



T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CYP2C9 VE VKORC1 POLİMORFİZMLERİNİN DERİN VEN
TROMBOZLU (DVT) HASTALARDA VARFARİN (KUMADİN)
DOZLAMINDAKİ ETKİSİ**

Bio. Cansu KARA ÖZTABAĞ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK-2017

BOLU



T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CYP2C9 VE VKORC1 POLİMORFİZMLERİNİN DERİN VEN
TROMBOZLU (DVT) HASTALARDA VARFARİN (KUMADİN)
DOZLAMINDAKİ ETKİSİ**

Bio. Cansu KARA ÖZTABAĞ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. A. Akçahan GEPDİREMEN

Doç. Dr. Selma DÜZENLİ

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2016.08.36.1111)

OCAK-2017 BOLU

Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Farmakoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Akçahan GEPDİREMEN

(imza)

Farmakoloji, AİBÜ

Prof. Dr. Özge UZUN

(imza)

Farmakoloji, AİBÜ

Prof. Dr. Güler BUĞDAYCI

(imza)

Tıbbi Biyokimya, AİBÜ

Tarih: 13/01/2017

Bu tez ile AİBÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Cansu KARA ÖZTABAĞ'ın Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Erol AYZAZ

(imza)

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

*Jüri Başkanı

**Tez danışmanı

ÖZET

Bio. Cansu KARA ÖZTABAĞ. CYP2C9 ve VKORC1 Polimorfizmlerinin Derin Ven Trombozlu (DVT) Hastalarda Varfarin (Kumadin) Dozlamındaki Etkisi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bolu, 2016

Derin ven trombozu (DVT) alt veya üst ekstremitelerde derin yerleşimli ana toplardamarların pıhtı ile tıkanmasıdır. Derin ven trombozunun (DVT) başlıca nedenleri toplardamarlarda duvar zedelenmesi, kan akımının yavaşlaması ya da kanda pıhtılaşmaya yol açan faktörler (genetik) olabilir. Derin ven trombozunun önemli tehlikesi pulmoner emboliye neden olabilmesidir. DVT tanısı alan hastalarda tedaviye antikoagülan uygulanması ile başlanır. Günümüzde gelişmiş dünya nüfusunun %1-2'si Varfarin'i düzenli olarak kullanmaktadır. Varfarin bir K vitamini antagonistidir. Oluşan pıhtı heparin ile eritilir, varfarin ise damarlarda veya kalpte pıhtı oluşmasını, pıhtı mevcutsa pıhtının yaygınlaşmasını önler. Varfarin'in farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin çevresel ve genetik pek çok faktörden etkilenmesi nedeniyle hastaların ihtiyaç duyduğu optimum doz değişkenlik gösterir. İlaç metabolizmasında rol alan enzimlerin sentez hızının ve/veya niteliğinin değişkenlik göstermesinin ana nedeni genetik polimorfizmlerdir. Bu genetik etkenler arasında Varfarin metabolizmasından sorumlu olan VKORC1 ve CYP2C9 öne çıkmaktadır. Bu genlerdeki polimorfizmlerin bilinmesi varfarin başlama dozunun optimum doza daha yakın olabilmesini sağlar. Dolayısı ile INR stabilizasyonu daha hızlı olur ve pıhtılaşmanın önlenmesi ve aşırı kanama riski arasındaki denge daha hızlı sağlanır. Bu nedenle bu çalışmada DVT tanısı almış 132 olgu aracılığı ile CYP2C9 ve VKORC1 genlerinin etkisini Türk toplumunda ortaya koymayı amaçlamaktayız. Çalışmaya dahil edilen olgular arasında, en sık görülen CYP2C9 genotipi %69.8 ile *1/*1 iken en nadir olanları ise %1.5 ile *2/*2 ve *2/*3, VKORC1 genotipleri açısından ise en sık görülen %55.6 ile G/A (C/T heterozigot) genotipi olurken, en nadir görüleni %14.4 ile G/G (C/C homozigot yabanıl tip) olarak gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarımız beyaz ırkta ve Türk popülasyonunda yapılan çalışmalar ile uyum gösterirken, Japon ve Çin popülasyonlarında yapılan çalışmalar ile büyük farklılıklar göstermektedir.

Türk popülasyonu üzerinde yaptığımız çalışmanın, kişiye özgü tıp adına varfarin dozunun hızlı ve hastanın ilaç yan etkilerine daha az maruz kalması sağlanarak ayarlanmasında, kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Derin Ven Trombozu (DVT), varfarin, VKORC1, CYP2C9, kişiye özgü tıp, farmakogenetik.



ABSTRACT

Bio. Cansu KARA ÖZTABAĞ. The Influence of CYP2C9 and VKORC1 Polymorphisms on Warfarin (Coumadin) Dosing in Patients with Deep Vein Thrombosis (DVT). Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bolu, 2016

Deep vein thrombosis is the blockage of a deep vein by a clot, in the upper or lower extremities. The main causes of deep vein thrombosis (DVT) can be the damage of blood vessel walls in veins, decreased blood flow rate, or the factors that affect coagulation (genetic). The significant danger of DVT is that it can lead to pulmonary embolism. In patients who get the diagnosis of DVT, the treatment starts with anticoagulant drugs. Today, 1-2% of the population in developed countries use warfarin regularly. Warfarin is a vitamin-k antagonist. Heparin cause thrombolysis of clots, while warfarin prevents spreading of existing thrombus or formation of new ones in heart or in veins. Because warfarin's pharmacokinetic and pharmacodynamics features are affected by many factors; extrinsic or genetic, the optimum dosage that the patients need show a wide range. The main reason for it, is that the synthesis rate and/or quality of enzymes which play role in drug metabolism show genetic polymorphism. Among these genetic factors, VKORC1 and CYP2C9, which are responsible for Warfarin metabolism. are significant. It has been shown that understanding the genotypes about these two genes are useful in the initial dosage of warfarin. It can be much closer to optimum dosage. So, the INR stabilization is more rapid and the balance between the prevention of clotting and the risk of overbleeding is made quicker. For this reason, through the 132 cases who took diagnosis with DVT, our aim is to reveal the effect of two genes, CYP2C9 and VKORC1 in Turkish people. Among the cases which are included in our study, the most common CYP2C9 genotype is *1/*1 with a rate of 69.8%; while the 2/*2 and *2/*3 are the least observed ones with a percentage of 1.5%. The most common VKORC1 genotype is G/A (C/T heterozygote) at 55.6%; while the least observed VKORC1 genotype is G/G (C/C homozygote wild type) with a rate of 14.4%. The results of study are compatible with the studies made in the White race and the Turkish population. On the other hand, it differs greatly with the studies made on the Japanese and Chinese population.

It is thought that our study which we made on Turkish population, will make it easier to adjust the warfarin dosage fast and in a way that enables patients to less exposure to the side effects of the medicine.

Keywords: Deep Vein Thrombosis (DVT), Warfarin, VKORC1, CYP2C9, individualized medicine, pharmacogenetics



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez dönemimde de özveri ve sabırla çalışmalarına destek olan tez danışmanım, değerli hocam, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. Akçahan GEPDİREMEN'e**;

Bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yanımda olan, ekibinde çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca ve tezimin tüm aşamalarında her türlü bilgi, destek ve tecrübelerini hoşgörü ve sabırla paylaşan kıymetli hocam, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı **Doç. Dr Selma Düzenli'ye**;

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen değerli hocam **Prof. Dr. Özge UZUN'a**;

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında beraber çalıştığımız tüm ekip arkadaşlarıma,

Mutlu bir çocukluk geçirip, sevgi dolu bir hayat sürmemde büyük payı olan birbirinden kıymetli canımdan öte teyzelerim, halalarım, amcalarım, yengem, kuzenlerim ve tüm **KARA Ailesi'ne**,

Bolu da bana sıcacık bir yuva kuran her zaman destekleri ve sevgileriyle yanımda olan güzel ailem **Rahmi, Birsen ve Tuba ÖZTABAĞ'ya**

Hayatıma girdiği günden itibaren güzellikler getiren, sevgisini, desteğini her zaman hissettiren, yaşam koçum, mutluluk sebebim, en büyük motivasyon kaynağım, canım eşim **Emircan ÖZTABAĞ'ya**

Hayatımın her aşamasında yanımda olduğunu bildiğim en büyük güvencem, yüksek lisans diplomamı hediye edeceğim kıymetlim, canımdan öte biricik babam **Ethem KARA**, sıcacık yüreğini her zaman kalbimde hissettiğim, bir prenses gibi büyütüp yetiştiren, azmi ve başarıyı öğrendiğim en güzel idolüm biricik annem **YASEMİN KARA** ve olgun tavırlarıyla en güzel sırdaş, en iyi destekçi, hayatım boyunca yaslanacağım bir omuz, sevgi dolu bir kardeş kısacası herşeyim olan canım kardeşim **Çağla Nur KARA'ya**

Sonsuz teşekkürlerimle...

Bio. Cansu KARA ÖZTABAĞ

Bolu 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar	viii
ŞEKİLLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. PIHTILAŞMA (KOAGÜLASYON):	5
2.2. DERİN VEN TROMBOZU	7
2.2.1. TANIM VE TARİHÇE	7
2.2.2. PREVALANS	7
2.2.3. ETİYOPATOGENEZ	7
2.2.4. TANI KRİTERLERİ.....	9
2.2.4.1. KLİNİK.....	9
2.2.4.2. LABORATUVAR TESTLERİ VE GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ	11
2.2.4.3. GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ:	12
2.2.5. DERİN VEN TROMBOZUNUN PROGNOZU	13
2.2.6. DERİN VEN TROMBOZUNDA TEDAVİ	13
2.2.6.1. ANTİKOAGÜLAN TEDAVİ.....	14
2.2.6.1.1. HEPARİN	15
2.2.6.1.2. ORAL ANTİKOAGÜLANLAR.....	17
2.2.7. VARFARİN	18
2.2.7.1. TARİHÇESİ.....	18
2.2.7.2. VARFARİN'İN ETKİ MEKANİZMASI	18
2.2.7.3. VARFARİN DOZLAMASI.....	20
2.2.7.4. EMİLİM VE DAĞILIM	20
2.2.7.6. VARFARİN'İN İLAÇ ETKİLEŞİMLERİ VE DİĞER ETKİLEŞİMLERİ. 24	
2.2.7.7. VARFARİN'İN TOKSİK ETKİLERİ	25
2.3. GENEL FARMAKOGENETİK	26
2.3.1. SİTOKROM P450 ENZİM AİLESİ	27
2.3.1.1. CYP2C ALT GRUPLARI	29

2.3.2. VKORC1.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. ÖRNEKLEM	34
3.2. CYP2C9 VE VKORC1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ.....	34
3.2.1. DNA İZOLASYONU	34
3.2.1.1. DNA İZOLASYONU İÇİN KULLANILAN KİMYASALLAR.....	35
3.2.1.2. KANDAN DNA İZOLASYONU AŞAMASI: PROTOKOL, AŞAĞIDAKİ BASAMAKLARDAN OLUŞMAKTADIR	35
3.2.2. REAL TIME PCR.....	36
3.2.2.1. GENEL OLARAK PCR, 3 ANA BASAMAKTAN OLUŞUR	36
3.2.2.2. PCR KARIŞIMINDA BULUNAN BİLEŞENLER.....	36
3.3. CYP2C9 VE VKORC1 MUTASYONLARININ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	37
3.4. CYP2C9 VE VKORC1 POLİMORFİZM TESPİTİ.....	38
3.5. İSTATİSTİKSEL METOD.....	39
4.BULGULAR	40
4.1. OLGULARIN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	40
5.TARTIŞMA	46
5.1. CYP2C9*2-*3 VE VKORC1 GENOTİPLERİ İLE LİTERATÜR BİLGİLERİNİN FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
7.KAYNAKLAR	51
8. ÖZGEÇMİŞ	56

TABLULAR

Tablo 2.1: Virchow triadı ve oluşumunda etkili faktörler (3) (2).....	8
Tablo 2.2: Derin ven trombozu için primer ve sekonder risk faktörleri (3).....	8
Tablo.2.3: DVT Semptom ve Bulguları (3).....	9
Tablo 2.4: Derin ven trombozu tanısında klinik risk skorlaması (Wells) (26).	10
Tablo 2.5: Varfarin endikasyonları ve ideal INR değerleri (3).....	15
Tablo 2.6: CYP2C9 allel ve metabolizör fenotipleri	31
Tablo 2.7: VKORC1 geni genotipleri ve metabolizör tipleri.....	33
Tablo 3.1: Erime Derecelerine Göre CYP2C9 Allellerinin Tespiti.....	39
Tablo 3.2: Erime Derecelerine Göre VKORC1 Fenotiplerinin Tespiti	39
Tablo 4.1: Kadın ve erkek olguların CYP2C9*2-*3 genotip frekansları.	40
Tablo 4.2: DVT'li kadın ve erkek olguların VKORC1 G-1639A genotip frekansları.	41
Tablo 4.3: DVT'li kadın ve erkek olguların VKORC1 G-1639A genotip frekansları.	41
Tablo 4.4: CYP2C9 genotiplerinin VKORC1 G1639A genotipleri üzerinde dağılımı.	41
Tablo 4.5: İlaç metabolizasyon hızlarının DVT'li olgularda cinsiyete göre dağılımı.	42
Tablo 4.6: İlaç metabolizasyon hızlarının DVT'li olgular ile DVT ve Pulmoner Emboli endikasyonu olan olgular üzerinde dağılımı.	42
Tablo 4.7: DVT'li olgularda CYP2C9 genotiplerine göre ortalama INR dağılımları.	43
Tablo 4.8: DVT'li olgularda VKORC1 G1639A genotiplerine göre ortalama INR dağılımları.	43
Tablo 4.9: CYP2C9 genotiplerine göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.....	43
Tablo 4.10: VKORC1 G1639A genotiplerine göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.	44
Tablo 4.11: VKORC1 C1173T genotiplerine göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.	44
Tablo 4.12: İlaç metabolizasyon hızına göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.	44
Tablo 4.13: CYP2C9 genotiplerine göre DVT ve PE endikasyonu bulunan olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.	45
Tablo 4.14: VKORC1 G1639A genotiplerine göre DVT ve PE endikasyonu bulunan olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci ferakansları.	45
Tablo 4.15: İlaç metabolizasyon hızına göre DVT ve PE endikasyonu bulunan olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.	45
Tablo 5.1: CYP2C9 ve VKORC1 genotiplerine göre Varfarin dozlamı (99).....	46

ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Pıhtılaşma (Koagülasyon) kaskadı (17).....	6
Şekil 2.2: Derin ven trombozu şüphesi olan hastalarda tanı algoritması (27).	10
.....	10
Şekil 2.3: Varfarin'nin yapısal formülü. (48).....	18
Şekil 2.4: Varfarin metabolizması ve K vitamini döngüsü (43)	19
Şekil 2.5: Sitokrom p450 enzimlerinin yaptığı hidroksillenme olaylarının basamağı. (51).....	22
Şekil 2.6: Varfarin'in metabolizasyonunda sitokrom p450 enzimi ve VKORC1'in rolü (14).....	24
Şekil 2.7: Sitokrom p450 enzimlerinin adlandırılması. (72).....	28
Şekil 2.8: CYP450 elektron transport zinciri. (72)	29
Şekil 2.9: Sitokrom p450 enzimlerinin katalizlediği genel reaksiyon. (72).....	29
Şekil 2.10: CYP2C9 geninin lokasyonu (85).....	30
Şekil 2.11: Vitamin K siklusu (89)	32
Şekil 2.12: VKORC1 geninin lokasyonu (85)	33
Şekil 3.1: CYP2C9 Mutasyonu Erime Eğrileri	37
Şekil 3.2: VKORC1 Mutasyonu Erime Eğrileri	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A III: Antitrombin III

APTZ: Aktif parsiyel tromboplastin zamanı

BT: Bilgisayarlı Tomografi

°C: derece santigrad

CYP2C9: Sitokrom P450 enzimi "Cytochrome P450 enzyme"

DD: D-Dimer

DMAH: Düşük molekül ağırlıklı heparin

DVT: Derin Ven Trombozu "Deep Vein Thrombosis"

EP: Pulmoner Emboli

INR: İnternasyonal Normalize Oran "Internasyonal Normalized Ratio"

MR: Manyetik Rezonans

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PT: Protrombin Zamanı Testi

PZ: Protrombin zamanı

RDUS: Renkli Dopler Ultrasonografi

rpm: Revolution per minute

RT-PCR: real time-PCR

UFH: Unfraksiyone heparin

VKORC1: Vitamin K Epoksit Redüktaz Kompleks Subunit 1

VKA: Vitamin K Antagonisti

VTE: Venöz Tromboembolizm

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Derin ven trombozu (DVT) alt ve üst ekstremitelerde derin yerleşimli damarların pıhtı ile tıkanmasıdır. Venöz sistemin herhangi bir yerinde görülebilecek sistemik bir hastalıktır. DVT'nin başlıca nedenleri staz, endotel hasarı veya hiperkoagülabilite olabilir. Bu faktörlerin yanı sıra ileri yaş, obezite, hamilelik ve lohusalık dönemi, bazı tümör hastalıkları, ortopedi ameliyatları, uzun süren yatak istirahatleri, uzun süren yolculuklar, belirli ilaçların kullanılması (örneğin östrojen içeren oral kontraseptifler, menopozda hormon tedavisi vs.) (1,2,3) doğuştan bulunan veya yaşamın sonraki evrelerinde ortaya çıkan pıhtılaşma sorunları ve genetik faktörler DVT riskini arttıran faktörler arasında yer almaktadır. (4)

Önemli tehlikesi pulmoner emboliye (PE) neden olabilmesidir. Olguların yaklaşık %10-15'inde PE görülebilir, fakat insidansı kesin olarak bilinmemektedir. DVT zamanında teşhis ve tedavi edilmediğinde ciddi morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır. DVT'nin standart tedavisi trombüs gelişimi ve embolizasyonunun önlenmesine yöneliktir. DVT tanısı alan hastalarda tedavi antikoagülan uygulanması ile başlanır. Günümüzde gelişmiş dünya nüfusunun %1-2'si Varfarini düzenli olarak kullanmaktadır. Varfarin bir K vitamini antagonistidir. Varfarin oluşan pıhtıyı eritmez fakat damarlarda veya kalpte pıhtı oluşmasını, pıhtı mevcutsa pıhtının yaygınlaşmasını önler. Antikoagülan etkinin amaçlandığı durumlarda en sık kullanılan antikoagülan olarak dar bir terapötik indekse (10mg ile 100 mg/hafta) sahip olan (5) varfarinin dozlanmasında subterapötik dozda pıhtı oluşumu, yüksek dozda ise INR değeri yükselerek kanamaya yol açabilmesi gibi yan etkilerin önlenmesi amacı ile Varfarin'in uygulanacağı hastaların bu ilacı metabolize etme hızları önem taşımaktadır. (6) Bireylerin varfarin metabolizasyon hızı genetik olarak tespit edilebilmektedir. (7) Genetik farklılıklar sonucunda; yavaş, orta ve hızlı metabolizör olmak üzere üç çeşit fenotip ortaya çıkmaktadır (8). Enzim polimorfizmi, o enzimi sentez ettiren genin noksan veya inaktif olması şeklindeyse bu enzim üzerinden olan ilaç metabolizması meydana gelmez. Eğer enzim azalmış olarak kısmen sentez ediliyorsa metabolizma hızı azalmıştır. İlaçların metabolizmasından sorumlu olan enzimlerin sentezinin veya yapısının bozulmuş olduğu fenotipe yavaş metabolizör denir. Yavaş metabolizörlerde

ilaç eliminasyon hızı azalır, ilacın dolaşımında bulunma süresi artar, dolayısı ile ilacın etkisi şiddetlenir ve toksik belirtiler ortaya çıkabilir; bu nedenle yavaş metabolizörlerin başlangıç ve idame dozu diğer fenotiplere göre daha az olmalıdır. Orta metabolizörler; ilaçlara karşı optimum terapötik cevap için ortalama ilaç dozundan fayda görürler. (8) Varfarinin metabolizması üzerinde etkisi olduğu bilinen iki önemli polimorfizm vardır; VKORC1 ve CYP2C9 (9,10). Varfarin vücutta etkisini vitamin K epoksit redüktaz(VKOR) enzimini inhibe ederek göstermektedir ve vitamin K epoksitredüktaz kompleks subunit 1 (VKORC1) gen mutasyonunun varfarinin farmakodinamiğini etkilediği saptanmıştır (8). (VKORC1 1639 GG ve 1173 CC) Varfarin üzerinde etkisi olan genetik faktörlerden bir diğeri ise sitokrom p450 süper ailesinin yüksek polimorfik karaciğer enzimidir. CYP2C9 major ilaç metabolize eden CYP450'nin izoformlarından biridir. CYP2C9 genel olarak karaciğerde eksprese olur. Faz 1 metabolizasyonuna maruz kalan ilaçların %15-20'sinin klirensinden CYP2C9'un sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. CYP2C9'da genetik polimorfizmler bulunur ve ilaçlara karşı terapötik tepkiyi etkileyebilir. CYP2C9 geninin 6 farklı genotipi ve 3 farklı metabolizör fenotipi mevcuttur. Bunlar CYP2C9 *1/*1, CYP2C9 *1/*2, CYP2C9 *1/*3, CYP2C9 *2/*2, CYP2C9 *3/*3 ve CYP2C9 *2/*3'dür. (8) Dolayısı ile bu çalışmanın konusu antikoagülan kullanan DVT'li hastalarda ilgili genotiplerin Varfarin ilaç dozlamasındaki öneminin ortaya konmasıdır.

