่วมการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที หากท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมนักวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย(คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) ยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน อีกทั้งจะได้รับการชดเชยการสูญเสียเวลา เสียรายได้ตามความเหมาะสม ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นางสาวอภิสร่า ตรีเนตร นิสิตปริญญาโท ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330หมายเลขโทรศัพท์ 086-3758037และอาจารย์ นายแพทย์สืบพงษ์ธนสารวิมลหมายเลขโทรศัพท์ 099-0956370ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัย แต่ท่านจะได้รับค่าเดินทางเพื่อชดเชยในการสูญเสียรายได้หรือความไม่สะดวกสบายในการมาพบผู้วิจัย ครั้งละ 300 บาทต่อครั้ง จำนวน 1 ครั้ง

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0
			หน้า 5/7

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน ผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ผู้ตรวจสอบการวิจัย และหน่วยงานควบคุมระเบียบกฎหมาย สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม โดยไม่ละเมิดสิทธิของท่านในการรักษาความลับเกินขอบเขตที่กฎหมายและระเบียบกฎหมายอนุญาตไว้

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ของท่านให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้


การยกเลิกการให้ความยินยอม

หากท่านต้องการยกเลิกการให้ความยินยอมดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ นางสาวอภิสร่า ตรีเนตร นิสิตปริญญาโท ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัยและท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ


ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร เช่น เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยจะจัดการทำลายตามวิธีมาตรฐานทันทีที่เสร็จสิ้นการวิจัย

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09- 04/5.0 หน้า6/7
---	--	---	-----------------------------

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิดังต่อไปนี้

- ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
- ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
- ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
- ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
- ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
- ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
- ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
- ท่านจะได้รับทราบว่ากรยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
- ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
- ท่านมีสิทธิในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่หรือการหลอกลวง

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับ ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย	AF 09-04/5.0
			หน้า 7/7

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการ ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์/โทรสาร 0-2256-4493 ในเวลาราชการ หรือ e-mail : medchulairb@chula.ac.th


การลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ขอขอบคุณในการให้ความร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้



Appendix C

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย (Consent form)

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วม โครงการสำหรับอาสาสมัคร	AF 09- 05/5.0
			หน้า1/2

การวิจัยเรื่องผลของภาวะพหุสัญญาณของยีนABCC2และSLCO1B1ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทย

วันที่ทำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....ที่อยู่

.....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วม

โครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และวันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยและแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ


ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจสอบและประมวลผลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

	คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วม โครงการสำหรับอาสาสมัคร	AF 09- 05/5.0
			หน้า 2/2

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบการวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม
(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง
วันที่เดือน.....พ.ศ.....

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ

มีแต่ไม่มีการขอเก็บ

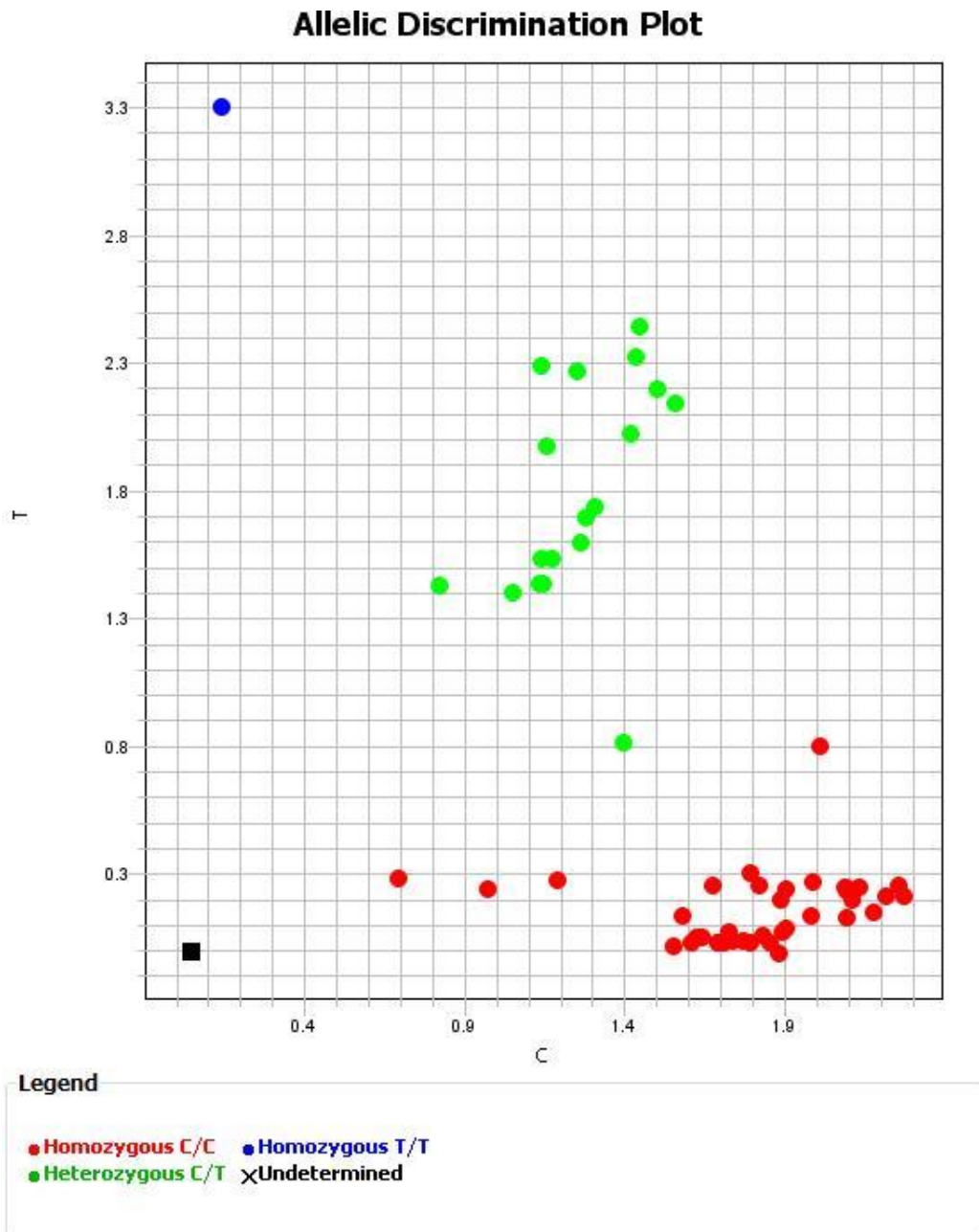
ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย
(.....นางสาวอภิสร่า ตรีเนตร.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง
วันที่เดือน.....พ.ศ.....