Antikoagülanların kişiye uygun dozda verilmesi elzemdir. Hali hazırda ki uygulamalar doğru dozun denenerek tespit edilmeye çalışılmasıdır. Pıhtılaşmanın önlenmesi ve aşırı kanama riski arasında bir denge sağlamak amacıyla ilaçların çok dikkatli izlenmesi gerekir. Belirli aralıklar ile hastaların internasyonel normalize oranları (INR) kontrol edilir (1). INR değeri tedavide kullanılan kan sulandırıcı (antikoagülan) ilaçların etkilerini izlemek amacıyla kullanılır. Birçok laboratuarda PT yani protrombin zamanı testi sonuçları, antikoagülan ilaç kullanan hastalar için INR'na göre rapor edilir. DVT tedavisinde de INR değerleri hekimlere yol göstermektedir. Erken evre derin ven trombozunda ilk olarak heparin tedavisi uygulanır. Oluşan pıhtı heparin ile tedavi edilmeye çalışılır. İntravenöz verildiğinde etki hemen başlar ve venöz tromboz tedavisinde heparinle beraber varfarin de başlanır (1). Varfarin damarlarda veya kalpte pıhtı oluşmasını, pıhtı mevcutsa pıhtının yaygınlaşmasını önler. Fakat oluşmuş olan pıhtıyı eritmez. Hastanın INR'si arka

arkaya 2 gün 2.0 ve üzerinde sonuçlandırıldığında heparin tedavisi kesilir (1). Uygulanan heparin tedavisinin ardından hastanın kliniği ve risk faktörlerine göre değişen sürelerde oral antikoagülan tedavi uygulanır. Yine bu süreç boyunca hastalar ilacın yan etkilerine maruz kalma tehlikesi yaşamaktadır. Kişiyeye uygun dozun daha hızlı ve daha doğru bir şekilde tespit edilmesi hastaları yan etkilerden koruyacak, hekimin daha rahat ilaç kullanımını sağlayacak ve olası yan etkilerin aza indirgenmesi sağlık ekonomisine destek sağlayacaktır. Sayılan sebeplerden dolayı çalışmanın faydalı olacağı düşünülmektedir.

Antikoagülan kullanan DVT'li hastalarda varfarin metabolizasyon hızının, hastaya verilen doz ile uyumunu karşılaştırarak, ilgili genotiplerin ilaç dozlamasındaki önemi açısından ülkemizde çok fazla çalışma bulunmamasına karşın dünya çapında benzer çalışmalar mevcuttur. Hintli bir popülasyonda yapılan araştırmaya göre; varfarin kullanan hastaların allel sıklıklarına göre ortalama günlük idame dozları VKORC11639 GG ve 1173 CC (wild-tip/hızlı metabolizör) için 4.72 mg/gün, VKORC 1-1639 GA ve 1173 CT (heterozigot/orta metabolizör) allelleri için 3.74, VKORC1-1639 AA ve 1173 TT (homozigot/yavaş metabolizör) allelleri için 2.07'dir (11). Tayland da yapılan bir araştırmaya göre ise genotipler ve ortalama dozlar; VKORC1 AA için 3.6 mg/gün, GA için 4.7 mg/gün ve GG için 7.4 mg/gün dür (12). Beyaz ırk üzerinde yapılan bir diğer araştırmaya göre ise CYP2C9 genotiplerinin günlük ortalama idame dozları sırası ile 36.5, 29.1, 23.5, 28.0, 18.1 ve 5.5 mg/hafta (CYP2C9 *1/*1, CYP2C9 *1/*2, CYP2C9 *1/*3, CYP2C9 *2/*2, CYP2C9 *3/*3 ve CYP2C9 *2/*3.) olarak hesaplanmıştır (13). Bu bulgular dahilinde ırklara göre fenotipler arası varfarin dozlamında (mg/gün) farklılıklar gözlenmektedir. Bu sebeple Türk popülasyonu üzerinde yapılmasını planladığımız çalışmanın, kişiyeye özgü varfarin dozunun hızlı ve hastanın ilaç yan etkilerine daha az maruz kalması sağlanarak ayarlanmasında, kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir.

Günümüzde gelişmiş dünya nüfusunun %1-2'si bu oral antikoagülanı (Varfarin) düzenli olarak kullanmaktadır (14). Varfarin bir K vitamini antagonistidir. Varfarin oluşan pıhtıyı eritmez fakat damarlarda veya kalpte pıhtı oluşmasını, pıhtı mevcutsa pıhtının yaygınlaşmasını önler (1). Varfarinin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin çevresel ve genetik pek çok faktörden etkilenmesi nedeniyle tüm

bireylerde sabit dozda kullanımı mümkün değildir (5). Varfarin kullananlar arasında oldukça geniş doz değişkenliği gözlenmektedir. Aynı kişide bile zaman içinde sık doz değişikliği gerekebilmektedir, bu nedenle hastalar ilacın yan etkilerine maruz kalma tehlikesi yaşamaktadır. Kişiyeye uygun dozun daha hızlı ve daha doğru bir şekilde tespit edilmesi hastaları yan etkilerden koruyacak, hekimin daha rahat ilaç kullanımını sağlayacaktır ve olası yan etkilerin aza indirgenmesi sağlık ekonomisine destek sağlayacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

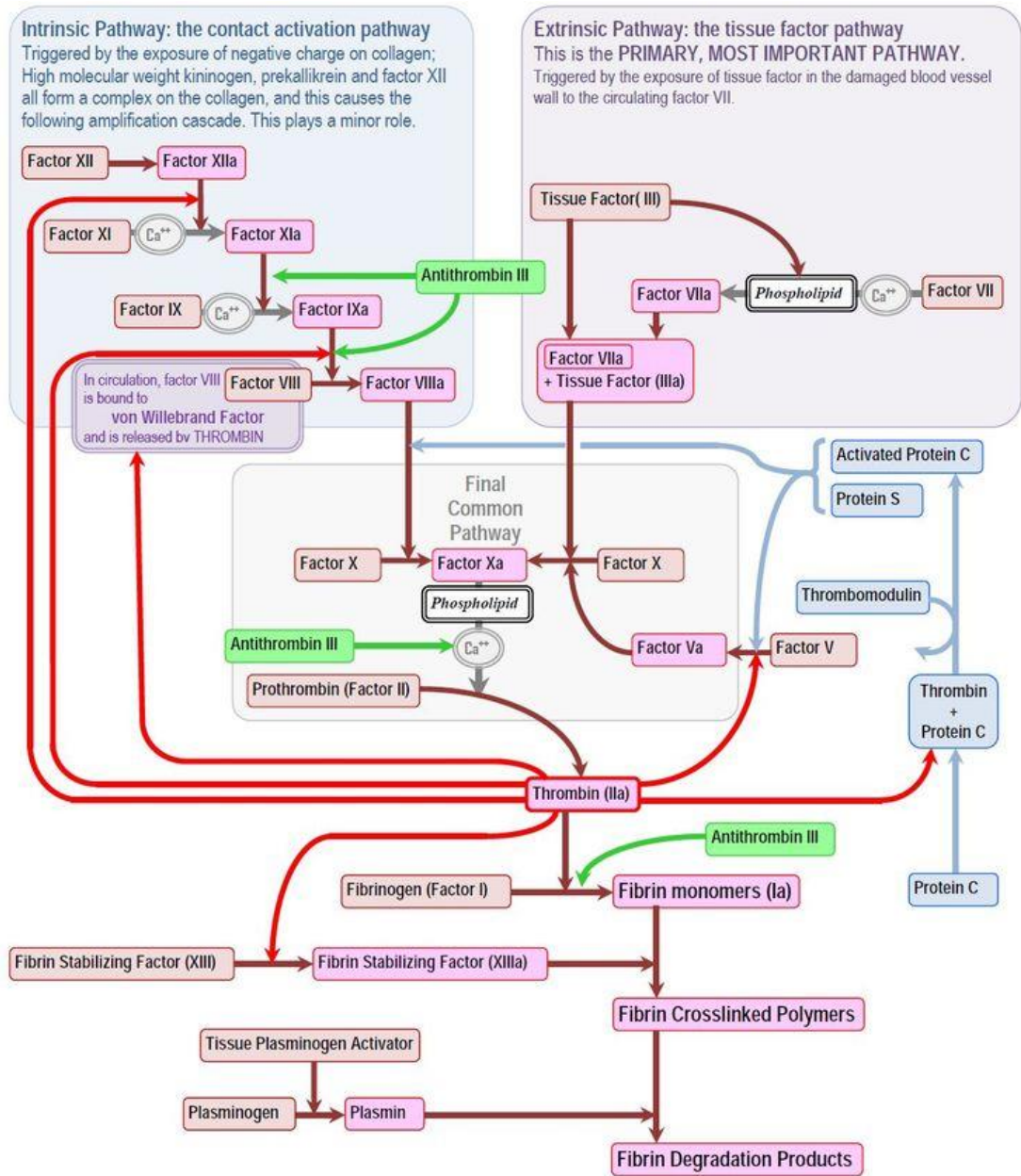
2.1. Pıhtılaşma (Koagülasyon):

Pıhtılaşma, kanamanın durması sırasında damar dışında ve tromboz sırasında damar içinde meydana gelir. Pıhtılaşma mekanizması ise; sağlam damarlarda dolaşan kanın dışarı çıkmasını önleyen ve damar duvarında bir hasar olduğunda kanamayı durduran mekanizmaya denir. Bu mekanizma ile sıvı olan kan, pıhtıya dönüşür. Meydana gelen fibrin trombozu sağlam bir tıkaç meydana getirerek kanamanın devamlı olarak durmasını sağlar (15) .

Pıhtılaşma mekanizmasında, 10'dan fazla pıhtılaşma faktörleri rol oynamaktadır. Önemli bir bölümünü (faktör II, VII, IX, X, XI, XII ve prekallikrein) fonksiyonel bakımdan vit K bağımlı serin proteazlar oluşturmaktadır. Vit K bağımlı serin proteazların diğerlerinden farklı olarak Ca^{+2} ve K vitaminine ihtiyaçları vardır (8).

Pıhtılaşma kaskadı ekstrinsek ve intrinsek olmak üzere iki yolla açıklanmaktadır. Doku faktörü ekstrinsek yolu başlatırken, faktör XII ve trombositlerin damar duvarındaki kollejenle teması intrinsek yolu aktive eder. Doku faktörü (TF) sayesinde ekstrinsek yolda pıhtılaşma 15 sn gibi kısa bir sürede oluşurken, intrinsek yolda pıhtılaşmanın oluşması 1-6 dk 'dır (16) (Şekil 2.1).

Şekil 2.1: Pıhtılaşma (Koagülasyon) kaskadı (17)



2.2. Derin Ven Trombozu

2.2.1. Tanım ve Tarihçe

Derin ven trombozu (DVT) alt veya üst ekstremitelerde derin venlerin gelişen trombüslerle onun dallarında yarattığı tıkanıklık ve kan akımındaki kesintilerdir (18). Zamanında teşhis ve tedavi edilmediğinde ciddi morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır (5). Yaşamı tehdit eden en önemli tehlikesi ise pulmoner embolidir (19). DVT multifaktöriyel bir hastalıktır, hastalarda birden fazla risk faktörü bir arada bulunabilir. Risk faktörleri arttıkça DVT geçirme riski o kadar artar (20).

2.2.2. Prevalans

Farklı topluluklarda yapılan DVT prevalans çalışmalarında benzer sonuçlar elde edilmiş olup yaş ve cinsiyet faktörleri göz önünde bulundurulduğunda görülme sıklığı yılda ortalama 100.000 kişide 50-200 arasında değişiklik göstermektedir. DVT insidansı yaşla birlikte artış göstermektedir, 20 yaş altında nadir rastlanılırken 70 yaş üzerinde 100.000 kişide 200 olguda görülebilmektedir. Bazı çalışmalar da DVT'nin erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülebileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda DVT'nin bir yılda görülme oranı erkeklerde 10.000 kişide 13 iken kadınlarda 10.000 kişide 11 olarak bulunmuştur (21,2,1).

2.2.3. Etiyopatogenez

Derin ven trombozu multifaktöriyel bir hastalıktır. Etiyopatogenezini 1856 yılında Virchow tarafından, Virchow (triadı) üçlüsü olarak tanımlanmıştır. Bu teoriye göre; endotel disfonksiyonu (endotel hasarı-işlev bozukluğu), hiperkoagülabilitate ve staz (kan akımında yavaşlama) olmak üzere üç temel patogenetik mekanizma ile açıklanmış olup günümüzde hala geçerliliğini sürdürmektedir (Tablo 2.1) (3,2). Staz ve endotel disfonksiyonu en önemli risk faktörleridir (22). Teknolojinin gelişmesi ile birlikte bu mekanizmalara kalıtımla geçen (primer) ve sonradan edinilen (sekonder) risk faktörleri de eklenmiştir (Tablo 2.2) (2,3).

Tablo 2.1: Virchow triadı ve oluşumunda etkili faktörler (3,2).

Venöz staz	Endotel disfonksiyonu	Hiperkoagülabilité
<ul style="list-style-type: none">• Uzun süren yatak istirahati, uzun seyahat, cerrahi girişime bağlı hareketsizlik• Tümör, obezite, gebeliğe bağlı venöz obstrüksiyon• Kardiyomiyopati, konjesyon kalp yetersizliği ve miyokard infarktüsüne bağlı sol ventrikül yetersizliği• Atriyal fibrilasyon	<ul style="list-style-type: none">• Damar yaralanması / taravması• Kateter takılması• Derin ven trombozu öyküsü• Yapay kalp kapağı• Akut miyokard infarktüsü• Cerrahi girişim• Kemik kırıkları• Kalp damar hastalığı• Tümör invazyonu• Yanık	<p>Edinsel trombofililer</p> <ul style="list-style-type: none">• Derin ven trombozu öyküsü• Cerrahi girişimler• Antifosfolipid antikor sendromları <p>Kalıtımsal trombofililer</p> <ul style="list-style-type: none">• Aktive protein C direnci• Faktör V Leiden mutasyonu• Protrombin gen (G20210A) mutasyonu• Protein C/S eksikliği• Aile öyküsü

Tablo 2.2: Derin ven trombozu için primer ve sekonder risk faktörleri (3).

Primer risk faktörleri (Kalıtımsal)		Sekonder risk faktörleri (Edinsel)
<p>Sık Rastlananlar</p> <ul style="list-style-type: none">• Faktör V Leiden• Protein C eksikliği• Protein S eksikliği• Protrombin (G20210A) mutasyonu• Antikardiyolipin antikorları• Hiperhomosisteinemi	<p>Nadir Rastlananlar</p> <ul style="list-style-type: none">• Konjenital disfibrinojemi• Trombomodulin• Aşırı plasminojen aktivatör inhibitörü• Faktör VII eksikliği	<ul style="list-style-type: none">• Travma• Cerrahi• İmmobilite• Gebelik• Lohusalık• Kalp yetersizliği• Nefrolojik sendrom• Hormon replasman tedavisi• Sigara• Uzun yolculuk• İleri yaş• Malignite• Kemoterapi• Alt ekstremitede/ pelvis travması veya kırığı

2.2.4. Tanı kriterleri

Derin ven trombozu (DVT) şüphesi olan olgularda doğru ve zamanında teşhis büyük önem taşımaktadır; tedavi edilmemiş trombüs ölümcül pulmoner emboliye neden olabilmektedir. Hekime başvuru esnasında en sık rastlanan semptom ağrı olup, bunu duyarlılık, eritem, ısı artışı, gode bırakan ödem, şişlik veya ayağın dorsofleksiyonu ile gelişen baldır ağrısı olarak tanımlanan Homans belirtisi gibi klinik semptom ve bulgular takip eder (Tablo 2.3) (23).

Tablo.2.3: DVT Semptom ve Bulguları (3)

Semptom/Bulgu	Duyarlılık %	Özgüllük %
Bacak ağrısı	66-81	3-87
Bacak hassasiyeti	56-82	26-74
Homans belirtisi	13-48	39-84
Bacakta ödem	35-97	11-88

Sadece klinik belirtilere dayanarak DVT tanısı koymak güvenilir bir yöntem değildir. Aynı klinik bulgular bacak travması, yüzeysel ven trombozu ve postflebit sendromu gibi başka hastalık süreçlerindedey görülebilmektedir (24). Derin ven trombozundan şüphelenilen olguların ancak %25'inde tanı testlerle doğrulanabilmektedir. Bu nedenle tanıyı kesinleştirmek için klinik inceleme, laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri birleşirebilmektedir (25).

2.2.4.1. Klinik

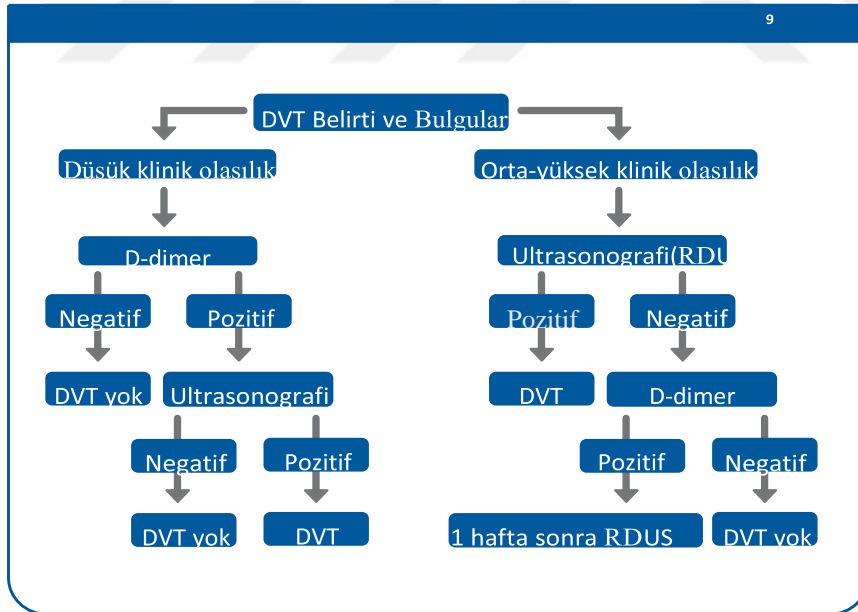
DVT tanı sürecindeki ilk basamak klinik muayene ve hasta anamnezidir. Klinik inceleme de hastalar klinik risk skorlaması yapılarak düşük, orta ve yüksek olmak üzere risk gruplarına ayrılırlar. Tablo 2.4'deki DVT klinik risk skorlaması (Wells) risk gruplarının ayırında kullanılabilecek skorlama sistemlerinden biridir (26). Risk grubunu belirlenmesinin ardından, tanı için doğru protokolün izlenmesi açısından bazı algoritmalar geliştirilmiştir. Bu algoritmalar sayesinde DVT'nin teşhis ve ekartesi kolaylaşmaktadır yardımcıdır (Şekil 2.2) (2).

Tablo 2.4: Derin ven trombozu tanısında klinik risk skorlaması (Wells) (26).