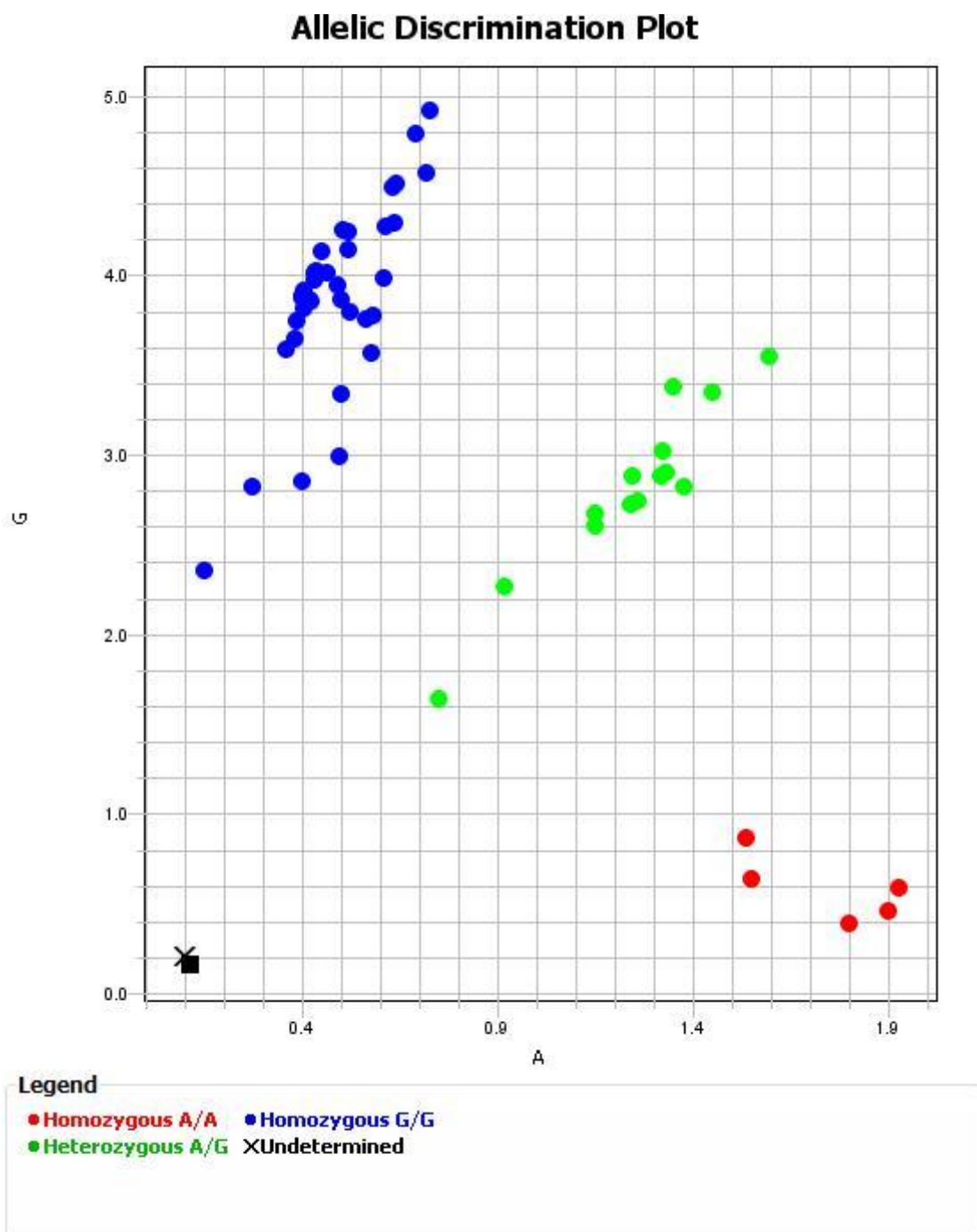
.....ลงนามพยาน
(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง
วันที่เดือน.....พ.ศ.....

Appendix D

Allelic Discrimination Plot *ABCC2* polymorphisms(C>T), Assay ID: rs 717620



Allelic Discrimination Plot *SLCO1B1**1b (388A > G), Assay ID: rs2306283



Appendix E

Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.03 June 14, 2010)

Common Terminology Criteria for Adverse Events					
Adverse Event	1	2	3	4	5
Blood and lymphatic system disorders					
1. Anemia	Hemoglobin (Hgb) <LLN-10.0 g/dL; < LLN-6.2 mmol/L; <LLN-100g/L	Hgb <10.0 - 8.0 g/dL; <6.2 - 4.9 mmol/L; <100 - 80g/L	Hgb <8.0 g/dL; <4.9 mmol/L; <80 g/L; transfusion indicated	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated	Death
2. Neutropenia, Neutrophil count decreased	<LLN - 1500/mm ³ ; <LLN - 1.5 x 10 ⁹ /L	<1500 - 1000/mm ³ ; <1.5 - 1.0 x 10 ⁹ /L	<1000 - 500/mm ³ ; <1.0 - 0.5 x 10 ⁹ /L	<500/mm ³ ; <0.5 x 10 ⁹ /L	-
3. Thrombocytopenia, Platelet count decreased	<LLN - 75,000/mm ³ ; <LLN - 75.0 x 10 ⁹ /L	<75,000 - 50,000/mm ³ ; <75.0 - 50.0 x 10 ⁹ /L	<50,000 - 25,000/mm ³ ; <50.0 - 25.0 x 10 ⁹ /L	<25,000/mm ³ ; <25.0 x 10 ⁹ /L	-
4. Febrile neutropenia	-	-	ANC < 1,000/mm ³ with a single temperature of > 38.3 degrees C or a sustained temperature of >=38 degrees C for more than one hour	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated	Death