Klinik özellikler	Skor
<ul style="list-style-type: none">Aktif kanser (tedavi sürüyor, son 6 ay içinde uygulanmış, pasif tedavi yapılıyor.)	1
<ul style="list-style-type: none">Paralizi, parezi veya alt ekstremitelere atel uygulanması	1
<ul style="list-style-type: none">Üç günden uzun süreyle yatağa bağımlılık, son 4 hafta içinde majör cerrahi girişim	1
<ul style="list-style-type: none">Derin ven üzerinde lokalize hassasiyet	1
<ul style="list-style-type: none">Tüm bacakta şişme	1
<ul style="list-style-type: none">Tuberositas tibia 10cm altında yapılan ölçümde asemptomatik bacağına kıyasla 3 cm'den fazla artış	1
<ul style="list-style-type: none">Gode bırakan ödem (sempptomatik bacakta daha fazla)	1
<ul style="list-style-type: none">Derin ven trombozu öyküsü	1
<ul style="list-style-type: none">Kollateral yüzeysel venler (non-variköz)	1
<ul style="list-style-type: none">Derin ven trombozu tanısında daha fazla olası alternatif tanı	-2

Risk değerlendirme:
Skor ≤ 0 DVT olasılığı düşük
Skor=1-2 DVT olasılığı orta
Skor ≥ 3 DVT olasılığı yüksek

Şekil 2.2: Derin ven trombozu şüphesi olan hastalarda tanı algoritması (27).



2.2.4.2. Laboratuvar Testleri ve Görüntüleme Yöntemleri

DVT tanısının olgularda kesinleştirilebilmesi için laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri ile doğrulanması gerekmektedir. Klinik skorlamanın yapılmasından sonra D-dimer, venografi, renkli doppler ultrasonografi (RDUS), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans venografi gibi test ve yöntemler kullanılmaktadır. D-dimer ve ultrasonografi non- invaziv, diğer yöntemlere göre hızlı ve ucuz oldukları için günümüzde en sık tercih edilen iki yöntemdir (25). Daha az sıklıkla da olsa venografi de tercih edilen yöntemler arasındadır (23).

D-Dimer: D-dimer (DD), çapraz bağlı bir fibrinin en küçük yıkım ürünüdür, üç enzimin aktivasyonu sonucu oluşan seri reaksiyonlar zinciri sonucunda gelişir (28). Yüksek sensitivitesi ve non-invaziv olması sebebi ile DVT tanısında sık kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, D-dimer düzeyinin, dissemine intravasküler koagülasyon, gebelik, ciddi infeksiyon, karaciğer hastalığı, cerrahi, travma ve malignite durumlarında da yükseldiği için özgüllüğünün düşük olduğunu. Bu nedenle d-dimer'ın tek başına yeterli olmadığını göstermektedir. Fakat düşük klinik şüphede negatif sonuçların DVT'nin ekarte edilmesinde oldukça güçlü bir parametre olduğu bilinmektedir. (29,30).

Plazmadaki D-dimer seviyesinin ölçümü ELİSA, lateks aglütinasyonu ve tam kan aglütinasyonu olmak üzere üç farklı yöntem ile kalitatif ve kantitatif olarak olarak yapılabilmektedir (25). En duyarlı yöntem ELİSA yöntemi olup altın standart kabul edilmesine karşın, pahalı olması ve zaman alması gibi dezavantajları nedeni ile yaygın olarak kullanılmamaktadır (31). ELİSA yöntemi kadar güvenilir Lateks aglütinasyonu yöntemi; daha ucuz, daha hızlı ve özel teknik gerektirmemesi sebebi ile daha çok tercih edilmektedir (32). Son olarak tam kan aglütinasyonu hasta başında parmak ucundan alınan kan ile iki dakika gibi kısa bir sürede sonuç verilmesine karşın daha az sensitif ve düşük D-dimer düzeylerini saptayamamaktadır fakat, uygun klinik durumlarda bazı tanıların dışlanması yardımcı olmaktadır (32).

2.2.4.3. Görüntüleme Yöntemleri:

Venografi: Venografi kasıktan veya bacadaki damarlardan özel bir ilacın uygulanmasının ardından seri halde röntgen çekimlerinin yapılması ile yaklaşık 30-45 dakika süren bir yöntemdir. Venografi sırasında kullanılan ilaç olgularda alerji ve böbrek yetmezliğine neden olabilir (2). Venografi DVT 'de duyarlılığı ve özgünlüğünün çok yüksek olması nedeni ile altın standart olarak kabul edilmektedir (1). Fakat invaziv olması, kontrast madde içermesi, uygulamanın zor ve ağrılı olması sebebi ile günümüzde çok sık olarak kullanılmamaktadır (33). Ancak, yüksek klinik şüphesi olup non-invaziv test sonuçları negatif olan hastalarda uygulanması uygun bulunmuştur (1).

Renkli Doppler Ultrasonografi: Renkli doppler ultrasonografi (RDUS) günümüzde DVT'nin tanısında ilk tercih edilen, ana yöntemdir. RDUS, ses dalgalarının görüntüye dönüştürülmesi prensibi ile çalışarak, kan akımının hızı, yönü ve damarların yapısı hakkında bilgi vermektedir. Ağrısız, kolay uygulanabilen, ucuz, kolay tekrarlanabilen, hasta tarafından kolay tolere edilebilen, kontrast madde içermeyen non-invaziv bir yöntem olması sebebi ile sık tercih edilmektedir. Fakat karın içindeki damarlar, kalbe yakın ve göğüs boşluğundaki damarların bu yöntem ile değerlendirilmesi güç olduğu bilinmektedir, bu durumlarda bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans venografi gibi yöntemlerin kullanılmasının daha sağlıklı olacağı düşünülmektedir (2).

Bilgisayarlı Tomografi: Bilgisayarlı tomografi (BT) x ışınları ile, vücudu kesitler şeklinde görüntülemeye yarayan bir yöntemdir. Bu yöntem sayesinde RDUS ile ulaşılamayan; karın içi organları ve toplardamarlar rahatlıkla görüntülenebilmektedir. Yöntem bir ilacın damardan uygulanması ve tomografi cihazının hızlı bir şekilde görüntü alması şeklindedir. İşlem ağrısız ve kısa sürmektedir. Ancak kullanılan ilaca karşı alerji gelişimi görülebilir ve özellikle böbrek hastalarında böbrek fonksiyonlarında bozulma olabilir. Ayrıca BT yüksek radyasyon riski taşıması sebebi ile gebe ve gebelik şüphesi olan hastalarda kullanılması uygun görülmemektedir (34).

Manyetik Rezonans Venografi: Manyetik rezonans venografi, güçlü bir manyetik alan içerisinde radyo dalgaları kullanılarak hastalıklı ve sağlıklı dokuları saptamakta kullanılan bir yöntemdir (34). BT ile değerlendirilmesi mümkün olmayan olgularda radyasyon içermemesi sebebi ile tercih edilmektedir. DVT için yüksek duyarlılık ve özgüllüğünün olduğu bilinmektedir (35). Eski-yeni trombusların ayırımında yardımcı olması ve çevre dokuda inflamatuvar reaksiyonları göstermesi DVT tanısı için önemlidir. Ancak yüksek maliyeti ve sınırlı sayıda olması rutinde kullanımını kısıtlamaktadır (36).

2.2.5. Derin ven trombozunun prognozu

DVT zamanında teşhis ve tedavi edilmediğinde PE, pulmoner hipertansiyon, VTE nüksü, posttrombotik sendrom, periferik venöz hastalıklar gibi ciddi morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır (2,27). En önemli tehlikeleri ise pulmoner emboliye (PE) neden olabilmesidir (1,23,2).

2.2.5.1. Pulmoner embolizm

PE vakalarının büyük bir kısmı DVT den kaynaklandığı düşünülmektedir. Venöz trombozlar oluşum yerinden kopunca, venöz sistem boyunca arteriyal dolaşıma doğru akarlar, sık olarak ana pulmoner arter damarların tıkanması sonucu PE oluşur. PE'nin gerçek insidansı kesin olarak bilinmemekle birlikte DVT'li olguların yaklaşık %10-15'inde PE görülebilir (5,37).

2.2.6. Derin ven trombozunda tedavi

Derin ven trombozu üzerine yapılan çalışmalar DVT'den şüphelenilen hastalarda objektif testlerle tanı doğrulanır doğrulanmaz antikoagülan tedaviye başlanmanın doğru olduğunu ve hatta klinik olarak DVT şüphesi ağır basıyorsa ve objektif değerlendirme için süre geçecek ise, sonuçlanana kadar geçecek sürede tedaviye başlanmanın uygun olduğunu göstermektedir (38). DVT, doğal gidişine bırakılırsa ölümcül komplikasyonu olan pulmoner emboli ve uzun dönemde morbiditesi son derece yüksek olan post-tromboflebitik sendrom ve pulmoner hipertansiyon ortaya çıkabilmektedir. DVT'nin standart tedavisi trombus gelişimi ve embolizasyonunun önlenmesine yöneliktir (2,38,23). DVT tedavi seçeneklerini üçe ayırabiliriz; antikoagülan tedavi, trombolitik tedavi, pulmoner emboliyi önleyici vena

cava filtreleri. Derin ven trombozu (DVT) tanısı konulan bir hastaya günümüzde önerilen standart tedavi 7-10 gün boyunca (primer tedavi) intravenöz infüzyonla heparin uygulanması, INR stabil ve ~2.0 olduğunda heparinin kesilmesi yönündedir. Ardından en az üç ay süreyle oral antikoagülan (OA) uygulanmasıdır (sekonder profilaksi). Yaygın olarak varfarin ile yapılan uzun süreli antikoagülasyonun tekrarlayan venöz tromboembolinin önlenmesinde etkin olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, uygulamada bazı sorunlarla karşılaşmaktayız. Oral antikoagülan tedavi, sıkı laboratuvar kontrolü ve ardından ilaç doz ayarlaması gerektirmektedir. Kanama komplikasyonu riski vardır (39,38).

2.2.6.1. Antikoagülan tedavi

Antikoagülan faktör etkinliğini artırarak ve pıhtılaşma faktörlerinin etkinliğini veya sentezini bozarak pıhtılaşma olayını inhibe eden ve böylece kanın koagülasyon yeteneğini azaltan ilaçlardır. Özellikle venöz trombozların oluşmasını önlerler. Antikoagülan ilaçlar etki mekanizmalarına göre heparin ve oral antikoagülanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (8). Tedaviye başlamadan önce ve tedavi aşamasında belli periyodlar ile yapılması gereken laboratuvar testleri mevcuttur bunlar; aktif parsiyel tromboplastin zamanı (APTZ), protrombin zamanı (PZ), ve internasyonal normalize orandır (INR) (3).

Aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı (APTZ): Faktör VII ve faktör XIII hariç diğer koagülasyon eksikliklerini saptamak için kullanılan bir laboratuvar testidir. Testin esası, trombositten yoksun plazmaya trombosit tromboplastini yerine sefalın ve kalsiyum klorür ilavesiyle fibrin oluşumu için geçen süreyi ölçmektir.

Protrombin Zamanı (PZ): Koagülasyon sistemindeki ekstrinsik yoldan fibrin pıhtısı oluşana kadar geçen süre ölçülür. Testin amacı koagülasyon sistemindeki ekstrinsik yoldaki, Faktör VII ve ortak yoldaki Faktör X, V, II ve fibrinojen düzeyleri ile ilgili bozukluğu saptamaktır. PZ, sodyum sitrat ve sodyum oksalat eklenerek kanın pıhtılaşmaz hale getirilir. Sonrasında, tromboplastin ve kalsiyum eklenmesi sonucu pıhtılaşma meydana getirerek doku faktörüne bağımlı ekstrinsik yolağın kontrolü yapılır (40). Normal PZ sonuç aralığı 12-15 saniyedir. K vitamin noksanlığı, konjenital faktör eksiklikleri (faktör II, V, VII, X), afibrinojenemi, oral antikoagülasyon tedavisi sırasında ve karaciğer hastalıkları protrombin zamanının uzadığı durumlardır.

INR (International Normalized Ratio): INR takibi, oral antikoagülan kullanımında, hastanın ilaca verdiği yanıtı izlemenin en iyi yoludur. 1983 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün sunduğu teknik raporunda INR'yi, PT'nin standardize edilmiş şekli olarak bildirmiştir (41). INR değeri şu şekilde formüle edilir:

INR: İnternasyonal Normalize Oran (İlaç alan hastadaki PZ/ortalama normal kontrol PZ)^{isi} (42)

INR ölçüm metodu: Plazmada, koagülasyonun tromboplastin ve kalsiyum inkübasyonu ile tetiklenerek fibrin oluşum zamanının kullanıldığı koagülatif metotla PZ ölçülür. Ölçülen PZ değeri standart insan plazmasındaki reaksiyon zamanı ile oranlanarak protrombin oranı (PR) hesaplanır. Hesaplanan PR değerinden $INR=PR^{ISI}$ (ISI: Uluslararası duyarlılık indeksi) formülü kullanılarak INR değerleri hesaplanır.

Tablo 2.5: Varfarin endikasyonları ve ideal INR değerleri (3)

Klinik durum	Önerilen INR
Venöz tromboemboli profilaksisi	2.0-3.0
Venöz tromboemboli tedavisi	2.0-3.0
Kronik atrial fibrilasyon	2.0-3.0
Sistemik arteriyel emboli	2.0-3.0
Trombotik serebrovasküler olay	2.0-3.0
Periferik arter hastalıkları	2.0-3.0
Mitral kapak hastalığı	2.0-3.0
Prostetik kalp kapakçıkları	2.5-3.5
Tekrarlayan myokard infarktüsü	2.5-3.5

2.2.6.1.1. Heparin

Heparin, mast hücrelerinin salgı granüllerinde bulunan bir glikozaminoglikandır. Birbirini takip eden D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin rezidülerinin oluşturduğu bir polimer olarak UDP-şeker öncülerinden sentezlenir. Heparin, glikozillenmiş 432 amino asit rezidüsünden oluşmuş tek zincirli bir polipeptit olan antitrombin vasıtasıyla çeşitli pıhtılaşma proteazlarının inhibisyonunu katalizler. Heparin hem inhibitör hem de proteaz bağlayan katalitik bir

kalıp olarak görev yaparak trombin- antitrombin reaksiyon hızını en azından 1000 kez artırır. Aynı zamanda heparinin bağlanması antitrombinde, reaktif bölgenin protez için ulaşılabilir hale geldiği, yapısal bir değişikliği indükler (43). Heparin, antitrombin III (A III) etkinliğini artırarak ve bazı pıhtılaşma faktörlerini inaktive ederek dolaysız etki yapar (8). AIII'e heparin ko-faktörü de denir. Plazmada 18-30 mg/dL konsantrasyonun da bulunur, yarılanma ömrü ise 24-36 saattir. A III; moleküllerinin enzimatik aktif merkezinde reaktif serin rezidüsü bulunan, aktive edilmiş; trombin, faktör XIIa, XIa, Xa, IXa ve kalikrein gibi bütün enzimatik pıhtılaşma faktörlerini inhibe eder; faktör VIIa'yı pek etkilemez. Heparinin etkisine en fazla katkıda bulunan, trombin ve faktör Xa'nın inhibisyonudur (8). Heparin aktive ettiği A III aracılığı ile trombin'in fibrinojen üzerindeki etkisini hem doğrudan hem de aktif trombin oluşmasını azaltarak inhibe eder; sonuç olarak fibrinojenin fibrine dönüşmesi heparin tarafından engellenmiş olur (8).

Heparin varolan pıhtıyı eritemez, trombüs üzerinde daha fazla fibrin depolanmasını azaltarak trombin oluşmasını ve daha da büyümesini engeller. Böylece endojen fibrinolitik mekanizmaların hem oluşmuş pıhtıyı hem de emboliye neden olan pıhtıyı eritmesine izin verir (3).

Etkisi hızlı başlaması nedeniyle heparin venöz tromboz ve pulmoner embolizmin başlangıç tedavisinde kullanılabilir. Heparin gastrointestinal mukozadan emilmez ve bu nedenle intravenöz infüzyon veya subkutan enjeksiyonla verilir. İntravenöz verildiği zaman etkisi hemen başlar, ancak subkutan verildiğinde heparin biyoyararlanımında belirgin bireysel farklılıklar vardır ve etki başlangıcı 1-2 saat gecikir; düşük molekül ağırlıklı heparinlerin emilimi çok daha az değişkendir (43). Hızlı antikoagülasyon, intravenöz unfraksiyone heparin (UFH) ve subkutan düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) ile olabilir (44). UFH için tedaviye, kiloya göre ayarlanmış 80 U/kg (5000-10000U) bolus dozunun intravenöz verilmesi ile başlanır. Tedavi süresince APTZ düzeyini 1.5-2.5 katına ulaştırmak ve bu düzeyde korumak hedeflenmelidir. APTZ'nin bolus enjeksiyonundan 4-6 saat sonra ve her doz ayarlamasından 3 saat sonra ya da terapötik doza ulaştıktan sonra günde bir kez ölçülmesi ve dozun ona göre ayarlanması gerekmektedir (3,45). INR stabil ve ~2.0 değerine yükselene kadar heparinin tedavisine devam edilmeli bu süre kişiden kişiye değişmekle birlikte ortalama 5-7 veya 7-10 gün arasında değişkenlik göstermektedir

(39,38,3). INR değeri sabitlendikten sonra heparin tedavisi kesilip oral antikoagülanlar ile tedaviye devam edilmesi tavsiye edilmektedir (2,38,27).

Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH): DMAH'ler standart heparinin yararlarını arttırmak ve sakıncalarını azaltmak amacıyla 1980'lerde yapılmıştır. DMAH'ler, standart heparin içindeki polisakkarid moleküllerinin depolimerilasyon yöntemleriyle parçalanması sonucu veya standart heparinin fraksiyonlanması suretiyle oluşturulan kısa fragmentlerin (molekül ağırlığı 5000-8000 dalton veya daha az) bir karışımdır (8). DMAH'ler ve UFH'den daha az miktarda plazma proteinlerine ve endotel hücrelerine bağlanırlar. Biyoyararlanımı UFH'ye göre daha yüksek ve yarı ömürleri daha uzundur (46). UFH gibi majör antikoagülan etkisini AIII aktive edici etkisiyle gösterir (3). DMAH preparatları venöz tromboembolizmin önlenmesinde ilk tercihtir. UFH'ye göre başlıca avantajı farmakokinetik profilinin, laboratuvar izlenimi olmadan ağırlığa göre ayarlanan subkutan uygulamaya izin vericek şekilde daha fazla tahmin edilebilir olmasıdır. Diğer avantajı ise heparin ile indüklenen trombositopeni insidansında düşüklük, kanama ve osteopeni riskinin muhtemel azlığıdır (43). Tüm bu avantajlara bağlı olarak son yıllarda DVT'nin tedavisinde tanı konulduğu anda pulmoner emboli yoksa, hastada yandaş hastalık ve kanama açısından risk bulunmuyorsa evde DMAH ile tedavi uygulanması yönünde bir eğilim ortaya çıkmıştır (45).

2.2.6.1.2. Oral Antikoagülanlar

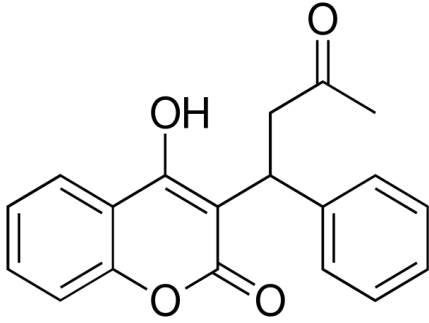
Oral antikoagülanların etki mekanizması heparinden farklı olarak pıhtılaşma faktörlerinin değil, onların karaciğerde yapılanlarının sentezini bozarlar ve bu şekilde dolaylı antikoagülan etki yaparlar. Heparine göre üstünlükleri ağız yolundan alınmaları ve fiyatlarının ucuz olmasıdır. Etkileri tedaviye başladıktan sonra en az 24 saatlik bir latent sürenin ardından belirmeye başlar, bu nedenden dolayı koagülasyonun hemen inhibisyonu gereken durumlarda işe yaramazlar. Aynı şekilde, tedavi kesildikten sonra etkileri bir kaç gün daha devam eder. Heparinden bir diğer farkları tüp içindeki kana katıldıklarında etkisiz olmaları, sadece in vivo durumda koagülasyonu önleyebilmektedir (8). Oral antikoagülanlar arasında en fazla tercih edileni en yaygın olarak kullanılanı varfarin'dir (2,38).

2.2.7. Varfarin

2.2.7.1. Tarihçesi

Sığırdada, bozulmuş tatlı yonca yemini yenmesiyle oluşan bir hemorajik hastalığın bildirilmesini takiben, Cambell ve Link, 1939'da hemorajik ajan bishidroksikumarini (dikumarol) tanımlandı. 1948'de, daha potent bir sentetik analog çok etkili bir rodentisid olarak tanımlandı; bu birleşik patent sahibi Winconsin Alumni Research Foundation'ın isminin baş harfleri bir araya getirilerek varfarin olarak adlandırıldı. 1950'lerden bu yana kliniklerde kullanılmaktadır (43). Günümüzde dünya çapında en çok kullanılan antikoagülan sodyum varfarindir(Coumadin) (47). Sodyum varfarin (Coumadin) rasemik bir karışımdır (Şekil 2.3), S ve R izomerlerinden oluşur; S izomeri R izomerine göre 4-5 kez daha güçlü etkinlik göstermektedir (8).