Common Terminology Criteria for Adverse Events					
Adverse Event	1	2	3	4	5
Gastrointestinal system					
5.Diarrhea	Increase of <4 stools per day over baseline	Increase of 4 - 6 stools per day over baseline	Increase of 7-9 stools per day over baseline	Increase of ≥ 10 stools per day over baseline Life-threatening consequences	Death
6.Nausea	Loss of appetite without alteration in eating habits	Oral intake decreased without significant weight loss, dehydration or malnutrition	Inadequate oral caloric or fluid intake; tube feeding, TPN, or hospitalization indicated	-	-
7.Vomiting	1 - 2 episodes (separated by 5 minutes) in 24 hrs	3 - 5 episodes (separated by 5 minutes) in 24 hrs	≥ 6 episodes (separated by 5 minutes) in 24 hrs; tube feeding, TPN or hospitalization indicated	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated	Death
8. Abdominal pain	Mild pain	Moderate pain; limiting instrumental ADL	Severe pain; limiting self-care ADL	-	-
Metabolism and nutrition disorders					
9.Increased blood bilirubin	$>ULN - 1.5 \times ULN$	$>1.5 - 3.0 \times ULN$	$>3.0 - 10.0 \times ULN$	$>10.0 \times ULN$	-
10.Increased alanine aminotransferase (ALT)	$>ULN - 3.0 \times ULN$	$>3.0 - 5.0 \times ULN$	$>5.0 - 20.0 \times ULN$	$>20.0 \times ULN$	-

Common Terminology Criteria for Adverse Events					
Adverse Event	1	2	3	4	5
Metabolism and nutrition disorders					
11.Increased aspartate aminotransferase (AST)	>ULN - 3.0 x ULN	>3.0 - 5.0 x ULN	>5.0 - 20.0 x ULN	>20.0 x ULN	-
12.Alkaline phosphatase increased	>ULN - 2.5 x ULN	>2.5 - 5.0 x ULN	>5.0 - 20.0 x ULN	>20.0 x ULN	-
13.Dehydration	Increased oral fluids indicated; dry mucous membranes ; diminished skin turgor	IV fluids indicated	IV fluids or hospitalization indicated	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated	Death
14.Anorexia	Loss of appetite without alteration in eating habits	Oral intake altered without significant weight loss or malnutrition; oral nutritional supplements indicated	Associated with significant weight loss or malnutrition (e.g., inadequate oral caloric and/or fluid intake); tube feeding or TPN indicated	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated	Death
15.Weight loss	5 to <10 % from baseline; intervention not indicated	10 - <20% from baseline; nutritional support indicated	>=20% from baseline; tube feeding or TPN indicated	-	-
16.Increased creatinine	>1 - 1.5 x baseline; >ULN - 1.5x ULN	>1.5 - 3.0 x baseline; >1.5 - 3.0x ULN	>3.0 baseline; >3.0 - 6.0 x ULN	>6.0 x ULN	-

Appendix F

Grade and distribution of toxicities

Toxicities	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-2, N (%)	Grade 3-4, N (%)
Anemia	After Cycle 1	56	18(32.14)	36(64.29)	2(3.57)
	After Cycle 2	55	23(41.82)	31(56.36)	1(1.82)
	After Cycle 3	50	23(46)	25(50)	2(4)
	After Cycle 4	44	15(34.09)	26(59.09)	3(6.82)
	After Cycle 5	36	9(25)	26(72.22)	1(2.78)
	After Cycle 6	31	9(29.03)	21(67.74)	1(3.23)
	After Cycle 7	27	11(40.74)	16(59.26)	0(0)
	After Cycle 8	20	6(30)	13(65)	1(5)
	After Cycle 9	17	5(29.41)	11(64.70)	1(5.89)
	After Cycle 10	13	5(38.46)	8(61.54)	0(0)
	After Cycle 11	11	4(36.4)	8(63.6)	0(0)

Toxicities	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-2, N(%)	Grade 3-4, N(%)
Neutropenia	After Cycle 1	56	51(91.07)	3(5.36)	2(3.57)
	After Cycle 2	55	49(89.1)	5(9.1)	1(1.8)
	After Cycle 3	50	46(92)	4(8)	0(0)
	After Cycle 4	44	42(95.45)	2(4.55)	0(0)
	After Cycle 5	36	35(97.22)	1(2.78)	0(0)
	After Cycle 6	31	28(90.32)	3(9.68)	0(0)
	After Cycle 7	27	25(92.59)	2(7.41)	0(0)
	After Cycle 8	20	18(90)	2(10)	0(0)
	After Cycle 9	17	12(70.59)	3(17.65)	2(11.76)
	After Cycle 10	13	12(92.30)	1(7.70)	0(0)
	After Cycle 11	11	8(72.73)	1(9.09)	2(18.18)