Şekil 2.3: Varfarin'nin yapısal formülü. (48)

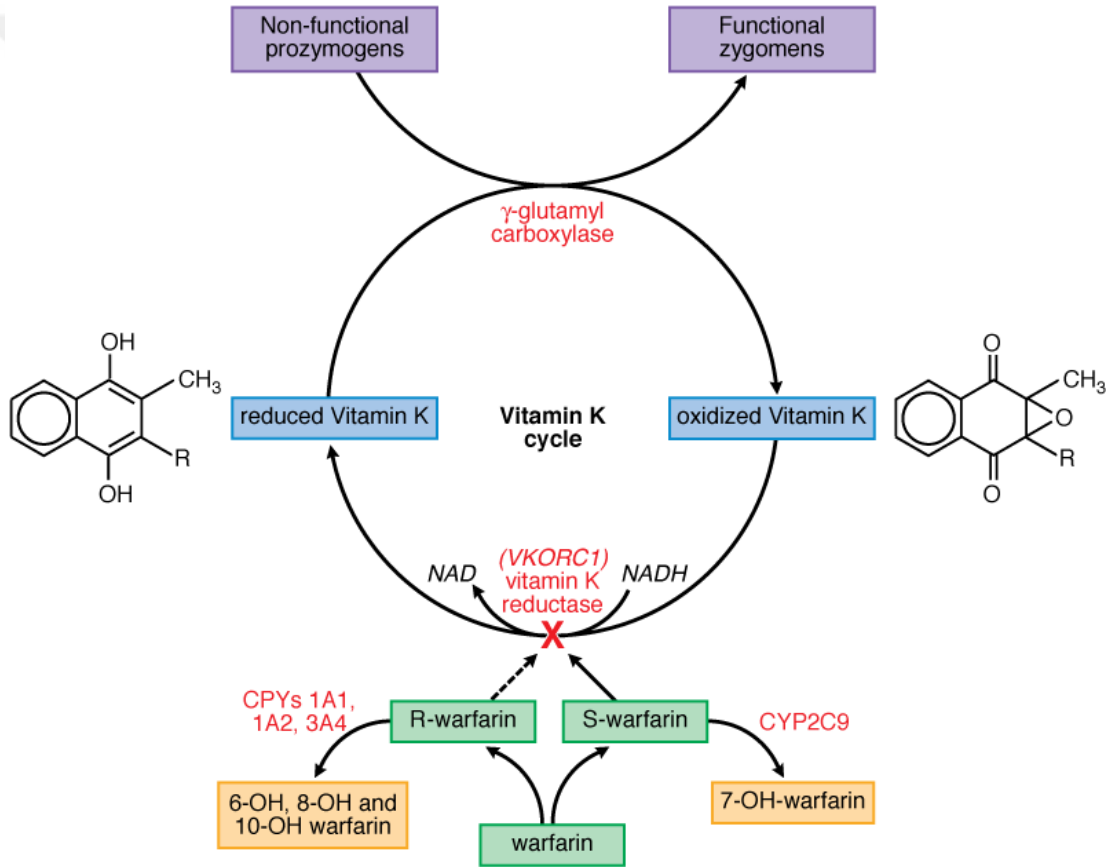


2.2.7.2. Varfarin'in Etki mekanizması

Oral antikoagülanlar K vitamininin antagonistleridir. Karaciğerde üretilen K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörleri olan protrombin, faktör VII, IX ve X'un sentezinin esas olarak son basamağını önlemek suretiyle onların sentezini inhibe ederler; böylece bu faktörlerin sentez edilen miktarlarında terapötik dozlarda %80'e varabilen azalma yaparlar (8). Protrombin ve adı geçen diğer üç pıhtılaşma faktörlerinin fonksiyon yapabilir duruma gelebilmesi için, moleküllerinde N-ucundaki belirli glutamik asid rezidülerinin ribozomlardaki çeviri sırasında veya daha sonra karboksillenmesi suretiyle bir mukozomal enzimle gama-karboksilglutamik asid rezidüsü (Gla rezidüsü) şeklinde dönüşmesi gerekir. Karboksillenme, protrombinin Ca²⁺ 'a ve trombosit fosfolipidine afinitesini yükseltir ve onlara bağlanma yeteneği

kazanmasını sağlar; aynı şekilde diğer faktörlerinde Ca²⁺ ile bağlanmasına ve böylece etkin hale gelmesine olanak sağlar. Karboksillenme olayı, karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulumunda, “indirgenmiş K vitamininin aktif metaboliti olan K vitamini epoksidine dönüşmesi” olayına kenetlenmiş bir biçimde meydana gelir. Bu kenetlenmiş olay çiftinin devamlı olarak meydana gelebilmesi için K vitamini epoksidinin indirgenmiş K vitaminine dönüştürülmesi gerekir. Oral antikoagülanlar bu siklusu bozarlar. K vitamini epoksidini K vitaminine indirgeyen epoksid redüktaz enzimini bilinmeyen bir mekanizmayla bozarlar (Şekil 2.4) (8).

Şekil 2.4: Varfarin metabolizması ve K vitamini döngüsü (43)



Source: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th Edition*: www.accessmedicine.com
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

2.2.7.3. Varfarin Dozlamı

Varfarin oral, intravenöz veya rektal yoldan uygulanabilmektedir. Antikoagülan etkisi doza bağımlı olarak değişmektedir. Antikoagülan etkinin ve dolayısı ile dozun yeterli olup olmadığı plazmada protrombin ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonunu ölçmeye olanak veren testlerle kantitatif olarak değerlendirilir. Özellikle varfarin'in terapötik indeksinin dar olduğu ve dozun biraz fazla olmasının bile spontan kanamalara neden olabileceği için dozun iyi titre edilmesi ve izlenmesi gerekmektedir (8,49). Varfarin'in normal erişkin dozu 2-4 gün için günde 5 mg, takiben INR oranının ölçülmesi ışığında günde 2-10 mg'dır. Özellikle kanama riski yüksek hastalarda başlangıç dozu azaltılmalıdır (43). Oral antikoagülanlarla tedavi sırasında unutulması gereken en önemli nokta, ilaca karşı kişinin verdiği yanıtta değişkenliğin büyük olmasıdır. Bunun ana nedeni varfarin'in farmakokinetiğinin kişiler arasında fazla değişkenlik göstermesidir (8). Farmakokinetikteki değişkenliğin nedeni ise genetik yapılardaki farklılıklardır. Varfarin'in metabolizması üzerinde etkisi olduğu bilinen iki önemli polimorfizm vardır; VKORC1 ve CYP2C9. K vitamini siklusunda yer alan genlerin varfarin'e yanıtta önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. VKORC1 geninin keşfedilmesinden sonra, yapılan birçok çalışma VKORC1 genindeki bazı SNP'lerin, bazı toplumlarda varfarin sürdürme dozu ile ilişkili olduğu ve sitokrom p450 ailesinin bir üyesi olan CYP2C9'un varfarin'in metabolizasyonun da görev yaptığı ve bu gendeki mutasyonların aynı şekilde varfarin'in dozlanması ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarca desteklenmektedir. Bu nedenle; dozun bireyselleştirmesinin en doğru yöntem olacağı düşünülmektedir; bu ise ancak farmakogenetik çalışmalar ile mümkündür (14).

2.2.7.4. Emilim ve Dağılım

Oral, intravenöz veya rektal yoldan verildiği zaman varfarin'in biyoyararlanımı tama yakındır. Oral uygulandığında genellikle 1 saat içinde plazmada saptanabilir ve konsantrasyonu 2-8 saatte tepe değerine ulaşır (43). Varfarin ve diğer kumarin türevi oral antikoagülanlar plazmada oldukça yüksek oranlarda bağlanan asidik ilaçlardır (8). Varfarin başta albümin olmak üzere plazma proteinlerine hemen hemen tam olarak bağlanır. (%99-100) ve ilaç hızlıca albüminin dağıldığına eşdeğer

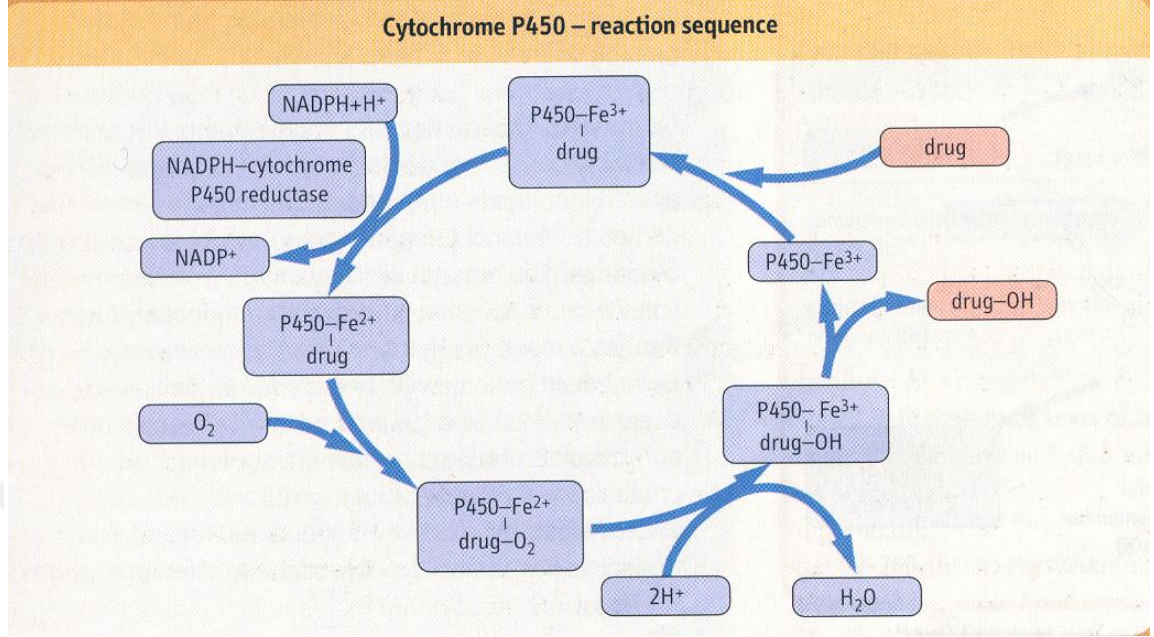
bir hacim içinde dağılır (0.14 L/kg). Fetal plazmadaki konsantrasyonu anneninkiyle yakındır fakat aktif varfarin sütte bulunmaz (diğer kumarin ve indandionlar dışında) (43).

Biyotransformasyon ve Eliminasyon: İlaçlar vücuda uygulandıktan andan itibaren çeşitli enzimlerin etkisine maruz kalırlar. İlaçların enzimlerin etkisi ile vücutta kimyasal değişikliklere uğramasına biyotransformasyon (ilacın metabolize edilmesi) denir. Biyotransformasyon sonucu ilaçlar genellikle daha az etkili veya etkisiz bileşikler haline gelirler, bu nedenden dolayı biyotransformasyona, biyoinaktivasyon veya detoksikasyon (zehirlenme) da denir. Bazen ise ilaçlar biyotransformasyon sonucu daha etkili ve/veya daha toksik bileşiklere dönüşürler bu olaya da biyoaktivasyon adı verilir. Biyotransformasyon yapan enzimlerin bir kısmı az veya çok tüm hücrelerde bulunur. Büyük bir kısmı ise spesifik olarak belirli organlarda (karaciğer, GİS mukoza ve lümeni, böbrek, akciğer ve diğer yapılarda) bulunur, ancak karaciğer metabolizma için ana merkez görevindedir. Biyotransformasyon ile ilgili enzimatik olaylar faz I ve faz II olmak üzere iki fazda incelenir (8).

Faz I Reaksiyonları: Faz I reaksiyon enzimleri, oksidasyon, indirgenme ve hidroliz reaksiyonlarını gerçekleştirirler. Faz I enzimleri ile -OH, -COOH, -SH, -O, veya NH₂ gibi fonksiyonel gruplar ilaca bağlanır. Bu fonksiyonel grupların ilaca bağlanması ile ilacın suda çözünürlüğü bir miktar artar, ancak ilacın biyolojik özellikleri belirgin olarak değişebilir. Faz I metabolizması, ilaç metabolizmasının fonksiyonalizasyon fazı olarak sınıflandırılır (43).

Oksidasyon: Oksidasyon olaylarının neredeyse %80'i (50), karaciğer parankima hücresinin (hepatositlerin) mikrozomal sitokrom p450 enzimleri tarafından yapılır. Bunlar karma fonksiyonlu oksidazlar veya monoksijenazlar adını da alırlar. Oksidasyonun gerçekleşmesi için, moleküler oksijen ve redüklenmiş nikotinamid adenosin dinükleotidfosfat (NADPH) gereklidir. NADPH- sitokrom p450 redüktaz sistemi eşgüdümlü olarak çalışır. Enzimin aktif noktası demir iyonudur. Oksijenin bir atomu substurata bağlanırken diğeri ise, su oluşturmak üzere kullanılır (8) (Şekil 2.5).

Şekil 2.5: Sitokrom p450 enzimlerinin yaptığı hidroksillenme olaylarının basamağı. (51)



İndirgenme: Oksidlenmeye oranla ilaç metabolizmasında daha az meydana gelen bir olaydır. NADPH ile birlikte FAD(favin adenin dinükleotid) veya diğer flavinlerin yardımıyla olur. Aldehidlerin alkollere dönüşmesi, azo grubunun aminlere dönüşmesi, nitro grubunun amin veya hidroksilamine dönüşmesi indirgenme olayına örnektir (8).

Kopma: Bu tür biyotransformasyon ya ilaç molekülünden bir grubun koparılması ya da ilaç molekülünün kendini oluşturan daha ufak iki moleküle ayrılması, özel bir deyimle yarılması (cleavage) suretiyle olur. Bu olayın, hidroliz (esterazlar ile oluşur), dekarboksillenme, glikozidlerin hidrolizi, -O, -N ve S-dealkilasyon olmak üzere çeşitli şekilleri vardır (52).

Faz II Reaksiyonları: İkinci faz reaksiyonları sentetik tepkimelerdir. Molekülün inaktivasyonu ve atılımı ile ilgilidir. Bu tepkimeler konjugasyon tepkimeleri olarak adlandırılır (43).

Konjugasyon: Vücutta ilaçların biyotransformasyonu ilaç veya onun bir metabolitinin molekülüne bir radikalın ya da başka endojen bir madde molekülünün kovalent bağlarla bağlanması suretiyle olabilir. Bu tip kimyasal olaylara konjugasyon

denir. Konjugasyon, glukronik asid ile konjugasyon, sülfat ile konjugasyon, glutatyon ile konjugasyon, amioasid ile konjugasyon, -N ve O-metilasyon, N-asetilasyon olmak üzere sekiz şekilde olur. Glukronik asid ile konjugasyon hariç diğerleri mikrozomal olmayan enzimler tarafından yapılır (8).

İlaç Metabolizasyon hızı

İlaç metabolizasyonu, her zaman, her bireyde aynı hızda gerçekleşmez. Genetik faktörlerin yanı sıra, yaş, beslenme, ilaç-ilaç etkileşimleri veya enzim inhibisyonu/indüksiyonu, biyotransformasyon hızını etkiler. Böylelikle, vücuda alınan maddenin metabolize olma hızı değişkenlik gösterir. Genetik farklılıklar sonucunda; yavaş, orta ve hızlı metabolizör olmak üzere üç çeşit fenotip ortaya çıkmıştır (8).

Yavaş metabolizör: Enzim polimorfizmi, o enzimi sentez ettiren genin noksan veya inaktif olması şeklindeyse bu enzim üzerinden olan ilaç metabolizması meydana gelmez. Eğer enzim azalmış olarak kısmen sentez ediliyorsa metabolizma hızı azalmıştır. İlaçların metabolizmasından sorumlu olan enzimlerin sentezinin veya yapısının bozulmuş olduğu fenotipe yavaş metabolizör denir. Yavaş metabolizörlerde ilaç eliminasyon hızı azalır, ilacın dolaşımında bulunma süresi artar, dolayısı ile ilacın etkisi şiddetlenir ve toksik belirtiler ortaya çıkabilir; bu nedenle yavaş metabolizörlerin başlangıç ve idame dozu diğer fenotiplere göre daha az olmalıdır.

Orta metabolizörler: Orta metabolizörlerde ilaç eliminasyon hızı, ilacın dolaşımında bulunma süresi, ve ilacın etkisi standart değerlerdedir. İlaçlara karşı optimum terapötik cevap için ortalama ilaç dozundan fayda görürler.

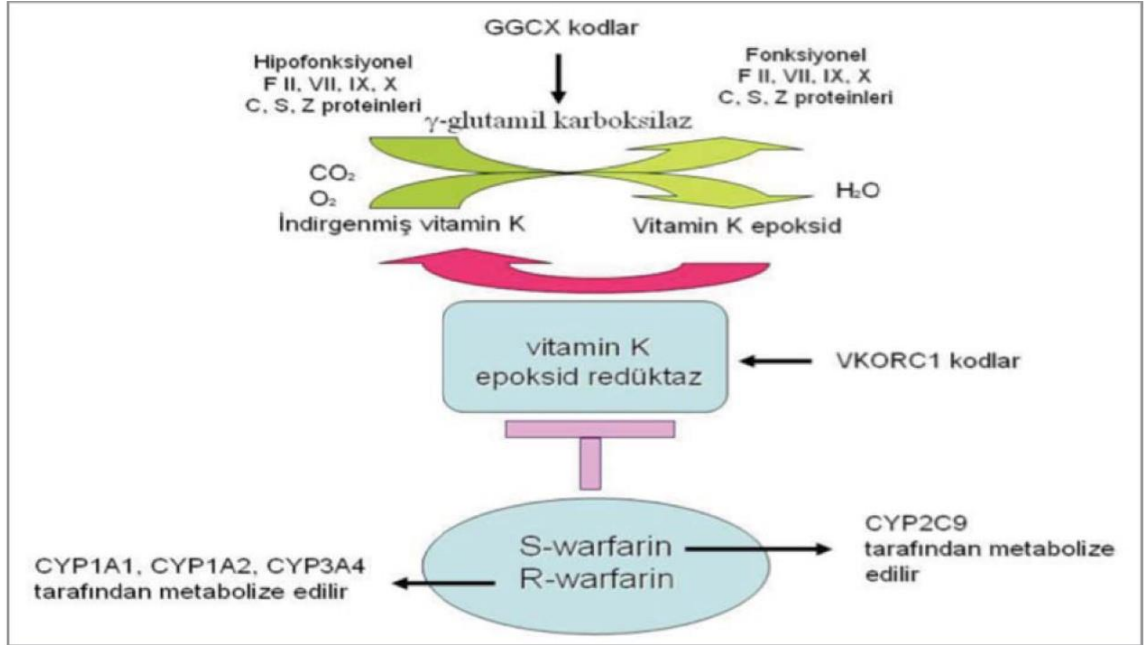
Hızlı metabolizör: Bu olgularda enzim aktivitesi yüksektir, ilaçlar hızlı metabolize edilerek atılırlar, ilacın dolaşımında bulunma süresi kısalmış, dolayısı ile ilacın etkisi azalır ve ortalama ilaç dozundan fayda görmezler, idame dozu diğer fenotiplere göre daha yüksek olmalıdır. Bu grupta yan etkiler daha az izlenir.

2.2.7.5. Varfarin'in Biyotransformasyon ve Eliminasyonu

Varfarin R (zayıf) ve S (güçlü) antikoagülan enantriomerlerin rasemik bir karışımıdır. S- varfarin CYP2C9 enzimi tarafından ve R-varfarin ise CYP1A2, CYP2C19 enzimi (minör yolak) ve CYP3A4 enzimi (minör yolak) tarafından inaktif metabolitlerine dönüştürülür (43,53) (Şekil 2.6). Varfarinin inaktif metabolitleri idrar

ve dışkı içinde atılır. Varfarin'in kanda bulunan konsantrasyonunun yarıya inmesi için geçen süre yani eliminasyon yarılanma ($t_{1/2}$) ömrü oldukça uzundur; 25-60 saat (ortalama 40 saat) ve fazla değişkenlik gösterir. Varfarinin etki süresi ise 2-5 gündür.