Toxicities	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-2, N(%)	Grade 3-4,N(%)
Thrombocytopenia	After Cycle 1	56	47(83.93)	8(14.29)	1(1.78)
	After Cycle 2	55	47(85.45)	8(14.55)	0(0)
	After Cycle 3	50	43(86)	7(14)	0(0)
	After Cycle 4	44	37(84.09)	7(15.91)	0(0)
	After Cycle 5	36	32(88.89)	4(11.11)	0(0)
	After Cycle 6	31	26(83.87)	5(16.13)	0(0)
	After Cycle 7	27	22(81.48)	5(18.52)	0(0)
	After Cycle 8	20	13(65)	6(30)	1(5)
	After Cycle 9	17	13(76.47)	4(23.53)	0(0)
	After Cycle 10	13	9(69.23)	4(30.77)	0(0)
	After Cycle 11	11	8(72.73)	3(27.27)	0(0)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Headache	After Cycle 1	56	54(96.43)	2(3.57)
	After Cycle 2	53	49(92.45)	4(7.55)
	After Cycle 3	50	46(92.0)	4(8.0)
	After Cycle 4	44	40(90.91)	4(9.09)
	After Cycle 5	34	33(97.0)	1(3.0)
	After Cycle 6	31	30(96.77)	1(3.23)
	After Cycle 7	27	25(92.59)	2(7.41)
	After Cycle 8	20	19(95)	1(5)
	After Cycle 9	17	15(88.23)	2(11.77)
	After Cycle 10	13	13(100.0)	0(0.00)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Dizziness	After Cycle 1	56	46(82.14)	10(17.86)
	After Cycle 2	53	46(86.79)	7(13.21)
	After Cycle 3	50	44(88.0)	6(12.0)
	After Cycle 4	44	36(81.82)	8(18.18)
	After Cycle 5	34	31(91.18)	4(8.82)
	After Cycle 6	31	28(93.33)	3(6.67)
	After Cycle 7	27	23(85.19)	4(14.81)
	After Cycle 8	20	19(95)	1(5)
	After Cycle 9	17	16(94.12)	1(5.88)
	After Cycle 10	13	12(92.30)	1(7.70)
	After Cycle 11	11	9(81.81)	2(18.19)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Fatigue	After Cycle 1	56	41(73.21)	15(26.79)
	After Cycle 2	53	39(73.58)	14(26.42)
	After Cycle 3	50	44(88)	6(12)
	After Cycle 4	44	30(68.18)	14(31.82)
	After Cycle 5	34	27(79.42)	7(20.58)
	After Cycle 6	31	26(83.87)	5(16.13)
	After Cycle 7	27	20(74.07)	7(25.93)
	After Cycle 8	20	16(80)	4(20)
	After Cycle 9	17	13(76.47)	4(23.53)
	After Cycle 10	13	10(76.92)	3(23.08)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Nausea	After Cycle 1	56	40(71.43)	16(28.57)
	After Cycle 2	53	39(73.58)	14(26.42)
	After Cycle 3	50	40(80)	10(20)
	After Cycle 4	44	33(75)	11(25)
	After Cycle 5	34	25(73.52)	9(26.48)
	After Cycle 6	31	26(83.87)	5(16.13)
	After Cycle 7	27	20(74.07)	7(25.93)
	After Cycle 8	20	16(80)	4(20)
	After Cycle 9	17	12(70.58)	5(29.42)
	After Cycle 10	13	10(76.92)	3(23.08)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Vomiting	After Cycle 1	56	52(92.86)	4(7.14)
	After Cycle 2	53	49(92.45)	4(7.55)
	After Cycle 3	50	48(96)	2(4)
	After Cycle 4	44	40(90.91)	4(9.09)
	After Cycle 5	34	31(91.17)	3(8.83)
	After Cycle 6	31	26(83.87)	5(16.13)
	After Cycle 7	27	26(96.30)	1(3.70)
	After Cycle 8	20	18(90)	2(10)
	After Cycle 9	17	15(88.23)	2(11.77)
	After Cycle 10	13	11(84.61)	2(15.39)
	After Cycle 11	11	11(100)	0(0)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Constipation	After Cycle 1	56	47(83.93)	9(16.07)
	After Cycle 2	53	44(83.02)	9(16.98)
	After Cycle 3	50	41(82)	9(18)
	After Cycle 4	44	39(86.64)	5(11.36)
	After Cycle 5	34	27(79.41)	7(20.59)
	After Cycle 6	31	28(90.32)	3(9.68)
	After Cycle 7	27	23(85.19)	4(14.81)
	After Cycle 8	20	19(95)	1(5)
	After Cycle 9	17	15(88.23)	2(11.77)
	After Cycle 10	13	10(76.92)	3(23.08)
	After Cycle 11	11	9(81.81)	2(18.19)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Diarrhea	After Cycle 1	56	41(73.21)	15(26.79)
	After Cycle 2	53	36(67.92)	17(32.08)
	After Cycle 3	50	38(76)	12(24)
	After Cycle 4	44	33(75)	11(25)
	After Cycle 5	34	26(76.47)	8(23.53)
	After Cycle 6	31	27(87.09)	6(12.91)
	After Cycle 7	27	20(74.07)	7(25.93)
	After Cycle 8	20	15(75)	5(25)
	After Cycle 9	17	12(70.58)	5(29.42)
	After Cycle 10	13	10(76.92)	3(23.08)
	After Cycle 11	11	8(72.73)	3(27.27)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Abdominal pain	After Cycle 1	56	48(85.71)	8(14.29)
	After Cycle 2	53	49(92.45)	4(7.55)
	After Cycle 3	50	46(92)	4(8)
	After Cycle 4	44	40(90.91)	4(9.09)
	After Cycle 5	34	30(88.23)	4(11.77)
	After Cycle 6	31	28(90.32)	3(9.68)
	After Cycle 7	27	23(85.19)	4(14.81)
	After Cycle 8	20	20(100)	0(0)
	After Cycle 9	17	17(100)	0(0)
	After Cycle 10	13	12(92.30)	1(7.70)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Mucositis	After Cycle 1	56	49(87.50)	7(12.50)
	After Cycle 2	53	48(90.57)	5(9.43)
	After Cycle 3	50	43(86)	7(14)
	After Cycle 4	44	38(86.36)	6(13.64)
	After Cycle 5	34	32(94.11)	2(5.89)
	After Cycle 6	31	31(100)	0(0)
	After Cycle 7	27	26(96.30)	1(3.70)
	After Cycle 8	20	18(90)	2(10)
	After Cycle 9	17	15(88.24)	2(11.76)
	After Cycle 10	13	13(100)	0(0)
	After Cycle 11	11	11(100)	0(0)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Alopecia	After Cycle 1	56	44(78.57)	12(21.43)
	After Cycle 2	53	41(77.36)	12(22.64)
	After Cycle 3	50	37(74)	13(26)
	After Cycle 4	44	34(77.27)	10(22.73)
	After Cycle 5	34	25(73.52)	9(26.48)
	After Cycle 6	31	25(80.65)	6(19.35)
	After Cycle 7	27	22(81.48)	5(18.52)
	After Cycle 8	20	15(75)	5(25)
	After Cycle 9	17	14(82.35)	3(17.65)
	After Cycle 10	13	13(100)	0(0)
	After Cycle 11	11	11(100)	0(0)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
Somnolence	After Cycle 1	56	48(85.71)	8(14.29)
	After Cycle 2	53	45(84.90)	8(15.10)
	After Cycle 3	50	42(84)	8(16)
	After Cycle 4	44	36(81.82)	8(18.18)
	After Cycle 5	34	29(85.29)	5(14.71)
	After Cycle 6	31	25(80.65)	6(19.35)
	After Cycle 7	27	23(85.19)	4(14.81)
	After Cycle 8	20	19(95)	1(5)
	After Cycle 9	17	14(82.35)	3(17.65)
	After Cycle 10	13	10(76.92)	3(23.08)
	After Cycle 11	11	9(81.81)	2(18.19)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0,N(%)	Grade 1-4,N(%)
MP rash	After Cycle 1	56	54(96.43)	2(3.57)
	After Cycle 2	53	52(98.11)	1(1.89)
	After Cycle 3	50	49(98)	1(2)
	After Cycle 4	44	41(93.18)	3(6.82)
	After Cycle 5	34	34(100)	0(0)
	After Cycle 6	31	29(93.55)	2(6.45)
	After Cycle 7	27	27(100)	0(0)
	After Cycle 8	20	20(100)	0(0)
	After Cycle 9	17	17(100)	0(0)
	After Cycle 10	13	13(100)	0(0)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
Cholinergic syndrome	After Cycle 1	56	43(76.79)	13(23.21)
	After Cycle 2	53	41(77.36)	12(22.64)
	After Cycle 3	50	39(78)	11(22)
	After Cycle 4	44	36(81.82)	8(18.18)
	After Cycle 5	34	29(85.30)	5(14.70)
	After Cycle 6	31	29(93.54)	2(6.46)
	After Cycle 7	27	22(84.62)	4(15.38)
	After Cycle 8	20	12(60)	8(40)
	After Cycle 9	17	13(76.48)	4(23.52)
	After Cycle 10	13	12(92.30)	1(7.70)
	After Cycle 11	11	8(72.72)	3(27.28)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
Weight loss	After Cycle 1	56	55(98.21)	1(1.79)
	After Cycle 2	53	49(92.45)	4(7.55)
	After Cycle 3	50	44(88)	6(12)
	After Cycle 4	44	39(88.64)	5(11.36)
	After Cycle 5	34	30(88.24)	4(11.76)
	After Cycle 6	31	28(90.32)	3(9.68)
	After Cycle 7	27	25(92.59)	2(7.41)
	After Cycle 8	20	18(90)	2(10)
	After Cycle 9	17	15(88.24)	2(11.76)
	After Cycle 10	13	11(84.61)	2(15.39)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
AST increasing	After Cycle 1	56	53(94.64)	3(5.36)
	After Cycle 2	53	47(88.68)	6(11.32)
	After Cycle 3	50	47(94)	3(6)
	After Cycle 4	44	39(88.64)	5(11.36)
	After Cycle 5	34	34(100)	0(0)
	After Cycle 6	31	29(93.55)	2(6.45)
	After Cycle 7	27	25(92.59)	2(7.41)
	After Cycle 8	20	19(95)	1(5)
	After Cycle 9	17	15(88.24)	2(11.76)
	After Cycle 10	13	12(92.30)	1(7.70)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
ALT increasing	After Cycle 1	56	53(94.64)	3(5.36)
	After Cycle 2	53	50(94.34)	3(5.66)
	After Cycle 3	50	48(96)	2(4)
	After Cycle 4	44	42(95.45)	2(4.55)
	After Cycle 5	34	32(94.12)	2(5.88)
	After Cycle 6	31	28(90.32)	3(9.68)
	After Cycle 7	27	25(92.60)	2(7.40)
	After Cycle 8	20	19(95)	1(5)
	After Cycle 9	17	15(88.24)	2(11.76)
	After Cycle 10	13	12(92.30)	1(7.70)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
ALP increasing	After Cycle 1	56	53(94.64)	3(5.36)
	After Cycle 2	53	48(90.57)	5(9.43)
	After Cycle 3	50	49(98)	1(2)
	After Cycle 4	44	43(97.73)	1(2.27)
	After Cycle 5	34	34(100)	0(0)
	After Cycle 6	31	28(90.32)	3(9.68)
	After Cycle 7	27	27(100)	0(0)
	After Cycle 8	20	20(100)	0(0)
	After Cycle 9	17	13(76.47)	4(23.53)
	After Cycle 10	13	13(100)	0(0)
	After Cycle 11	11	10(90.91)	1(9.09)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
Cr increasing	After Cycle 1	56	55(98.21)	1(1.79)
	After Cycle 2	53	51(96.22)	2(3.78)
	After Cycle 3	50	50(100)	0(0)
	After Cycle 4	44	43(97.73)	1(2.27)
	After Cycle 5	34	34(100)	0(0)
	After Cycle 6	31	31(100)	0(0)
	After Cycle 7	27	27(100)	0(0)
	After Cycle 8	20	20(100)	0(0)
	After Cycle 9	17	17(100)	0(0)
	After Cycle 10	13	13(100)	0(0)
	After Cycle 11	11	11(100)	0(0)

Adverse event	No. of cycles	No. of patients	Grade 0, N (%)	Grade 1-4, N (%)
Bilirubin increasing	After Cycle 1	56	53(94.64)	3(5.36)
	After Cycle 2	53	50(94.34)	3(5.66)
	After Cycle 3	50	48(96)	2(4)
	After Cycle 4	44	43(97.73)	1(2.27)
	After Cycle 5	34	33(97.05)	1(2.95)
	After Cycle 6	31	29(93.54)	2(6.46)
	After Cycle 7	27	27(100)	0(0)
	After Cycle 8	20	20(100)	0(0)
	After Cycle 9	17	17(100)	0(0)
	After Cycle 10	13	13(100)	0(0)
	After Cycle 11	11	11(100)	0(0)

Appendix G

Association between factor and anemia

Total number of participants = 56					
Factor	N	Anemia after cycle 1		χ^2 value	P- value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Gender				1.152	0.532
▪ Male	36	34(94.44)	2(5.56)		
▪ Female	20	20(100)	0(0)		
Age				0.024	1.000
▪ ≤ 60 years	31	30(96.77)	1(3.23)		
▪ >60 years	25	24(96)	1(4)		
Performance status				5.744	0.139
▪ ECOG score=0	4	3(75)	1(25)		
▪ ECOG score=1	52	51(98.08)	1(1.92)		
Histology				3.927	0.269
▪ Well differentiated	22	22(100)	0(0)		
▪ Moderately differentiated	25	24(96)	1(4)		
▪ Poorly differentiated	6	5(83.33)	1(16.67)		
▪ No data	3	3(100)	0(0)		
Primary tumor site				1.247	0.536
▪ colon	21	21(100)	0(0)		
▪ sigmoid	18	17(94.44)	1(5.56)		
▪ rectum	17	16(94.11)	1(5.89)		
Metastatic site				2.074	0.722
▪ liver	14	13(92.86)	1(7.14)		
▪ lung	6	6(100)	0(0)		
▪ other ^a	8	8(100)	0(0)		
▪ lung and liver	14	14(100)	0(0)		
▪ liver or lung+other ^a	14	13(92.86)	1(7.14)		
Treatment line				0.982	0.612
▪ first line	8	7(100)	0(0)		
▪ second line	38	36(94.74)	2(5.26)		
▪ >second line	10	10(100)	0(0)		

Factor	N	Anemia after cycle 1		χ^2 value	P-value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Number of metastatic site				0.640	0.726
▪ 1	23	22(95.65)	1(4.35)		
▪ 2	20	19(95)	1(5)		
▪ >2	13	13(100)	0(0)		
Previous treatment				4.563	0.207
▪ Chemotherapy	5	4(80)	1(20)		
▪ Surgery+ chemotherapy	35	34(97.14)	1(2.86)		
▪ Surgery+ radiotherapy+ chemotherapy	12	12(100)	0(0)		
▪ Radiotherapy+chemotherapy	4	4(100)	0(0)		
Treatment regimen				1039	0.792
▪ Irinotecan	5	5(100)	0(0)		
▪ Irinotecan+ capecitabine	13	12(92.30)	1(7.70)		
▪ IFL	33	32(97)	1(3)		
▪ Irinotecan+other	4	4(100)	0(0)		
Irinotecan dose				2.228	0.328
▪ 100-125mg/m ²	27	25(92.59)	2(7.41)		
▪ 150mg/m ²	26	21(100)	0(0)		
▪ 180mg/m ²	3	3(100)	0(0)		

Abbreviation: ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group.