Şekil 2.6: Varfarin'in metabolizasyonunda sitokrom p450 enzimi ve VKORC1'in rolü (14)



2.2.7.6. Varfarin'in İlaç Etkileşimleri ve Diğer Etkileşimleri

Oral antikoagülanların aktivitesini etkileyebilen ilaçların ve diğer faktörlerin listesi çok geniştir ve genişlemektedir. Bazı madde ve durumlar eğer oral antikoagülan veya K vitamininin emilim veya metabolizmasını, hemostaz veya fibrinolizis ile ilişkili bazı faktör veya sentez, fonksiyon veya klerensini veya bazı epitel yüzeylerin bütünlüğünü değiştiriyorsa potansiyel tehlikedir. Oral antikoagülanların etkilerin de azalmaya sebep olan çok yaygın tariflenen faktörlerden bazıları; gastrointestinal kanalda ilacın kolestimamine bağlanması sonucu emilimin azalması; nefrotik sendrom da olduğu gibi dağılım hacminin artması ve hipoproteinemiye bağlı olarak yarılanma ömründe kısalma; barbitüratlar, karbamazepin veya rifampin vasıtasıyla özellikle CYP2C9'da olduğu gibi karaciğer enzimlerinin indüklenmesine bağlı ilaç metabolik klerensinin artması; K vitamininden zengin yiyecek ve ek gıdaların aşırı miktarda yenmesi olabilir (43).

Antikoagülan etkiyi arttıran ilaçlar INR değerini yükseltir, azaltan ilaçlar ise INR değerini düşürürler.

Oral antikoagölan kullanan hastalarda hemoraji riskini arttıran etkileşimler ise; amiodaron, azol antifungaller, simetidin, klopidogrel, kotrimoksazol, disulfiram, fluokstin, isoniazid, metronidazol, sulfipirazon, tolkapon veya zafirlukast tarafından CYP2C9 inhibisyonuna bağı metabolizma azalması ve kıvrım diüretikleri veya valproatın sebep olduğı protein bağlanma bölgelerinden ayrılmadır. K vitamininin görece eksikliği. Pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonundaki düşüklük karaciğer bozukluğu, konjestif kalp yetmezliği veya hipertroidi gibi hipermetabolik durumlardan kaynaklanabilir; genellikle bu durum PZ'nin uzunluğunu arttırır (43).

Vücutta kanamaların durdurulması büyük ölçüde trombositler ve pıhtılaşma faktörleri tarafından sağlanmaktadır. Varfarin pıhtılaşma faktörlerinin yapımını bozarken, aspirin ve NSAID (Non-steroid anti inflamatuvar ilaçlar) dediğimiz ilaç grubu trombosit fonksiyonlarını bozarak etki ederler. Eğer bu ilaçlar Varfarin ile birlikte kullanılırsa tehlikeli kanamalar oluşabilir (54).

2.2.7.7. Varfarin'in Toksik Etkileri

Oral antikoagölanların en önemli yan etkisi kişi için yüksek dozda verildiğinde INR değerini yükselterek kanamaya neden olabilmesidir (55,54,8). Kanama riski, antikoagölan tedavinin yoğunluğu ve süresi, hemostaz ile etkileşen diğere ilaçların kullanımını ve potansiyel kanama kaynağının varlığı ile artış gösterebilmektedir (43).

Varfarin kullanımında nadir de olsa alopesi, dermatit ve ürtiker yaptığı bilinmektedir (8). Cilt nekrozu tedavinin başlamasından 3-10 gün sonra sonra cilt lezyonlarının ortaya çıkması şeklinde oluşur. Lezyonlar tipik olarak ekstremitelerde, fakat yağ dokusu, penis ve kadınlar da memede de olabilir. Mikrovasküler yaygın trombozis ile karakterizedir ve hızlı yayılır (43).

Gebelikte varfarin kullanımını sonucu, varfarin sendromu denilen embriyopati ve abortus görülebilmektedir. Varfarin sendromun da oluşabilen anomaliler, yarı damak ve dudak, nazal hipoplazi, kemik bozukluğu, büyüme geriliği mental retardasyon, körlük, hidrosefalidir. Bu nedenle gebelikte oral antikoagölan kullanımını sakıncalıdır özellikle ilk trimestre de kesinlikle kullanılmamalıdır, sonraki dönemde de mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Ancak mutlaka antikoagölan tedavi gerektiren durumlarda plasentaya zor geçtiği için heparin tercih edilmelidir (8,43).

2.3. Genel Farmakogenetik

Farmakogenetik, ilaç yanıtında bireyler arasındaki değişkenliğin genetik temelini inceler. Farmakogenomik ise ilaç yanıtını belirleyen multigenik etmenleri anlamak için tüm genom (25.000 gen) fonksiyonlarının araştırılmasıdır (43).

Bireyler arası ilaç yanıt farklılıklarının nedeni çevresel unsurlar ve genetik unsurların karmaşık ilişkisine bağlanmıştır. Farmakogenetik bu değişimi, ilaçların metabolize edilmesinde rol alan ilaç enzimlerini kodlayan genlerdeki varyasyonlar veya mekanizmanın işleminde etkin olan genetik yapılarıdaki farklılığa bağlayarak incelemektedir (56).

Genomik öncesi devirde, genetik varyasyonların görece nadir sıklıkta olduğu düşünölmekteydi ve kalıtsal ilaç-yanıt özellikleri az sayıda ilaç ve yolak için gösterilmişti (43). 20. yüzyılın başlarında farmakogenetik çalışmalar hız kazanmıştır. (52) İlk olarak süksinilkolinin normal dozlar ile nöromüsküler bloğun uzaması, izoniazid tedavisinden sonra nörotoksisite ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliğinde methemoglobinemi gözlenmesinin genetik temelleri olduğu 20. yüzyılın ilk yarısında bulundu (57). 1970'lerde sitokrom p450 CYP2D6 genindeki varyasyon tanımlanmış ve bireyler arasında oluşan yanıt farklılıklarının temelini ilaç metabolizmasındaki proteinleri kodlayan genlerdeki polimorfik değişiklikler ve kodlanan enzim aktivitesindeki değişiklere dayandığı anlaşılmıştır (58).

Günümüzde yapılan farmakogenetik çalışmalar; genetik varyasyonların, ilacın vücutta emilimi (yavaş- hızlı), metabolize edilmesi (yavaş-orta-hızlı), ilacın etki yeri reseptörleri (tam-yetersiz), ilacı ve metabolitlerini atma (yavaş-hızlı) yeteneğindeki farklılıkları oluşturduğunu (59) ve p450 genlerinin regülatuar bölgelerindeki değişimlerinde bireysel ilaç metabolizmasında önemli rol oynadıklarını göstermektedir (60).

Birçok ilacın tedavi protokollerinde belirtilen standart dozları hastaların çoğunluğunda istenen/beklenen sonuca ulaşmaktadır (61). Ancak bazı hastalarda, özellikle terapötik indeksi dar olan (varfarin gibi) ilaçların kullanımında, hızlı ya da yavaş metabolize edilmesi nedeni ile standart dozlar yetersiz kalır ya da toksik etkiler beklenenden hızlı ortaya çıkmaya başlar. Etkin ve güvenli bir farmakolojik tedavi için

bireye özgü ilaç tedavisi en güvenilir olanıdır. Farmakogenetik, bireye özgü ilaç tedavisine imkân sağlamaktadır (62). Örnek vermek gerekirse varfarin CYP2C9 enzimi tarafından yıkılır. Enzimi kodlayan gen CYP2C9 geni üzerinde enzimi inaktif yapan polimorfizmler sıktır. Birçok toplumda bireylerin %2-10'u yavaş metabolizördür ve bunlarda varfarin klerensi azalmış, dolayısıyla kanama komplikasyonları artmış ve doz gereksinimi normal metabolizörlere göre azalmıştır (63). Tedaviye hastanın genetik profili (ilacı işleme ve metabolize etme sürecine dayalı genetik yapısı) bilinerek ve uygun dozlam yapılarak başlanması tedavinin değerini arttırırken, aşırı doz olasılığını ve iyileşme süresini kısaltabilmektedir.

2.3.1. Sitokrom p450 Enzim Ailesi

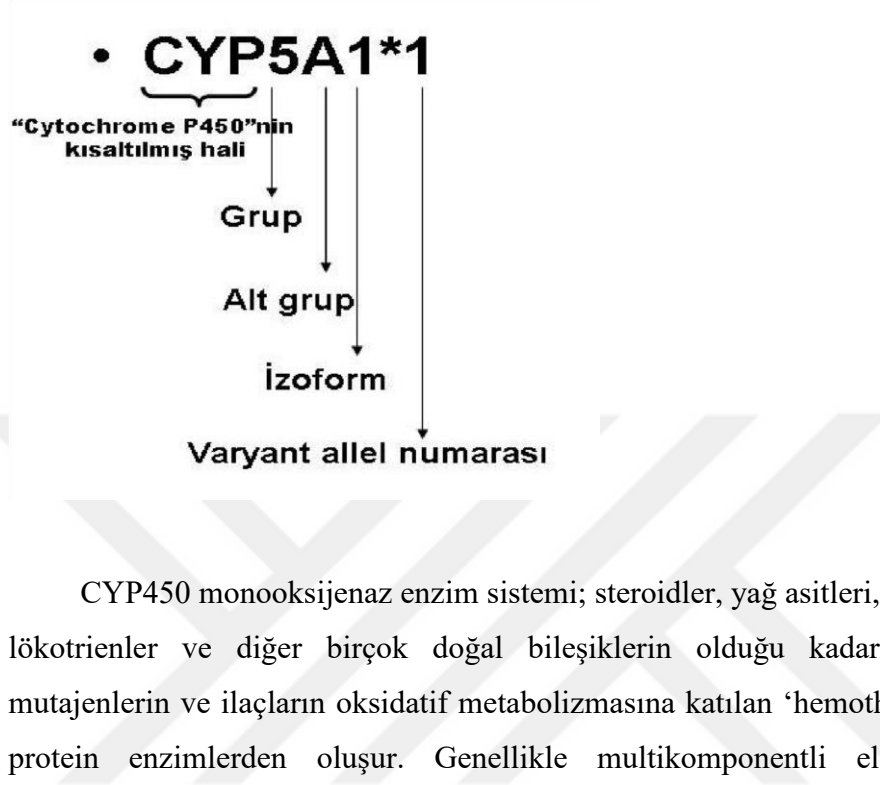
Sitokrom p450 (CYP450) monooksijenaz enzimleri olgun eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında, tüm memeli hücre tipleri ve prokaryotlarda bulunurlar. CYP450 enzimleri çoğunlukla karaciğerde olmak üzere, intestinal kanal mukozası ve lümeni, akciğerler, böbrekler, cilt santral sistemi, plazma eritrositleri, ağız mukozası, diş etleri ve plasenta gibi birçok yapıda bulunurlar (64,8). Hemoprotein (heme-thiolate protein) süper enzim ailesidir, bu enzimler 450 nm' de absorbans gösterdiklerinden sitokrom p450'ler olarak isimlendirilmişlerdir (65,66).

Sitokrom p450 enzimleri ilk olarak 1958 yılında Garfinkel tarafından domuz karaciğerinden ve Klingenberg tarafından sıçan karaciğerinden izole edilmiş olup bitkiler ve mantarlar gibi diğer ökaryotik canlılardada bulunmuştur (67,68,69). İnsan genomunda 59 tane fonksiyonel olduğu varsayılan CYP450 kodlayan gen bulunmaktadır. Sitokrom p450 enzimleri, çok sayıda enzimden ve onların izozimlerinden oluşan geniş bir enzim süper ailesini teşkil eder; 18 aile ve 43 alt aile olarak sınıflandırılmıştır (70).

Sitokrom p450 enzimleri, iletişim standardizasyonu için özel bir nomenklatura göre adlandırılırlar. CYP enzimlerinin isimlendirilmesi; CYP kökünü izleyen rakam aileyi, rakamı izleyen harf alt aileyi, harfi izleyen rakam ise CYP formunu gösterir. Genotip-fenotip ilişkileri de göz önüne alınarak uluslararası kabul gören yeni

terminoloji kılavuzuna göre tüm aleller takip eden bir yıldız (*) ile birbirinden ayrılır (71) (Şekil 2.7).

Şekil 2.7: Sitokrom p450 enzimlerinin adlandırılması. (72)

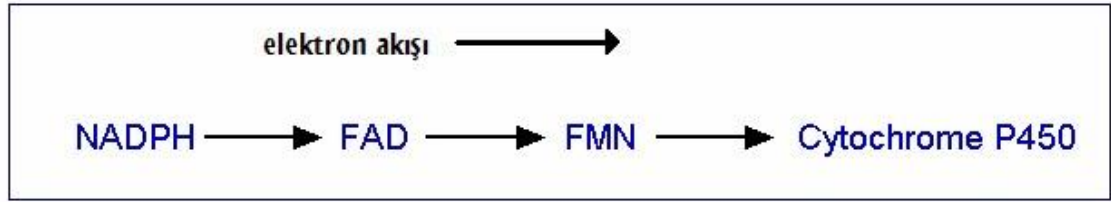


CYP450 monooksijenaz enzim sistemi; steroidler, yağ asitleri, prostaglandinler, lökotrienler ve diğer birçok doğal bileşiklerin olduğu kadar karsinojenlerin, mutajenlerin ve ilaçların oksidatif metabolizmasına katılan ‘hemothiolate’ yapısında protein enzimlerden oluşur. Genellikle multikomponentli elektron transport zincirlerinde terminal oksidaz olarak etki eder (73). CYP enzimleri 40’tan fazla farklı reaksiyonu katalizlemektedir (74,75). Bunlar arasında; N-dealkilasyon, O-dealkilasyon, alifatik ve aromatik hidroksilasyon, epoksidasyon, N-oksidasyon, S-oksidasyon, deaminasyon ve dehalojenasyon bulunmaktadır (75).

CYP450 enzim sistemi membrana bağlı iki komponent halinde bulunur. Bunlar; Flavin Adenin Dinükleotid (FAD) ile Filavin Mono Nükleotid (FMN) içeren CYP450 redüktaz ile CYP450 enzimleridir. Enzimin diğer parçası ise hemoprotein yapısıdır (76). Genellikle multikomponentli elektron transport zincirlerinde terminal oksidaz olarak etki eder (Şekil 2.8) (73). CYP’ler, polipeptit zincire kovalen olmayan şekilde bağlanırlar. Reaksiyonları için substrat olarak O₂ kullanan birçok enzim hem içermektedir. Hem, hemoglobinin içinde de bulunan O₂ bağlayıcı bölümdür. Hemoglobinin içinde moleküler oksijenin akciğerden diğer dokulara bağlanması ve taşınmasını sağlar. Hem, hidrokarbon kafes içerisinde bir demir atomu içerir. Demir, CYP enziminin aktif bölümünde O₂’ni bağlar. Substratın oksidasyonu için CYP

enzimleri, O₂ ile birlikte kofaktör-indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) tan gelen H⁺'i kullanır. H⁺, NADPH-sitokrom p450 oksidoredüktaz enzimi aracılığı ile sağlanır. Substratın CYP tarafından metabolizması bir molekül moleküler oksijen harcar ve sonuçta okside olmuş substrat ve bir molekül su açığa çıkar. Bununla birlikte birçok CYP enzimi substratın yapısına bağlı olarak, metabolize substrattan daha fazla O₂ tüketirler; aktif oksijen veya O₂- açığa çıkarırlar. O₂- genellikle süperoksit dismutaz enzimi ile suya dönüştürülür (43) (Şekil 2.9).

Şekil 2.8: CYP450 elektron transport zinciri. (72)



Şekil 2.9: Sitokrom p450 enzimlerinin katalizlediği genel reaksiyon. (72)



Yapılan birçok çalışma sitokrom p450 ailesi ilaç metabolizması üzerinde etkilere sahip olduğunu hatta faz I aşamasında biyotransformatik reaksiyonların neredeyse %80'in CYP' ler tarafından katalizlendiğini göstermektedir (50). İlaç metabolizmasında etkili olduğu düşünülen sitokrom p450'ler; CYP3A, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8 ve CYP2E1'dir (77).

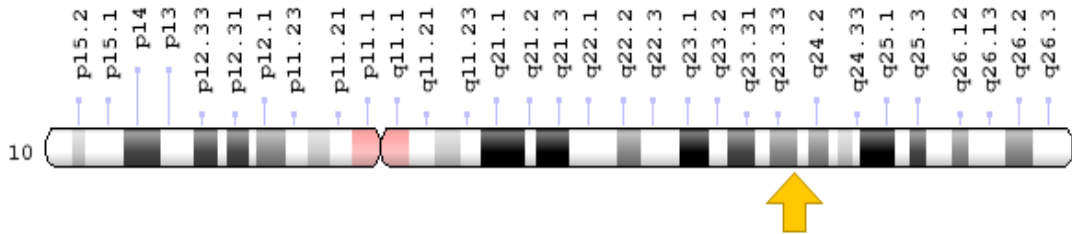
2.3.1.1. CYP2C Alt grupları

CYP2C alt ailesi 10. kromozomun 10q24 bölgesinde lokalize olmaktadır. CYP2C9 cDNA'sı 490 aminoasitlik ve moleküler ağırlığı 55.6 KDa olan proteinler kodlamaktadır. (78) CYP2C18, CYP2C19, CYP2C9 ve CYP2C8 olmak üzere dört üyesi bulunmaktadır (79). CYP2C9 ve CYP2C19 polimorfizmleri ilaç metabolizmasında rol oynamaları sebebiyle farmakogenetik birçok olayı açıklamaktadırlar (50).

CYP2C9 Enzimi ve Polimorfizmleri: Başta varfarin olmak üzere ilaç metabolizmasında önemli role sahip olan CYP2C9 CYP2C alt ailesinin bir üyesidir. CYP2C9 enzimi temel olarak insan karaciğerinde üretilmektedir.

CYP2C9 enzimini kodlayan CYP2C9 geni 10. Kromozomun uzun kolunda (10q23.33) bulunmaktadır. (Şekil 2.10) 55 kb uzunluğundadır, 1847 baz çiftli transkripsiyonlu, 490 aminoasitten oluşur ve 9 ekzon içerir (80,42). CYP2C9’da 50 den fazla allelin ve 7 varyantın (*2, *3, *4, *5, *6, *11 ve *13) olduğu bilinmektedir (81,72). CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 beyaz ırkta yapılan çalışmalara göre en yaygın iki polimorfizmdir. CYP2C9*2 polimorfizmi ekzon 3’ün Arg144Cys bölgesinde bulunan bir nokta mutasyondur, allelik frekansı beyaz ırkta %8-14 iken Afrika popülasyonun da % 4’tür (82,83). CYP2C9*3 alleli ise ekzon 4’ün Ile359Leu bölgesinde bulunan bir nokta mutasyondur, allelik frekansı beyaz ırkta %4-16 iken Afrika popülasyonun da %2 olarak bulunmuştur (84,83).

Şekil 2.10: CYP2C9 geninin lokasyonu (85)



CYP2C9, S-varfarin’in 7-hidroksilasyonundan sorumlu ana enzimdir. Değişik klinik çalışmalar CYP2C9 polimorfizmlerinin varfarin’in farmakokinetiğini etkilediği ve bu nedenle bireyler arasında doz-cevap farklılıkları oluşturduğu gözlenmiştir (86). CYP2C9 geninin varfarin metabolizmasını etkilediği düşünülen 6 farklı genotipi ve 3 farklı fenotipi mevcuttur (Tablo 2.6).

Tablo 2.6: CYP2C9 allel ve metabolizör fenotipleri

CYP2C9 Allelleri	Metabolizör Fenotipleri
*1/*1 (Wild type)	Hızlı
*1/*2	Orta
*1/*3	Orta
*2/*2	Yavaş
*3/*3	Yavaş
*2/*3	Yavaş

Sistemik review ve meta-analiz'lerden oluşan 39 çalışmaya 7907 olgu dahil edilmiş ve genotipler arası doz ihtiyaçları karşılaştırılmıştır. CYP2C9*1/*1 genotipi ve diğer genotiplerin doz ihtiyaçları karşılaştırıldığında CYP2C9 *1/*2 için %19.6, CYP2C9 *1/*3 için %33.7, CYP2C9 *2/*2 için %36, CYP2C9 *2/*3 için %56.7 ve CYP2C9 *3/*3 için %78.1 CYP2C9*1/*1'e göre daha düşük oldukları gözlenmiştir (87).