^a Includes peritoneal, pelvic, bladder, ovarian, spleen, ovary, bone

Association between factor and neutropenia

Total number of participants = 56					
Factor	N	Neutropenia after cycle 1		χ^2 value	P-value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Gender				3.73	0.123
▪ Male	36	36(100)	0(0)		
▪ Female	20	18(90)	2(10)		
Age				0.02	1.000
▪ ≤ 60 years	31	30(96.77)	1(3.23)		
▪ >60 years	25	24(96)	1(4)		

Factor	N	Neutropenia after cycle 1		χ^2 value	P-value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Performance status <ul style="list-style-type: none"> ▪ ECOG score=0 ▪ ECOG score=1 	4 52	3(75) 51(98.08)	1(25) 1(1.92)	5.74	0.139
Histology <ul style="list-style-type: none"> ▪ Well differentiated ▪ Moderately differentiated ▪ Poorly differentiated ▪ No data 	22 25 6 3	22(100) 23(92) 6(100) 3(100)	0(0) 2(8) 0(0) 0(0)	2.57	0.463
Primary tumor site <ul style="list-style-type: none"> ▪ colon ▪ sigmoid ▪ rectum 	21 18 17	19(90.48) 18(100) 17(100)	2(9.52) 0(0) 0(0)	3.45	0.178
Metastatic site <ul style="list-style-type: none"> ▪ liver ▪ lung ▪ other^a ▪ lung and liver ▪ liver or lung+other^a 	14 6 8 14 14	14(100) 6(100) 8(100) 13(92.86) 13(92.86)	0(0) 0(0) 0(0) 1(7.14) 1(7.14)	2.07	0.722
Treatment line <ul style="list-style-type: none"> ▪ first line ▪ second line ▪ >second line 	8 38 10	7(87.50) 37(97.37) 10(100)	1(12.50) 1(2.63) 0(0)	2.32	0.314
Number of metastatic site <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1 ▪ 2 ▪ >2 	23 20 13	23(100) 19(95) 12(92.31)	0(0) 1(5) 1(7.69)	1.61	0.447
Previous treatment <ul style="list-style-type: none"> ▪ Chemotherapy ▪ Surgery+chemotherapy ▪ Surgery+radiotherapy+chemotherapy ▪ Radiotherapy+Chemotherapy 	5 35 12 4	5(100) 33(94.29) 12(100) 4(100)	0(0) 2(5.71) 0(0) 0(0)	1.24	0.742

Factor	N	Neutropenia after cycle 1		χ^2 value	P-value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Treatment regimen				1.446	0.695
▪ Irinotecan	5	5(100)	0(0)		
▪ Irinotecan+capecitabine	13	12(92.31)	1(7.69)		
▪ IFL	33	31(93.94)	2(6.06)		
▪ Irinotecan+other	4	4(100)	0(0)		
Irinotecan dose				2.393	0.302
▪ 100-125mg/m ²	27	27(100)	0(0)		
▪ 150mg/m ²	26	24(92.30)	2(7.70)		
▪ 180mg/m ²	3	3(100)	0(0)		

Association between factor and thrombocytopenia

Total number of participants = 56					
Factor	N	thrombocytopenia after cycle 1		χ^2 value	P-value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Gender				1.833	0.357
▪ Male	36	36(100)	0(0)		
▪ Female	20	19(95)	1(5)		
Age				0.821	1.000
▪ ≤ 60 years	31	30(96.77)	1(3.23)		
▪ >60 years	25	25(100)	0(0)		
Performance status				5.744	0.139
▪ ECOG score=0	4	4(100)	0(0)		
▪ ECOG score=1	52	51(98.08)	1(1.92)		
Histology				1.574	0.665
▪ Well differentiated	22	21(95.50)	1(4.50)		
▪ Moderately differentiated	25	25(100)	0(0)		
▪ Poorly differentiated	6	6(100)	0(0)		
▪ No data	3	3(100)	0(0)		
Primary tumor site				1.697	0.428
▪ colon	21	20(95.24)	1(4.76)		
▪ sigmoid	18	18(100)	0(0)		
▪ rectum	17	17(100)	0(0)		

Factor	N	thrombocytopenia after cycle 1		χ^2 value	P- value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Metastatic site				3.055	0.549
▪ liver	14	14(100)	0(0)		
▪ lung	6	6(100)	0(0)		
▪ other ^a	8	8(100)	0(0)		
▪ lung and liver	14	14(100)	0(0)		
▪ liver or lung+other ^a	14	13(92.86)	1(7.14)		
Treatment line				0.482	0.786
▪ first line	8	8(100)	0(0)		
▪ second line	38	37(97.37)	1(2.63)		
▪ >second line	10	10(100)	0(0)		
Number of metastatic site				3.368	0.186
▪ 1	23	23(100)	0(0)		
▪ 2	20	20 (100)	0(0)		
▪ >2	13	12(92.30)	1(7.70)		
Previous treatment				0.611	0.894
▪ Chemotherapy	5	5(100)	0(0)		
▪ Surgery+chemotherapy	35	34(97.14)	1(2.86)		
▪ Surgery+radiotherapy+ chemotherapy	12	12(100)	0(0)		
▪ Radiotherapy+ chemotherapy	4	4(100)	0(0)		
Treatment regimen				0.710	0.871
▪ Irinotecan	5	5(100)	0(0)		
▪ Irinotecan+capecitabine	13	13(100)	0(0)		
▪ IFL	33	32(96.97)	1(3.03)		
▪ Irinotecan+other	5	5(100)	0(0)		
Irinotecan dose				1.175	0.556
▪ 100-125mg/m ²	27	27(100)	0(0)		
▪ 150mg/m ²	26	25(96.15)	1(3.85)		
▪ 180mg/m ²	3	3(100)	0(0)		

Abbreviation: ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group.