Yapılan çalışmalar ışığında, CYP2C9'lar bireyler arasındaki varfarin doz-yanıt değişkenliği açıklayabildiği gözlenmektedir. Buna ek olarak VKORC1 genotiplerinin de ilaç metabolizmasındaki etkileri bilinmektedir. CYP2C9 genotipleri ile doz-yanıt değişikliğinin %12-18 'lik bölümünü tahmin edebilirken, VKORC1 genotipleri ile %30'u tahmin edilebilmektedir. İki genotip beraber değerlendirildiğinde ise bu olasılık %50-60'a çıkmaktadır. Sonuçlardan da anlaşıldığı üzere CYP2C9 ve VKORC1 genotiplerinin bereber değerlendirilmesi hastalarda varfarin dozunun bireyselleştirilmesinde büyük rol oynamaktadır (88).

2.3.2. VKORC1

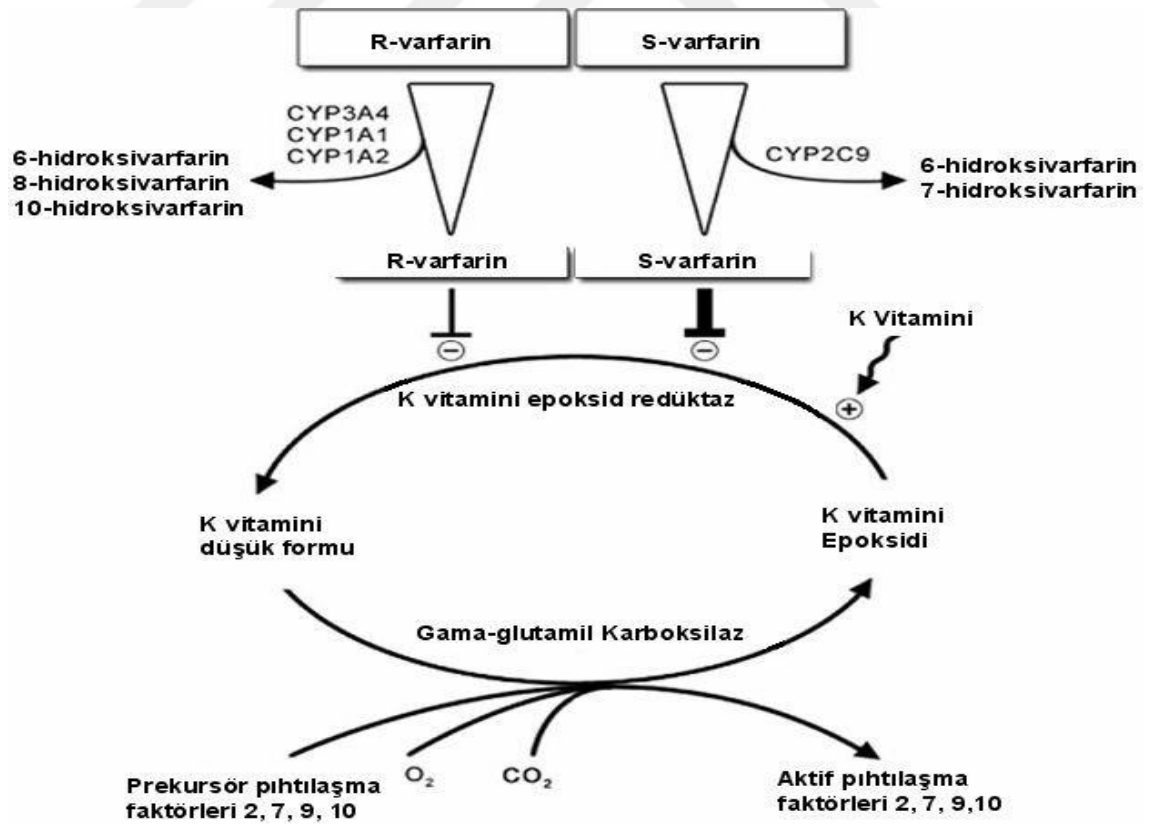
Bir K vitamini antagonisti olan varfarin, karaciğerdeki vitamin K siklusuna etki ederek, indirgenmiş vitamin K'nın rejenerasyonunu kısıtlamaktadır ve böylece inaktif pıhtılaşma faktörlerinin aktifleşmesini engellemektedir. Varfarin, protrombin ile Faktör II, VII, IX, X'un yanında K vitaminine bağımlı olan natürel antikoagulanlardan protein S ve protein C 'nin N terminusundaki glutamik asit rezidülerinin gamma karboksilasyonunu inhibe eder, indirgenmiş vitamin K'nın oluşumu için kritik önemi olan vitamin K epokside redüktaz ile vitamin K redüktazı inhibe eder. İndirgenmiş

vitamin K, glutamik asit rezidülerinin gamma karboksilasyonunun katalize edilmesi için gereklidir. Varfarin'in gamma karboksilasyonu inhibe etmesi, vitamin K siklusunun tamamlanmamasına yol açar. Hipofonksiyonel koagulasyon proteinleri de hücre yüzeylerine bağlanamaz ve koagulasyonu da başlatamaz (89)(Şekil 2.11).

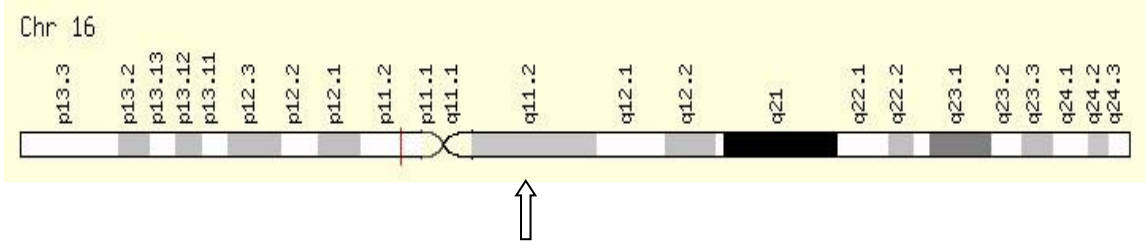
Varfarin, antikoagülan etkisini vitamin K epokside redüktaz (VKOR) enzimini inhibe ederek gerçekleştirir (90). VKOR enzimi, vitamin K epoksite redüktaz kompleks subunit 1 (VKORC1) geni tarafından kodlanır (91).

VKORC1 geni 2004 yılında Rost ve arkadaşları tarafından Northern Blot yöntemi ile bulunmuştur (92). VKORC1 geni insanda 16. Kromozomun p kolunda (16p11.2) bulunmakta 4,1 kb uzunluğunda olup, 3 ekzon bölgesi içermektedir. VKORC1 geni 163 aminoasitlik ve 18,6 kDa molekül ağırlığında protein kodlamaktadır (93). VKORC1'in transkripsiyonu başlıca karaciğerde, daha az olarak da kalp ve pankreasta yapılmaktadır (94) (Şekil 2.12).

Şekil 2.11: Vitamin K siklusunu (89)



Şekil 2.12: *VKORC1* geninin lokasyonu (85)



Yapılan çalışmalar ile *VKORC1* geninde bulunan polimorfizmlerin varfarin duyarlılığına etkisi saptanmıştır (Tablo 2.7) (95,96). Hintli bir popülasyonda yapılan araştırmaya göre; Varfarin kullanan hastaların allel sıklıklarına göre ortalama günlük idame dozları *VKORC1*1639 GG ve 1173 CC (wild-tip/hızlı metabolizör) için 4.72 mg/gün, *VKORC1* 1-1639 GA ve 1173 CT (heterozigot/orta metabolizör) allelleri için 3.74, *VKORC1*- 1639 AA ve 1173 TT (homozigot/yavaş metabolizör) allelleri için 2.07'dir (11). Tayland da yapılan bir araştırmaya göre ise genotipler ve ortalama dozlar; *VKORC1* AA için 3.6 mg/gün, GA için 4.7 mg/gün ve GG için 7.4 mg/gün dür (12).

Tablo 2.7: *VKORC1* geni genotipleri ve metabolizör tipleri.

<i>VKORC1</i> Genotipleri	Metabolizör Tipleri
<i>VKORC1</i> 1639 GG ve CC	Wild-Type/ Hızlı Metabolizör
<i>VKORC1</i> 1639 GA ve 1173 CT	Heterozigot-Mutant/ Orta Metabolizör
<i>VKORC1</i> 1639 AA ve 1173 TT	Homozigot-Mutant/ Yavaş Metabolizör

Her iki genotipin Varfarin dozlamındaki etkisi önemli olup daha ayrıntılı genotip tayini ile dozlama yapmak mümkün ve tavsiye edilebilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklem

Araştırmaya AİBÜ Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran Derin Ven Trombozu (DVT) tanısı almış ve 25 yaş üstü çalışmaya katılmak için rıza formlarını imzalamış olan olgular dahil edildi. 25 yaş altı DVT öyküsü olan, başka kronik hastalığı olan hastalar, aktif kanserli hastalar, emboli dışında farklı sebeplerle immobilize olmuş hastalar, son 1 ayda majör cerrahi geçiren hastalar üst ekstremitte DVT öyküleri çalışmada dışlandı.

Belirlenen kriterlere uygun, portföyümüzde hali hazırda bulunan 132 gönüllü hasta ile çalışma grubu oluşturuldu. Araştırma için hasta grubundan EDTA'lı hemogram tüpüne 3 ml kan örneği alındı.

Araştırma için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan etik kurul onayı (Karar no:2016/23) alınmış ve Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından da desteklenmiştir. (Proje No: 2016.08.36.1111)

3.2. CYP2C9 ve VKORC1 Gen Polimorfizmlerinin Analizi

Amacımıza uygun olarak seçilen olgulardan alınan kandan izole edilmiş olan DNA kullanıldı. DNA'larda Real Time-PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile CYP2C9 ve VKORC1 genotiplenmeleri yapıldı. Analizi yapılan genlerin genotiplenmelerinin değerlendirilerek EpiInfo istatistik program ile anlamlılıkları hesaplandı.

3.2.1. DNA İzolasyonu

Araştırmaya dahil edilecek bireylerden EDTA'lı tüplere alınan 3 ml periferik kan lökositlerinden uygun izolasyon kitleri kullanılarak genomik DNA'ları Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD laboratuvarında izole edildi. Agaroz jel elektroforez ile DNA eldesi kontrol edildi.

3.2.1.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar

1. Bağlanma Çözeltisi (BindingBuffer)
2. Proteinaz K
3. İnhibitör Uzaklaştırıcı Çözelti (InhibitorRemovalBuffer)
4. Yıkama Çözeltisi (WashBuffer)
5. Elüsyon Çözeltisi (ElutionBuffer)
6. Filtre tüpleri
7. Toplama (Collection) tüpleri

3.2.1.2. Kandan DNA izolasyonu aşaması: Protokol, aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır

1. EDTA'lı tüplere alınan kandan 200 µl alınıp, üzerine 200 µl bağlanma çözeltisi ve 40 µl ProteinazK ilave edildi, pipetaj ile homojenizasyon sağlanır.
2. Tüpler, önceden 70°C'ye ayarlanan kuru ısı bloğunda 10 dakika inkübasyona bırakılır.
3. İnkübasyon sonunda, karışım üzerine 100µl izopropanol eklendi ve pipetaj ile iyice karıştırılır.
4. 1.5 ml'lik plastik tüp içinde bulunan örneklerin tamamı, toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün içine pipetlenir.
5. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
6. Santrifüj sonrasında filtreli kısım yeni bir toplama tüpüne aktarılır.
7. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözelti eklenir.
8. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
9. Santrifüj sonrasında filtreli kısım yeni bir toplama tüpüne aktarılır.

10. 500 µl yıkama çözeltisi (washbuffer) eklenerek, 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. 11. Filtreli tüpler yeni toplama tüplerine aktarılır ve üzerlerine ikinci kez 500µl yıkama çözeltisi (washbuffer) eklenir.

12. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.

13. Santrifüj bittikten sonra, toplama tüplerinin altındaki sıvılar atılır ve aynı tüpler tekrar 17.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edilir.

14. Toplama tüpleri atıldı. Filtreli tüpler temiz birer 1.5ml'lik santrifüj tüplerin içine yerleştirilir ve 72°C'ye ayarlanmış kuru ısı bloğunda ısıtılmış olan elüsyon çözeltisinden 200 µl ilave edilerek 2-3 dakika oda ısısında bekletilir ve sonrasında 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir

15. Santrifüj sonrasında filtreli kısım atılır. 1.5ml'lik tüpte kalan çözelti genomik DNA'yı içermektedir.

16. DNA konsantrasyonu spektrofotometre ve/veya konsantrasyon jeli ile tespit edilir ve gerekirse çalışmaya uygun olan 50 pm/µl konsantrasyona ayarlanır.

3.2.2. Real Time PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'da, dizisi bilinen belirli bir bölgenin çoğaltılmasına (amplifikasyon) olanak veren in vitro DNA sentez yöntemidir.

3.2.2.1. Genel olarak PCR, 3 ana basamaktan oluşur

1. Denatürasyon

2. Bağlanma

3. Uzama

3.2.2.2. PCR karışımında bulunan bileşenler

1. Genomik DNA

2. Bir çift primer

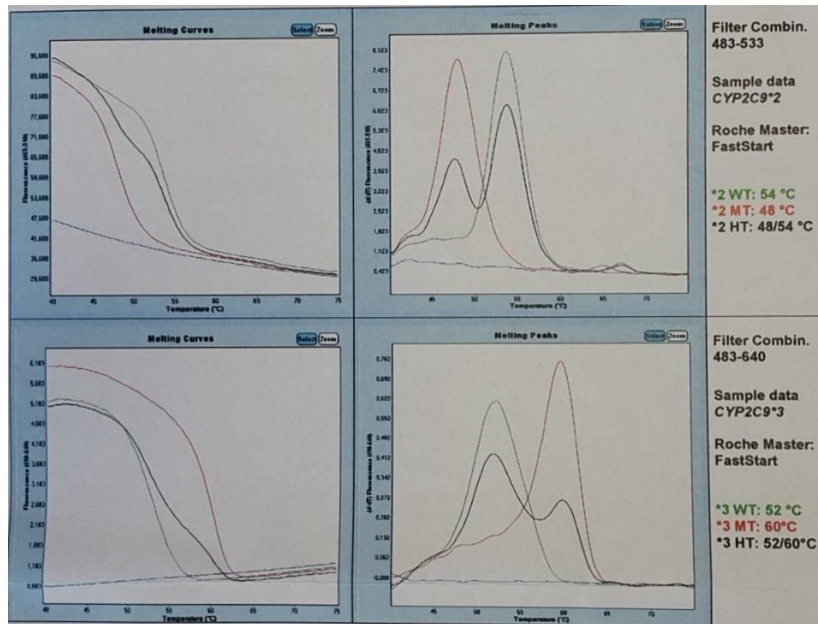
3. DNA zincirinin uzama reaksiyonunu gerçekleştiren ısıya dayanıklı polimeraz enzimi
4. Enzimin çalışması için gerekli kofaktör olarak görev yapan Mg iyonunu sağlayan $MgCl^2$
5. Yapılan amplifikasyona göre değişik miktarlarda hazırlanan dNTP karışımı (dATP, dCTP, dGTP, dTTP).
6. Deiyonize veya steril su

Genel olarak PCR'da hedef bölgeye özgül uygun primer çiftinin (forward ve reverseprimer) doğru seçimi oldukça önemlidir. PCR denatürasyon, bağlanma ve uzama adımlarının tekrarlarına dayanan 20-40 döngü sonrasında tamamlanır ve sonunda hedef DNA'nın milyon kopyası oluşturulur.

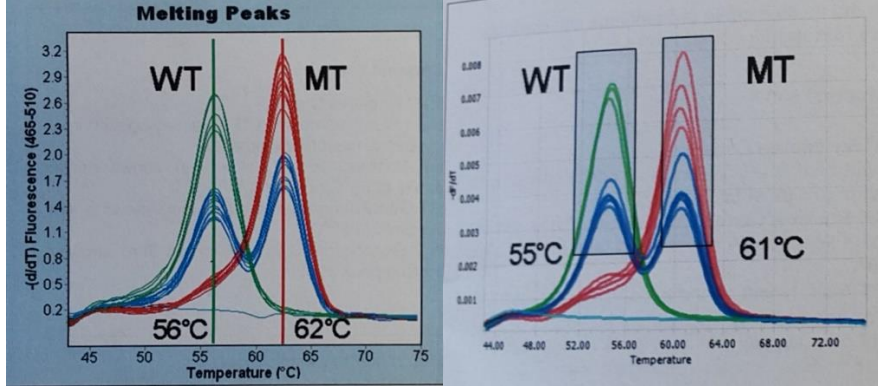
3.3. CYP2C9 ve VKORC1 Mutasyonlarının Sonuçlarının Değerlendirilmesi

RT-PCR çalışması sonunda, erime eğrisi analizinde oluşan piklerin erime derecelerine göre homozigot yabanıl (wt=wildtype), homozigot mutant ve heterozigot sahipken, homozigot mutant ve homozigot yabanıl genotipler bir erime derecesinde tek pike sahiptir.

Şekil 3.1:CYP2C9 Mutasyonu Erime Eğrileri



Şekil 3.2: VKORC1 Mutasyonu Erime Eğrileri



3.4. CYP2C9 ve VKORC1 Polimorfizm Tespiti

CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 allelleri için “Lightmix Kit human CYP2C9*2 and CYP2C9*3 (TIB MOLBIOL GmbH, Berlin, Germany)” kullanıldı. CYP2C9*2 alleli 530 nm dalga boyunda, CYP2C*3 alleli 640 nm dalga boyunda tespit edildi. VKORC1 C1173T ve VKORC1 G-1639A allelleri için ise “Lightmix Kit human VKORC1 C1173T ve VKORC1 G-1639A (TIB MOLBIOL GmbH, Berlin, Germany)” kullanıldı. VKORC1 C1173T 483-533 nm dalga boyunda, VKORC1 G-1639A 483-640 dalga boyunda tespit edildi.

RT-PCR yönteminde;

1. PCR reaktanları hazırlanması
2. Eş zamanlı PZR işlemi devam etmekteyken amplifikasyon eğrilerinin takibi
3. PZR işlemi bittikten sonra allel tanımlaması için erime analizinin (Melting Curve) yapılması.
4. Tüm allel verilerinin klinikle ilişkilendirilmesi aşamaları gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1: Erime Derecelerine Göre CYP2C9 Allellerinin Tespiti

CYP2C9*2		CYP2C9*3		CYP2C9 Allelleri	Metabolizör Fenotipi
-	58.1°C	48.9°C		*1/*1(wild type)	Hızlı
49.7	58.1°C	48.9°C	-	*1/*2	Orta Hızlı
	58.1°C	48.9°C	58.7	*1/*3	Orta Hızlı
49.7	-	48.9°C	-	*2/*2	Yavaş
	58.1°C	-	58.7	*3/*3	Yavaş
49.7	58.1°C	48.9°C	58.7	*2/*3	Yavaş
49.7			58.7	Gözlenmeyen bulgu	Yavaş
-	-	-	-	PCR başarısız	Test tekrar edilir.
ΔTm 8.4°C		ΔTm 9.8°C			

Tablo 3.2: Erime Derecelerine Göre VKORC1 Fenotiplerinin Tespiti

Genotip	Wild Type	Heterozigot	Mutant
Erime eğrisi sayısı(rengi)	1 (Kırmızı)	2 (siyah)	1 (yeşil)
	54.4°C	54.4°C ve 60.4 °C	60.4°C
	52.9°C	52.9°C ve 61.7 °C	61.7 °C
	-	6.0°C/8.8°C	-
Fenotip	Hızlı metabolizör	Orta metabolizör	Yavaş metabolizör
Varfarin doz	normal	normal	azaltılmış

3.5. İstatistiksel Metod

Çalışma türümüz Türk popülasyonu için ilklerden olup kontrol grubu kullanılmaması sebebi ile yüzde hesabına göre istatistik yapılmıştır. Çalışmamız benzer çalışmalar ile karşılaştırılarak temel oluşturulmaya çalışılmıştır.

4.BULGULAR

4.1. Olguların Genel Özellikleri

Olgular dan EDTA'lı hemogram tüpüne 3 ml kan örneği alındı ve DNA izolasyonu ile DNA bankası oluşturuldu. Çalışmamıza 132 DVT tanılı olgu dahil edilmiştir. Olguların tamamı CYP2C9*2 (rs1799853) ve CYP2C9*3 (rs1057910) polimorfizmleri bakımından incelenmiş olup, 132 olgunun 90'ı VKORC1 G1639A (rs9923231), VKORC1 C1173T (rs9934438) polimorfizmleri yönünden de incelenmiştir.