^a Includes peritoneal, pelvic, bladder, ovarian, spleen, ovary, bone

Association between factor and diarrhea

Total number of participants = 56					
Factor	N	diarrhea after cycle 1		χ^2 value	P- value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Gender				0.566	1.000
▪ Male	36	35(97.22)	1(2.78)		
▪ Female	20	20(100)	0(0)		
Age				0.821	1.000
▪ ≤ 60 years	31	30(96.77)	1(3.23)		
▪ >60 years	25	25(100)	0(0)		
Performance status				0.078	1.000
▪ ECOG score=0	4	4(100)	0(0)		
▪ ECOG score=1	52	51(98.08)	1(1.92)		
Histology				8.485	0.037
▪ Well differentiated	22	22(100)	0(0)		
▪ Moderately differentiated	25	25(100)	0(0)		
▪ Poorly differentiated	6	5(83.33)	1(16.67)		
▪ No data	3	3(100)	0(0)		
Primary tumor site				2.336	0.311
▪ colon	21	21(100)	0(0)		
▪ sigmoid	18	18(100)	0(0)		
▪ rectum	17	16(94.12)	1(5.88)		
Metastatic site				3.055	0.549
▪ liver	14	13(92.86)	1(7.14)		
▪ lung	6	6(100)	0(0)		
▪ other ^a	8	8(100)	0(0)		
▪ lung and liver	14	14(100)	0(0)		
▪ liver or lung+other ^a	14	14(100)	0(0)		
Treatment line				0.482	0.786
▪ first line	8	8(100)	0(0)		
▪ second line	38	37(97.37)	1(2.63)		
▪ >second line	10	10(100)	0(0)		
Number of metastatic site				1.46	0.482
▪ 1	23	22(95.65)	1(4.35)		
▪ 2	20	20 (100)	0(0)		
▪ >2	13	13(100)	0(0)		

Factor	N	diarrhea after cycle 1		χ^2 value	P- value
		Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
Previous treatment				10.38	0.016*
▪ Chemotherapy	5	4(80)	1(20)		
▪ surgery+chemotherapy	35	35(100)	0(0)		
▪ Surgery+radiotherapy+ chemotherapy	12	12(100)	0(0)		
▪ radiotherapy+chemotherapy	4	4(100)	0(0)		
Treatment regimen				3.36	0.338
▪ Irinotecan	5	5(100)	0(0)		
▪ Irinotecan+capecitabine	13	12(92.30)	1(7.70)		
▪ IFL	33	33(100)	0(0)		
▪ Irinotecan+other	5	5(100)	0(0)		
Irinotecan dose				1.09	0.579
▪ 100-125mg/m ²	27	26(96.30)	1(3.70)		
▪ 150mg/m ²	26	26(100))	0(0)		
▪ 180mg/m ²	3	3(100)	0(0)		

Abbreviation: ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group.

^a Includes peritoneal, pelvic, bladder, ovarian, spleen, ovary, bone



Appendix H

Association between genetic polymorphism and toxicity in combined genotype
(*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*)

Total number of participants 56						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	anemia after cycle 1		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	11	10(90.91)	1(9.09)	1.682	0.641
AA+AG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		
GG	CC	26	25(96.20)	1(3.80)		
GG	CT + TT	11	11(100)	0(0)		

Total number of participants 55						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	anemia after cycle 2		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	10	9(90)	1(10)	4.58	0.205
AA+AG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		
GG	CC	26	26 (96.20)	0(0)		
GG	CT + TT	11	11(100)	0(0)		

Total number of participants 56								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	anemia after cycle 1		P- value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		8	8(100)	0(0)	1.000	0.958	0.90	1.01
other		48	46(95.80)	2(4.20)				

Total number of participants 55								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	anemia after cycle 2		P- value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		8	8(100)	0(0)	1.000	0.97	0.93	1.02
other		47	46(97.90)	1(2.10)				

Total number of participants 56						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 1		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	11	11(100)	0(0)	2.67	0.445
AA+AG	CT + TT	8	7(87.50)	1(12.50)		
GG	CC	26	25(96.20)	1(3.80)		
GG	CT + TT	11	11(0)	0(0)		

Total number of participants 55						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 2		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	10	10(100)	0(0)	5.98	0.112
AA+AG	CT + TT	8	7(87.50)	1(12.50)		
GG	CC	26	26(100)	0(0)		
GG	CT + TT	11	11(100)	0(0)		

Total number of participants 56								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 1		P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lower	Upper
AA+AG and CT + TT		8	7(87.50)	1(12.50)	0.268	6.71	0.37	120.0
other		48	47(97.90)	1(2.10)				

Total number of participants 55								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 2		P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lower	Upper
AA+AG and CT + TT		8	7(87.50)	1(12.50)	0.145	1.14	0.88	1.48
other		47	47(100)	0(0)				

Total number of participants 56						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	thrombocytopenia after cycle 1		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	11	11(100)	0(0)	4.16	0.244
AA+AG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		
GG	CC	26	26(100)	0(0)		
GG	CT + TT	11	10(90.91)	1(9.09)		

Total number of participants 56								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	thrombocytopenia after cycle 1		P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lower	Upper
AA+AG and CT + TT		8	8(100)	0(0)	1.000	0.97	0.94	1.02
other		48	47(97.90)	1(2.10)				

Total number of participants 56						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 1		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	11	10(90.91)	1(9.09)	4.16	0.244
AA+AG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		
GG	CC	26	26(100)	0(0)		
GG	CT + TT	11	11(100)	0(0)		

Total number of participants 53						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 2		χ^2 test	<i>P</i> -value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	10	9(90)	1(10)	2.06	0.558
AA+AG	CT + TT	6	6(100)	0(0)		
GG	CC	26	23(88.50)	3(1.50)		
GG	CT + TT	11	11(100)	0(0)		

Total number of participants 50						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 3		χ^2 test	<i>P</i> -value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	10	10(100)	0(0)	2.25	0.521
AA+AG	CT + TT	6	6(100)	0(0)		
GG	CC	26	22(91.70)	2(8.30)		
GG	CT + TT	11	10(100)	0(0)		

Total number of participants 56								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 1		<i>P</i> - value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		8	8(100)	0(0)	1.000	0.97	0.94	1.02
other		48	47(97.90)	1(2.10)				

Total number of participants 53								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 2		P- value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		6	6(100)	0(0)	1.000	0.91	0.83	0.99
other		47	43(91.50)	4(8.50)				

Total number of participants 50								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 3		P- value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		6	6(100)	0(0)	1.000	0.95	0.89	1.01
other		44	42(95.50)	2(4.50)				