Çalışmaya, DVT tanılı ve Varfarin kullanan 71 (%53.8) kadın ve 61 (%46.2) erkek, hastanın yaş ortalaması 53±17'dir. 18'i kadın, 23'ü erkek toplam 41 (%31.1) olguda geçirilmiş DVT sonrasında PE endikasyonu bulunmaktadır.

Araştırmaya katılan olguların CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 genotiplerin sayı ve yüzde olarak dağılımı Tablo 4.1. de verildiği gibidir. Tablo da görüldüğü üzere DVT'li hastaların, 92'si *1/*1 (yabanıl tip/ hızlı metabolizör), 16'sı *1/*2 (heterozigot/orta metabolizör), 16'si *1/*3 (heterozigot/orta metabolizör), 2'si *2/*2 (mutant/yavaş metabolizör) genotipine 2'si *2/*3 (heterozigot/yavaş metabolizör), 4'ü *3/*3 (mutant/yavaş metabolizör) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.1: Kadın ve erkek olguların CYP2C9*2-*3 genotip frekansları.

CYP2C9 Genotipleri	Kadın		Erkek		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
*1/*1	47	66.2	45	73.8	92	69.8
*1/*2	9	12.7	7	11.5	16	12.1
*1/*3	11	15.5	5	8.2	16	12.1
*2/*2	1	1.4	1	1.6	2	1.5
*2/*3	1	1.4	1	1.6	2	1.5
*3/*3	2	2.8	2	3.3	4	3.0
Toplam	71	100	61	100	132	100

Araştırmamıza dahil edilen olguların VKORC1 G1639A genotip frekansları Tablo 4.2 de verildiği gibidir. Tabloda görüldüğü üzere DVT'li 90 hastanın 13'ünün yabanıl tip homozigot, 50'sinin heterozigot, 27'sinin de mutant tip homozigot genotipe sahip olduğu görüldü. Buna göre olgularda, G/G (hızlı metabolizör) genotipi %14.4,

G/A (orta metabolizör) genotipi %55.6, AA (yavaş metabolizör) genotipi %30 oranında görüldü.

Tablo 4.2: DVT’li kadın ve erkek olguların VKORC1 G-1639A genotip frekansları.

VKORC1 G1639A	Kadın		Erkek		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
G/G	8	15.1	5	13.5	13	14.4
G/A	25	47.2	25	67.6	50	55.6
A/A	20	37.7	7	18.9	27	30
Toplam	53	100	37	100	90	100

Çalışmaya katılan olguların VKORC1 C1173T genotip frekansları Tablo 4.3 de verildiği gibidir. Tabloda görüldüğü üzere DVT’li 90 hastanın 13’ünün yabancı tip homozigot, 50’sinin heterozigot, 27’sinin de mutant tip homozigot genotipe sahip olduğu görüldü. Buna göre olgularda, C/C (hızlı metabolizör) genotipi %14.4, C/T (orta metabolizör) genotipi %55.6, T/T (yavaş metabolizör) genotipi %30 oranında görüldü.

Tablo 4.3: DVT’li kadın ve erkek olguların VKORC1 G-1639A genotip frekansları.

VKORC1 C1173T	Kadın		Erkek		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
C/C	8	15.1	5	13.5	13	14.4
C/T	25	47.2	25	67.6	50	55.6
T/T	20	37.7	7	18.9	27	30
Toplam	53	100	37	100	90	100

Tablo 4.4: CYP2C9 genotiplerinin VKORC1 G1639A genotipleri üzerinde dağılımı.

VKORC1 1173	CYP2C9 Genotipleri												Toplam	
	*1/*1		*1/*2		*1/*3		*2/*2		*2/*3		*3/*3			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
C/C	9	10	3	3.3	0	0	0	0	0	0	1	1.1	13	14.4
C/T	34	37.9	3	3.3	8	8.9	1	1.1	1	1.1	3	3.3	50	55.6
T/T	18	20	4	4.4	5	5.6	0	0	0	0	0	0	27	30
Toplam	61	67.9	10	11	13	14.5	1	1.1	1	1.1	4	4.4	90	100

CYP2C9*2-*3 ve VKORC1 G1639A-C1173T genotiplerin kesişimi ile belirlenen ilaç metabolizasyon hızlarının dağılımı belirlendi (Tablo 4.5). Bu veriler sonucunda; DVT hastaların %48.9'u hızlı metabolizör, %38.9'u orta metabolizör, %12.2'si yavaş metabolizör olarak saptandı.

Tablo 4.5: İlaç metabolizasyon hızlarının DVT'li olgularda cinsiyete göre dağılımı.

Cinsiyet	İlaç Metabolizasyon Hızı						Toplam	
	Hızlı		Orta		Yavaş		n	%
	n	%	n	%	n	%		
Kadın	24	45.3	22	41.5	7	13.2	53	58.9
Erkek	20	54.1	13	35.1	4	10.8	37	41.1
Toplam	44		35		11		90	100

DVT öyküsü bulunan ve CYP2C9*2-*3 ve VKORC1 G1639A-C1173T genotiplerin kesişimi ile ilaç metabolizasyon hızlarının dağılımı belirlenen 90 hastada DVT sonrası PE endikasyonu dağılımları belirlenmiştir. Bu dağılıma göre hızlı metabolizör fenotipe sahip hastalar da PE görülme olasılığı en yüksek (%14.4), yavaş metabolizör fenotipe sahip hastada ise en düşük (%7.8) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: İlaç metabolizasyon hızlarının DVT'li olgular ile DVT ve Pulmoner Emboli endikasyonu olan olgular üzerinde dağılımı.

Pulmoner Emboli	İlaç Metabolizasyon Hızı						Toplam	
	Hızlı		Orta		Yavaş		n	%
	n	%	n	%	n	%		
Var	13	14.4	9	10	7	7.8	26	28.9
Yok	31	34.5	26	28.9	4	4.4	64	71.1
Toplam	44		35		11		90	100

Çalışmaya dahil edilen olguların 6 aylık INR değerleri takip edilmiş olup, INR ölçümleri CA-1500 (Sysmex Co, Japonya) cihazında Thromborel S (Lot No: 546969, ISI 1.05, Siemens-Healthcare Diagnostics Products GmbH, Almanya) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. INR değerleri ortalamalarının CYP2C9 ve VKORC1 genotipleri üzerinde dağılımı tablo 4.7 ve tablo 4.8 de verildiği gibidir. CYP2C9 ve VKORC1 genotiplemleri ile ortalama INR değerleri arasında bir anlam gözlenmemiştir.

Tablo 4.7: DVT’li olgularda CYP2C9 genotiplerine göre ortalama INR dağılımları.

CYP2C9 Genotipleri	Ortalama INR
*1/*1	2.43
*1/*2	2.47
*1/*3	2.51
*2/*2	2.69
*2/*3	2.74
*3/*3	2.80

Tablo 4.8: DVT’li olgularda VKORC1 G1639A genotiplerine göre ortalama INR dağılımları.

VKORC1 G1639A Genotipleri	Ortalama INR
G/G	2.20
G/A	2.53
A/A	2.70

Araştırmamız sırasında 66 DVT’li olgunun Varfarin’e karşı direnç oluşturduğu; INR değerlerinde tutarsızlıklar görüldüğü ve hedef INR değerinin sabitlemesinde güçlükler yaşandığı saptandı. CYP2C9 genotiplerine göre olgular üzerinde saptanan Varfarin ilaç direnci; *1/*1 için %68.3, *1/*2 için 13.6, *1/*3 için %12.1, *2/*2 için %1.5, *3/*3 için %4.5 iken, *2/*3 genotiplerine sahip bireylerde Varfine karşı direnç gözlenmedi (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: CYP2C9 genotiplerine göre DVT’li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

CYP2C9 Genotipleri	DVT’li Hastalarda Varfarin Direnci	
	n	%
*1/*1	45	68.3
*1/*2	9	13.6
*1/*3	8	12.1
*2/*2	1	1.5
*2/*3	0	0
*3/*3	3	4.5
Toplam	66	100

Çalışmamız dahilinde VKORC1 G1639A genotipleme yapılan 90 olgunun 41 ‘in de saptanan Varfarin ilaç direnci dağılımları; G/G için %7.3 G/A, için %63.4 ve A/A için %29.3 olarak belirlendi.(Tablo 4.10) VKORC1 G1639A genotipleri ile

VKORC1 C1173T genotipleri %100 benzerlik gösterdiği saptanmış olup yüzde dağılımları aynı olarak gözlenmiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.10: VKORC1 G1639A genotiplerine göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

VKORC1 G1639A Genotipleri	DVT'li Hastalarda Varfarin Direnci	
	n	%
G/G	3	7.3
G/A	26	63.4
A/A	12	29.3
Toplam	41	100

Tablo 4.11: VKORC1 C1173T genotiplerine göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

VKORC1 C1173T Genotipleri	DVT'li Hastalarda Varfarin Direnci	
	n	%
C/C	3	7.3
C/T	26	63.4
T/T	12	29.3
Toplam	41	100

Araştırmamız da Varfarin ilaç metabolizasyon hızı belirlenen 90 olgunun 41 'in de saptanan Varfarin ilaç direnci frekansları; hızlı metabolizör için %48.8 orta orta metabolizör için %36.6 ve yavaş metabolizör için %14.6 olarak belirlendi (Tablo 4.12).

Tablo 4.12: İlaç metabolizasyon hızına göre DVT'li olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

İlaç Metabolizasyon Hızı	DVT'li Hastalarda Varfarin Direnci	
	n	%
Hızlı	20	48.8
Orta	15	36.6
Yavaş	6	14.6
Toplam	41	100

Çalışmamız sırasında CYP2C9 polimorfizmleri açısından incelenen, 41 DVT ve PE endikasyonu bulunan olgunun Varfarin'e karşı direnç oluşturduğu; INR değerlerinde tutarsızlıklar görüldüğü ve hedef INR değerinin sabitlemesinde güçlükler yaşandığı saptandı. CYP2C9 genotiplerine göre olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci; *1/*1 için %68.3 *1/*2 için %9.8, *1/*3 için %12.2, *2/*2 için %2.4, *3/*3 için %7.3 iken, *2/*3 genotiplerine sahip bireylerde Varfine karşı direnç gözlenmedi (Tablo 4.13).

Tablo 4.13: CYP2C9 genotiplerine göre DVT ve PE endikasyonu bulunan olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

CYP2C9 Genotipleri	DVT + PE Endikasyonu Olan Olgular da Varfarin Direnci	
	n	%
*1/*1	28	68.3
*1/*2	4	9.8
*1/*3	5	12.2
*2/*2	1	2.4
*2/*3	-	-
*3/*3	3	7.3
Toplam	41	100

Araştırmamız da VKORC1 G1639A genotipleme yapılan, Varfarin ilaç direnci bulunan 41 olgunun 25'inde aynı zamanda PE endikasyonu da gözlenmiştir. Dağılımları; G/G için %4, G/A, için %76 ve A/A için %20 olarak belirlendi.(Tablo 4.14.) VKORC1 G1639A genotipleri ile VKORC1 C1173T genotipleri %100 benzerlik gösterdiği saptanmış olup yüzde dağılımları aynı olarak gözlenmiştir.

Tablo 4.14: VKORC1 G1639A genotiplerine göre DVT ve PE endikasyonu bulunan olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

VKORC1 G1639A Genotipleri	DVT + PE Endikasyonu Olan Olgular da Varfarin Direnci	
	n	%
G/G	1	4
G/A	19	76
A/A	5	20
Toplam	25	100

Tablo 4.15: İlaç metabolizasyon hızına göre DVT ve PE endikasyonu bulunan olgular üzerinde saptanan Varfarin direnci frekansları.

İlaç Metabolizasyon Hızı	DVT + PE Endikasyonu Olan Olgular da Varfarin Direnci	
	n	%
Hızlı	12	48
Orta	9	36
Yavaş	4	16
Toplam	25	100

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada antikoagülan kullanan DVT'li hastalarda Varfarin metabolizasyon hızının, hastaya verilen doz ile uyumunun karşılaştırılması ve ilgili genotiplerin ilaç dozlamındaki rolünün ortaya konması amaçlanmaktadır. Varfarin'in farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin çevresel ve genetik birçok faktörden etkilenmesi nedeniyle bu ilacın tüm bireylerde sabit dozda kullanımı mümkün değildir (97) Varfarin kullananlar arasında oldukça geniş doz değişkenliği gözlenmektedir. Yaş, vücut boyutu, K vitamini kullanımı, eş zamanlı hastalıklar, ilaçlar ve genetik faktörlerin ilaca verilen yanıtta farklılıklar oluşturduğu ortaya çıkmıştır. İlaç metabolizmasında rol alan enzimlerin sentez hızının ve/veya niteliğinin değişkenlik göstermesinin ana nedeni genetik polimorfizmlerdir. Genetik farklılıklar sonucunda; yavaş, orta ve hızlı metabolizör olmak üzere üç çeşit fenotip ortaya çıkmaktadır (6). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Varfarin metabolizmasını etkileyen birçok gen bildirilmiştir. Bu genler arasında; CYP2C9 geni varfarin farmakokinetiği, VKORC1 geni ise varfarin farmakodinamiğinde majör genler olarak rol oynamaktadırlar (98). CYP2C9 ve VKORC1'in varfarinin ilaç dozlamında etkili olduğu ve yol gösterdiği birçok çalışmada desteklenmiş olup, genotiplerin metabolizasyon hızlarına uygun başlangıç doz çizelgesi oluşturulmuştur (99). Bu çizelgede hızlı metabolizör için önerilen doz 5-7 mg, orta metabolizör için 3-4 mg ve yavaş metabolizör için 0.5-2 mg olarak belirlenmiştir. Hastaların ilaç metabolizasyon hızlarına uygun dozlarla tedavi edilmesi, hastaların yan etkilere daha az maruz kalmasını ve tedavi süresinin kısalmasını sağlayacaktır. Ancak ilaç metabolizasyonunu etkileyen diğer faktörlerin de göz ardı edilmemesi gerekmektedir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1: CYP2C9 ve VKORC1 genotiplerine göre Varfarin dozlamı (99)

VKORC1	CYP2C9					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
1173						
CC	5-7 mg	5-7 mg	3-4 mg	3-4 mg	3-4 mg	0.5-2 mg
CT	5-7 mg	3-4 mg	3-4 mg	3-4 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg
TT	3-4 mg	3-4 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg

Bu bilgiler ışığında, çalışmamıza 132 DVT tanılı olgu dahil edilmiştir. Olguların tamamı CYP2C9*2 (rs1799853) ve CYP2C9*3 (rs1057910) polimorfizmleri bakımından incelenmiş olup, 132 olgunun 90'ı VKORC1 G1639A (rs9923231), VKORC1 C1173T (rs9934438) polimorfizmleri yönünden de incelenmiştir. Araştırmaya katılan olguların CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 genotiplerin sayı dağılımı; 92'si *1/*1 (yabanıl tip/ hızlı metabolizör), 16'sı *1/*2 (heterozigot/orta metabolizör), 16'si *1/*3 (heterozigot/orta metabolizör), 2'si *2/*2 (mutant/yavaş metabolizör) genotipine 2'si *2/*3 (heterozigot/yavaş metabolizör), 4'ü *3/*3 (mutant/yavaş metabolizör) olarak tespit edilmiştir.

Olguların VKORC1 G1639A genotip frekansları; DVT'li 90 hastanın 13'ünün yabanıl tip homozigot, 50'sinin heterozigot, 27'sinin de mutant tip homozigot genotipe sahip olduğu görüldü. Buna göre olgularda, G/G (hızlı metabolizör) genotipi %14.4, G/A (orta metabolizör) genotipi %55.6, AA (yavaş metabolizör) genotipi %30 oranında görüldü.

Araştırmamız sırasında 66 DVT'li olgunun Varfarin'e karşı direnç oluşturduğu; INR değerlerinde tutarsızlıklar görüldüğü ve hedef INR değerinin sabitlemesinde güçlükler yaşandığı saptandı. Varfarine karşı direnç oluşturan olguların 41'nin Varfarin ilaç metabolizasyon hızı VKORC1 ve CYP2C9 genotiplerinin keşimi ile belirlenmiş olup frekansları; hızlı metabolizör için %48.8 orta metabolizör için %36.6 ve yavaş metabolizör için %14.6 olarak belirlendi. Bu sonuçlara göre Varfarin'in standart dozlamında hızlı metabolizör olan hastalarda diğer metabolizör fenotiplere oranla ilaç direnci oluşma ihtimali artarken, ilaca verilen yanıt azalmaktadır. Bu durum ise yan etkilerin artmasına, tedavi süresinin uzamasına ve hatta pulmoner emboliye yol açabilmektedir.

5.1. CYP2C9*2-*3 ve VKORC1 Genotipleri ile Literatür Bilgilerinin Frekanslarının Karşılaştırılması

Yıldırım ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada CYP2C9*2 ve *3, VKORC1 ve Faktör VII polimorfizmlerini, Varfarin kullanan 101 Türk hasta da gözlemlemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre VKORC1 G1639A genotipleri; G/G %24.8, G/A, %48.5 ve A/A %26.7 olarak bulunmuştur (100). G/G %14.4, G/A

%55.6, AA %30 sonuçlar elde etmiş olduğumuz çalışmamız ile Yıldırım ve arkadaşlarının çalışması arasında yakın sonuçlar gözlenmektedir.

Özer ve arkadaşlarının 2012 yılında Türk popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada CYP2C9, VKORC1 ve CYP4F2 polimorfizmlerinin Varfarin dozu üzerinde etkilerini tespit edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre CYP2C9 genotipleri çalışmaya katılan 54'ü kadın 53'ü erkek 107 olgudan 70'inde *1/*1, 28'inde *1/*2-*1/*3, 9'unda *2/*2,*2/*3,*3/*3 gözlenmiştir. VKORC1 genotiplerinde ise, 27'si G/G, 55'i G/A ve 25'i A/A olarak bulunmuştur (101). Çalışmamızda, *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 frekansları sırası ile %69.8, %12.1, %12.1, %1.5, %1.5 ve %3 olarak bulunmuştur. İki çalışma arasında frekansı yüksek olan genotipler (*1/*1 ve *1/*2) yönünden yakın benzerlikler bulunmaktadır, VKORC1 genotipleri ise G/G %14.4, G/A %55.6, AA %30 olarak bulunmuştur ve iki çalışma arasında yakın sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda A/A genotipine sahip olgu sayısı G/G genotipine oranla daha yüksek bulunmuştur.

Hilman ve arkadaşlarının beyaz ırk üzerinde 2004 yılında yaptığı çalışmada 453 hastanın CYP2C9 genotiplenmeleri gözlenmiş, *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 frekansları sırası ile %65.1, %19.0, %12.1, %1.6, %1.8 ve %0.4 olarak bulunmuştur (102). Bizim çalışmamızda ise yüzdeler sırası ile; %69.8, %12.1, %12.1, %1.5, %1.5 ve %3 olarak bulunmuştur. Bu iki çalışma arasında yüksek oranda benzerlikler görülmektedir.

Sun-Mi Cho ve arkadaşlarının 2016 yılında Çin popülasyonunda 220 hasta ile yaptıkları çalışma sonuçları; VKORC1 genotipleri, G/G %0.50, G/A % 15.50 ve A/A % 84 olarak bulunmuştur (103). Bizim çalışmamızda ise G/G % 14.4, G/A %55.6, AA %30 oranında görüldü. Çalışmamızdaki VKORC1 genotiplerinin oranının diğer Türk popülasyonları arasında benzerlik göstermesine karşın Çin popülasyonunda yapılan bu çalışmada büyük farklılıklar göstermiştir.

Mazzaccara ve arkadaşlarının 2013 yılında, İtalyan 266 olguda CYP2C9*2,*3, CYP4F2*3, VKORC1 C1173T-G1639A polimorfizmlerini inceledikleri çalışma sonuçları; *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 frekansları sırası ile %60.2, %22.0, %12.5, %2.3, %1.9 ve %1.1 olarak bulunmuştur. VKORC1 genotipleri ise, G/G %25.4, G/A % 49.6 ve A/A % 25.0 olarak bulunmuştur (104). CYP2C9 genotipleri, *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 frekansları sırası ile %69.8,

%12.1, %12.1, %1.5, %1.5 ve %3 ve VKORC1 genotipleri, G/G %14.4, G/A %55.6, AA %30 sonuçlarını elde ettiğimiz çalışmamız ile CYP2C9 ve VKORC1 genotipleri yönünden çok yakın olmamakla birlikte benzerlikler görülmektedir.