Appendix I

Association between genetic polymorphisms and severe anemia in combined genotype in IFL regimen (*ABCC2* and *SLCO1B1*1b*)

Total number of participants 33						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	anemia after cycle 1		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 0-2 (%)		
AA+AG	CC	5	5(100)	0(0)	1.40	0.706
AA+AG	CT + TT	6	6(100)	0(0)		
GG	CC	14	13(92.90)	1(7.10)		
GG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		

Total number of participants 33								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	anemia after cycle 1		P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo-wer	Up-per
AA+AG and CT + TT		6	6(100)	0(0)	1.000	0.96	0.89	1.03
other		27	26(96.30)	1(3.70)				

Total number of participants 33						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 1		χ^2 test	<i>P</i> -value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	5	5(100)	0(0)	2.05	0.561
AA+AG	CT + TT	6	5(83.30)	1(6.70)		
GG	CC	14	13(92.90)	1(7.10)		
GG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		

Total number of participants 33						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 2		χ^2 test	<i>P</i> -value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	5	5(100)	0(0)	4.64	0.200
AA+AG	CT + TT	6	5(83.30)	1(12.50)		
GG	CC	14	14(100)	0(0)		
GG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		

Total number of participants 33								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 1		<i>P</i> -value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		6	5(83.30)	1(6.70)	0.335	5.20	0.27	97.6
other		27	26(96.30)	1(3.70)				

Total number of participants 33								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	neutropenia after cycle 2		P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lower	Upper
AA+AG and CT + TT		6	5(83.30)	1(16.70)	0.182	1.20	0.83	1.71
other		27	27(100)	0(0)				

Total number of participants 56						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	thrombocytopenia after cycle 1		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	5	5(100)	0(0)	3.22	0.359
AA+AG	CT + TT	6	6(100)	0(0)		
GG	CC	14	14(100)	0(0)		
GG	CT + TT	8	7(87.50)	1(12.50)		

Total number of participants 33								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	thrombocytopenia after cycle 1		P-value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lower	Upper
AA+AG and CT + TT		6	6	0	1.000	0.96	0.89	1.03
other		27	26	0				

Total number of participants 31						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 2		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	5	5(100)	0(0)	2.59	0.458
AA+AG	CT + TT	4	4(100)	0(0)		
GG	CC	14	12(85.70)	2(14.3)		
GG	CT + TT	8	8(100)	0(0)		


Total number of participants 29						
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 3		χ^2 test	P-value
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)		
AA+AG	CC	5	5(100)	0(0)	2.64	0.450
AA+AG	CT + TT	4	4(100)	0(0)		
GG	CC	13	11(84.60)	2(5.40)		
GG	CT + TT	7	7(100)	0(0)		

Total number of participants 31								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	diarrhea after cycle 2		P- value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		4	4(100)	0(0)	1.000	0.92	0.83	1.03
other		27	25(92.60)	2(7.40)				

Total number of participants 29								
<i>SLCO1B1</i> allele	<i>ABCC2</i> allele	N	delay diarrhea after cycle 3		<i>P</i> - value	OR	95% CI	
			Grade 0-2 (%)	Grade 3-4 (%)			Lo- wer	Up- per
AA+AG and CT + TT		4	4(100)	0(0)	1.000	0.92	0.82	1.03
other		25	23(92)	2(8)				



Appendix J



COA No. 073/2017
IRB No. 699/59

**คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**
1873 ถ.พระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4493

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ : ผลของภาวะพหุสัญญาณของยีน *ABCC2* และ *SLCO1B1* ต่อการตอบสนองเคมีบำบัดด้วยยาอิริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายชาวไทย

เลขที่โครงการวิจัย : -

ผู้วิจัยหลัก : นางสาวอภิสร่า ตรีเนตร

สังกัดหน่วยงาน : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีทบทวน : แบบเร่งด่วน

รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

เอกสารรับรอง :

1. โครงร่างการวิจัย Version 3.0 Date 16 January 2017
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 2.0 Date 4 January 2017
3. เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2.0 Date 4 January 2017
4. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการสำหรับอาสาสมัคร Version 2.0 Date 4 January 2017
5. แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย Version 3.0 Date 16 January 2017
6. ประวัติผู้วิจัย
7. GCP Training



8. Budget Version 1.0 Date 1 November 2016

ลงนาม *อนันต์*

(ศาสตราจารย์กิตติคุณแพทย์หญิงธาดา สีบหลินวงศ์)

ประธาน

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

ลงนาม..... *ดร.ณภัทรา*

(ดร.ณภัทรา บัวทอง)

กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการปฏิบัติหน้าที่แทนเลขานุการ

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

วันที่รับรอง : 25 มกราคม 2560

วันหมดอายุ : 24 มกราคม 2561

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)



COA No. 073/2017
IRB No. 699/59

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
1873 Rama 4 Road, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4493

Certificate of Approval

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

Study Title : EFFECTS OF *ABCC2* AND *SLCO1B1* POLYMORPHISMS ON THE TREATMENT RESPONSES OF IRINOTECAN-BASED CHEMOTHERAPY IN THAI METASTATIC COLORECTAL CANCER PATIENTS

Study Code : -

Principal Investigator : Miss Apatsara Treenert

Affiliation of PI : Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University.

Review Method : Expedited

Continuing Report : At least once annually or submit the final report if finished.

Document Reviewed :

1. Research Proposal Version 3.0 Date 16 January 2017
2. Protocol Synopsis Version 2.0 Date 4 January 2017
3. Information sheet for research participant Version 2.0 Date 4 January 2017
4. Informed consent for participating volunteers Version 2.0 Date 4 January 2017
5. Case Record Form Version 3.0 Date 16 January 2017
6. Curriculum Vitae



- 7. GCP Training
- 8. Budget Version 1.0 Date 1 November 2016

Signature: Tada Sueblinvong
(Emeritus Professor Tada Sueblinvong MD)
Chairperson
The Institutional Review Board

Signature: Napakkawat Buathong
(Napakkawat Buathong, PhD)
Member and Assistant Secretary, Acting
The Institutional Review Board

Date of Approval : January 25, 2017

Approval Expire Date : January 24, 2018

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

VITA

Apatsara Treenert was born on 9 September in 1987. She graduated with High School from Nakhonnayok Witthayakhom School in 2006 and Bachelor degree in Pharmaceutical Sciences from Ubon Ratchathani University in 2011. Then she has work a pharmacist at Armed Forces Academies Preparatory School, Nakhon Nayok Thailand. Currently her is studying a Master degree in Clinical Pharmacy from Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