El Din ve Arkadaşlarının 2012 yılında Mısır popülasyonunun da 200 olgu ile yaptıkları çalışmada VKORC1 1173 C>T, CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 polimorfizmleri üzerine çalışmışlardır. VKORC1 genotipleri; CC, CT ve TT sırası ile %11, %24 ve %65 olarak bulunurken, CYP2C9 genotipleri, *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 frekansları sırası ile; %81, %3.3, %9.7, %4.5, ve %0.65 (2*3 ve*3*3) olarak bulunmuştur (105). Bizim çalışmamız (*1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 frekansları sırası ile %69.8, %12.1, %12.1, %1.5, %1.5 ve %3) ve Mısır popülasyonunda yapılan bu çalışma arasında CYP2C9 polimorfizmi açısından en sık görülen genotipin *1/*1 olması dışında başka bir benzerlik görülmemekle birlikte, çalışmamızdaki VKORC1 genotiplerinin dağılımı G/G %14.4, G/A %55.6, AA %30 olarak bulundu ve iki çalışma arasında VKORC1 genotipleri dağılımı açısından büyük farklılıklar bulunmaktadır.

Kimura ve arkadaşlarının 2007 yılında Japon popülasyonunda 93 olgu ile yapmış oldukları çalışmada VKORC1-1639 genotipleri A/A genotip frekansı %86, -1639 G/A genotip frekansı ise %14 olarak saptanmış ve G/G genotipine rastlanmamıştır (106). Bizim çalışmamız ile çok büyük farklılıklar olmasına karşın, Sun-Mi Cho ve arkadaşlarının 2016 yılında Çin popülasyonunda 220 hasta ile yaptıkları çalışma (VKORC1 genotipleri, G/G %0.50, G/A % 15.50 ve A/A % 84) ile yüksek oranda benzerlik göstermektedir.

Netice itibari ile çalışmamız bir ön çalışma olarak ele alındığında bireysel tıp alanında temel oluşturmaya yardımcı sonuçlar elde etmiş bulunmaktayız. Tabi ki bu ve bunun gibi çalışmaların daha geniş popülasyonlar ile ve kontrol grupları ile yapılması, ayrıca bunlara ilaç serum düzeylerinin de eklenmesi çok daha değerli sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız araştırmanın sonuçlarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

1. Varfarin endikasyonu durumunda hastanın genotipinin tayini ile ve varfarini metabolize etme hızının belirlenmesi.
2. Hastanın metabolizasyon hızının bilinmesi ile ilk dozlama ve idame dozlamasının daha doğru ve daha hızlı yapılabilmesi.
3. Doz ayarlaması sonucu hastanın varfarinin yan etkilerine daha az maruz kalması.
4. Doz idamesinin konvansiyonel yöntemle göre daha hızlı olması imkanının ortaya çıkması.
5. Netice olarak bu çalışmanın kişiye özgü tedavi dizaynı için temel oluşturmada katkı sağlaması.

7.KAYNAKLAR

1. **UZUN Ş, SARICAOĞLU F, ÇELİKER V** . DerinVenTrombozu. *Türkiye Klinikleri J MedSci* **2007**, 27:853-861.
2. **Çakmak A, Köksoy C** . Alt Ekstremitelerin Kronik Arteriyel Tıkanıklıkları. *Türkiye Klinikleri Kalp Damar Cerrahi Dergisi* **2006**, 2(25):32-44.
3. **EROL Ç** . Pulmoner emboli. **Erol Ç, Kozan Ö, Sansoy V** . Klinik kardiyoloji. İstanbul: Nobel tıp kitapevleri, **2011**, 181-182
4. **Killewich LA, Bedford GR, Beach KW, Strandness DE Jr** . Spontaneous lysis of deep venous thrombi: Rate and outcome. *J Vasc Surg* **1989**;9:89-97.
5. **Daneshjou R, Tatonetti NP, Karczewski KJ, Sagreiya H, Bourgeois S, Drozda K, et al** . Pathway analysis of genome wide data improves warfarin dose prediction. *BMC Genomics* **2013**;14(3):11.
6. **Kamali F, Wynne H** . Pharmacogenetics of warfarin. *Annu Rev Med* **2010**;61:63-75.d.
7. **Steward DJ, Haining RL, Henne KR, Davis G, Rushmore TH, Trager WF, et al** . Genetic association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9*3. *Pharmacogenetics* **1997**;7:361-7.
8. **Kayaalp O** . Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Pelikan tıp ve teknik kitapçılık, **2002**:583-600.
9. **Aithal G, Day C, Kesteven P, Daly A** . Association of polymorphisms in thecytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleedingcomplications. *Lancet*, **1999**, 353, 717–719.
10. **Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz HJ, Lappegard K et al** . Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature*, **2004**, 427, 537–541.
11. **Natarajan S, Ponde CK, Rajani RM, Jijina F, Gursahani R,Dhairyawan PP, et al** . Effect of CYP2C9 and VKORC1 genetic variations on warfarin dose requirements in Indian patients. *PharmacolRep* **2013**;65(5):1375-82.
12. **Sermathanasawadi N , Sritongsathian C , Pongrattanaman N , Praditsuktavorn B , Hongku K , Wongwanit C , et al** . The Influence of VKORC1 Polymorphisms on Warfarin Doses in Thai Patients with DeepVeinThromb.
13. **Hillman MA, Wilke RA, Caldwell MD, Berq RL, Glurich I, Burmester JK** . Relative impact of covariates in prescribing warfarin according to CYP2C9 genotype. *Pharmacogenetics* **2004**;14:539-47.
14. **Darılmaz Yüce G** . Warfarin doz ayarlanmasında genetik varyasyonların etkisi. *Tuberk Toraks* **2014**;62(3):236-242.
15. **Dahlback B** . Blood. Coagulation . *Lancet*. **2000**;355:1627.
16. **Kayaalp, S.O.**, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, **2002**, Dokuzuncu baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık, Ankara.
17. <https://www.pinterest.com/pin/516928863455166673/>.
18. **Oger E** . Incidence of venous thromboembolism: a community-based study in Western France. EPI-GETBP Study Groupe d'Etude de la Thrombose de Bretagne Occidante. *J Thromb Haemost*. **2000**, 657-660, 83.
19. **Segal JB, Eng J, Janckes MW, Tamariz LJ, Bolger DT, Krishnan JA, et al** . Diagnosis and treatment of deep venous thrombosis and pulmonary embolism. Agency for Healthcare Research and Quality Publication No. 03-E016,**2003**:1-169.
20. **Gerotziapas GT, Samama MM** . Prophylaxis of venous thromboembolism in medical patients. *Curr Opin Pulm Med*. **2004** ve 10:356-365.
21. **Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, et al** . Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: The longitudinal investigation of thromboembolism etiology. *Am J Med* **2004**;117:19-25.

22. **Albert JS, Dalen JE.** Pulmoner embolizm in **Alexander RW, Schaint RC, Fuster V, O'Roulce RA, Roberts R, Sonnenblick EH** (eds). Hurst's The Heart 9th ed. New York Mc-Graw-Hill 1719:1738,1998.
23. **Arseven O, Sevinç C, Alatafl F, Ekim N, Erkan L, Fındık S ve ark.** Türk Toraks Derneği Pulmoner Tromboembolizm Tanı ve Tedavi Uzlaflı Raporu. *Türk Toraks Dergisi* **2009**;10(Ek 11):1-46.
24. **Ho WK, Hankey GJ, Lee CH, Eikelboom JW.** Venous thromboembolism: diagnosis and management of deep venous thrombosis. *MJA* **2005**;182:476-481.
25. **Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J, et al.** Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep -vein thrombosis. 1227, *N Eng : j Med*, **2003**, Cilt 349. 35.
26. **Wells PS, Owen C, Doucette S, Fergusson D, Tran H.** Does this patient have deep vein thrombosis? 199, basım yeri bilinmiyor : *jama*, **2006** Jan. 11, Cilt 295(2). 207.
27. **Bozkurt AK, Demirkılıç U, Topçuoğlu F, Gürbüz A, Yazıcıoğlu L, Küçüker FA ve ark.** Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği. *Periferik Arter ve Ven Hastalıkları Tedavi Kılavuzu - 2008*. Öncü Basımevi. 2008, Ankara.
28. **Lowe GD, Rumley A.** Use of fibrinogen and fibrin D-dimer in prediction of arterial thrombotic events. *Thromb Haemost* **1999**; 82(2): 667-72.
29. **Heim SW, Schectman JM, Siadaty MS, Philbrick JT.** D-dimer testing for deep venous thrombosis: A metaanalysis. *Clin Chem* **2004**;50:1136-47.
30. **Aytemur Solak Z, Gündüz Telli C, Kabaroglu C, Doğan B, Bayındır Ü, Erdener D.** Pulmoner Emboli Tanısında. *Solunum Hastalıkları* **2003**; 14: 11-16.
31. **Perrier A.** Review: The Wells clinical prediction guide and D-dimer testing predict deep vein thrombosis. *Evid Based Med*. **2006**;11(4):119.
32. **Dempfle CE.** Validation, calibration, and specificity of quantitative D-dimer assays. *Semin Vasc Med* **2005**;5:315-20.
33. **Hobson R, Mintz B.** Diagnosis of acute venous thrombosis. *Surgical Clinics of North Am* **1990**; 70/143.
34. **Özdemir H. İ.** Temel tıbbi radyolojik görüntüleme teknikleği. *Hiperlink*;2015.
35. **Kanne JP, Lalani TA.** Role of computed tomography and magnetic resonance imaging for deep venous thrombosis and pulmonary embolism. *Circulation* **2004**; 109: 15-21.
36. **Dupas B, El Kouri D, Curtet C, Peltier P, de Faucal P, Planchon B, et al.** Angiomagnetic resonance imaging of iliofemoral venous thrombosis. *Lancet* **1995**; 346: 17-19.
37. **Clagett GP, Anderson FA Jr, Levine MN, etal.** Prevention of venous thromboembolism. *Chest*, **1992**, 102:3915.
38. **Sarıgül A, Tanyeli Ö.** Derin ven trombozunda güncel tedavi yaklaşımları. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* **2007**;15(4):316-32.
39. **Kızıltepe U, Oktar L, Ergül G, Gelişen İ.** Derin ven trombozu tedavisinde düşük moleküler ağırlıklı heparinin etkinliği. *Turkisch Vasc Surgery* **2003**;12:15-20.
40. **Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL.** American College. **2003**.
41. **Stern R, Karls V, Kinney L, Glickman R.** Using the international normalized ratio to standardize prothrombin time, *J. Am. Dent. Assoc*, **1997**, Vol 128, No:8, 1121-1122.
42. **Blaisdell J, Jorge-Nebert LF, Coulter S, Ferguson SS, Lee SJ, Chanas B, et al.** Discovery of new potentially defective alleles of human CYP2C9. *Pharmacogenetics* **2004**; 14:527-37.
43. **Brunton LL, Lazo JS, Parker KL.** Goodman&Gilman Tedavinin farmakolojik temelleri. İstanbul: Nobel kitap evi;2009 24 ,93-113.
44. **Meyer G, Sors H, Charbonnier B, et al.** Effect of intravenous urokinase versus alteplase on total pulmonary resistance in acute massive pulmonary embolism: a European multicenter double-blind trial. *J Am Cool Cardiol* **1992**; 19:239-45 .
45. **Kurtoğlu M.** Venöz Tromboembolizm: *Tanı-Tedavi. Fleboloji Dergisi* **2002**;1:21-32.
46. **Weitz JI.** Low-molecular-weight heparins. *N Engl J Med* **1997**;337:668-98.

47. **Pengo V.** World Wide management of oral antikoagulant therapy: The ISAM study. *J. Thromb. Thrombolysis* **2006**;21(1):73-77.
48. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Varfarin>.
49. **Fihn SD.** I. Risk factors for complications of chronikantikoagulation. A multicenter study. Warfarin optimized outpatient follow-up study group. *Ann. Intern. Med.* **1993**;118(7):511-520.
50. **Anke-Hilse M, Daly A K.** Pharmacogenetik and individualized therapy. Pharmacogenetic: therapeutic areas. Amerika: Wiley publication; **2011**, 22-23, 4,17,25-27.
51. <http://slideplayer.biz.tr/slide/3100052/>.
52. **Weber WW.** Pharmacogenetics. Oxford Univ. Press, New York and Oxford: **1997**.
53. **Wadelius M, Pirmohamed M.** Pharmacogenetics of warfarin: Current status and future challenges. *Pharmacogenomics J.* **2007**;7(2):99-111.
54. Kumadin Kullanım Rehberi. *Türk Hematoloji Derneği*: **2010**.
55. **Hylek EM, Singer DE.** Risk factors for intracranial hemorrhage in outpatients taking warfarin. *Ann. Intern. Med.* **1994**;120(11):897-902.
56. **Roden DM.** Proarrhythmia as a pharmacogenomic entity: a critical review and formulation of a unifying hypothesis. *Cardiovasc Res.* **2005**;67:419-25.
57. **Forbat A, Lehmann H, Silk E.** Prolonged apnoea following injection of succinylcholine. *Lancet.* **1953**;265(6795):1067-8.
58. **Gough AC, Miles JS, Spurr NK, Moss JE, Gaedigk A, Eichelbaum M, et al.** Identification of the primary gene defect at the cytochrome P450 CYP2D locus. *Nature* **1990**;347:773-776.
59. Mised, issn 1303-2550, **2007**, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.
60. www.imm.ki.se/CYPalleles.
61. **Katzung BG.** Basic & Clinical Pharmacology, 9 edition, **2004**;543559.
62. **Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK.** Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* **1999**;353:717-9.
63. **Gage BF, Eby CS.** Pharmacogenetics and anticoagulant therapy. *J Thromb Trombolysis* **2003**; 16: 73-78.
64. **Ding X, Kaminsky LS.** Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue- selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2003**;43:149-173.
65. **Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waterman MR, et al.** P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* **1996** 6: 1-42.
66. **Bhupinder S K.** Cytochrome P450 enzyme isoforms and their therapeutic implications: an update, *Indian Journal of Medical Sciences*, **2007**, Vol. 61, No. 2, 102-116.
67. **Klingenberg M.** Pigment of rat liver microsomes, *Arch Biochem. Biophys.* **1958**, 75(2),376-86.
68. **Garfinkel D.** Studies on pig liver microsomes. I. Enzymic and pigment composition of different microsomal fractions, *Arch Biochem Biophys*, **1958**, 77(2),493-509.
69. **Omura T.** Forty years of cytochrome P450, *Biochem Biophys Res Commun.* **1999**, 266(3),690-8.
70. <http://drnelson.utmem.edu/human.450.table.html>.
71. **Sim SC, Ingelman-Sundberg M.** The human cytochrome P450 Allele Nomenclature Committee Web site: Submission criteria, procedures, and objectives. *Meth. Mol. Biol.* **2006**;320:183-191.
72. <http://www.cypallels.ki.se>.
73. **Özerol E.** Sitokrom P450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri, Journal of Turgut Özal Medical Center. **1996**, 3-33.
74. **Guengerich FP.** Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* **2001**;14:611-650.
75. **Meunier B, de Visser SP, Shaik S.** Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Chem. Rev.* **2004**;104:3947-3980.

76. **Özerol E.** Cytochrome P450 containing monooxygenase enzyme systems, *Journal of Turgut Özal Medical Center.* **1996**;3(33),257-275.
77. **Ingelman-Sundberg M.** Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants. The role of CYP family of enzymes. *Mutat.Res.* **2001**;482:11-19.
78. **Gray IC, Nobile C, Muresu R, Ford S, Spurr NK.** A2.4-megabase physical map spanning the CYP2C gene cluster on chromosome 10q24. *Genomics* **1995**;28:328-332.
79. **Morais SM, Scweikl H, Blaisdell J, Goldstein JA.** Gene structure and upstream regulatory regions of human CYP2C9 and CYP2C18. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**;194:-201.
80. <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/image.cfm>.
81. **Morin S, Bodin L, Loriot MA, Thijssen HH, Robert A, Strabach S, et al.** Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin.* **2012**
82. **Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL.** Hydroxylation of warfarin by human cDNA- expressed cytochrome P450: A role for P4502C9 in the etiology of (S)warfarin-drug interactions. *Chem. Res. Toxicol.* **1992**;5:54-59.
83. **Kirchheiner J, Brockmoller J.** Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2005**;77:1-16.
84. **Sullivan- Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA.** The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics* **1996**;6:341-349.
85. www.ncbi.nlm.nih.gov .
86. **Beinema M, Brouwers JR, Schalekamp T, Wilffert B.** Pharmacogenetic differences between warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon. *Thromb. Haemost.* **2008**;100:1052-1057 .
87. **Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A.** Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements- a systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2009**;65:365-375.
88. **Wadelius M, Chen LY, Lindh JD.** The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood* **2009**;113:784-792.
89. **Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V.** Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2, *Nature*; **2004**, 427: 537541.
90. **Goodstadt L, Ponting CP.** Vitamin K epoxide reductase: homology, active site and catalytic mechanism, *Trends Biochem. Sci.*; **2004**, 29 (6): 289-92.
91. **Stafford DW.** The vitamin K cycle. *J. Thromb. Haemost.* **2005**;3:156:127-134.
92. **Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelman E, Hortnagel K, Pelz HJ, et al.** Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* **2004**;427: 537541.
93. **Li T, Lange L A, Li X L, Susswein B, Bryant R, Malone E M, et al.** Polymorphisms in the VKORC1 gene are strongly associated with warfarin dosage requirements in patients receiving anticoagulants. **2006**.
94. **Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V.** Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2, *Nature*; **2004**, 427: 537541.
95. **Wadelius M, Chen LY, Downes K, Ghori J, Hunt S, Eriksson N, et al.** Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J* **2005**; 5:262-70.
96. **Reider MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, Mcleod HL, et al.** Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* **2005**; 352:2285-93.
97. **Rettie A E, Tai G.** The pharmacogenomics of warfarin: Closing in on personalized medicine, *Molecular Interventions* 6: **2006**, 223-227.
98. **Wadelius M, Pirmohamed M.** Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges, *Pharmacogenomics J*, **2006**, 7 (2): 99-111.
99. **Dean L.** Warfarin therapy and genotypes CYP2C9 and VKORC1. *JMedical Genetics Summaries*, **2013**.

100. **Yıldırım E, Erol K, Birdane A.** Warfarin dose requirement in Turkish patients: the influences of patient characteristics and polymorphisms in CYP2C9, VKORC1 nad faktor VII. *HIPPOKRATIA* **2014**,18,4:319-327 2014,18.
101. **Özer M. ve Arkadaşları.** Impact of Genetic Factors (CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2) on. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **2012** ,10.1111/bcpt.12024.
102. **Hilman MA, Wilke RA, Caldwell MD, Berq RL, Glurich I, Burmester JK.** Relative impact of covariates in prescribing warfarin according to CYP2C9 genotype. *Pharmacogenetics*. **2004** Aug;14(8):539-47.
103. **Sun-mi Cho.** Development and Comparison of Warfarin Dosing Algorithms in Stroke Patients *Yonsei Med J.* **2016**.
104. **Mazzaccara C.** Warfarin Anticoagulant Therapy: A Southern Italy Pharmacogenetics-Based Dosing Model PLoS One. **2013**; 8(8): e71505.
105. **El Din MS.** Frequency of VKORC1 (C1173T) and CYP2C9 genetic polymorphisms in Egyptians and their influence on warfarin maintenance dose: proposal for a new dosing regimen. *Int J Lab Hematol.* **2012** Oct;34(5):517-24.
106. **Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y.** Genotypes of vitamin K epoxide reductase, γ -glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients, *Thrombosis Research* **2007**, 120, 181–186.
107. **Dahlback B.** Blood. Coagulation . *Lancet.* **2000**;355:1627
108. **Takahashi H, Ieiri I, Wilkinson GR, Mayo G, Kashima T, Kimura S, et al.** 5' Flanking region polymorphisms of CYP2C9 and their relationship to S-warfarin metabolism in white and Japanese patients. *Blood* **2004**;76:210-9.
109. **Zhao F, Loke C, Rankin SC, Guo JY, Lee HS, Wu TS, et al.** Novel CYP2C9 genetic variants in Asian subjects and their influence on maintenance warfarin dose. *Clin Pharmacol Ther* **2004**; 76:210-9.
110. **Lee C R, Goldstein J A, Pieper J A.** Cytochrome P450 CYP2C9 polymorphism:a comprehensive review of the in-vitroand human data. *Pharmacogenetics* **2002** 12,251-263.
111. **Reider M J.** Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and Warfarin dose. *N. Engl. J. Med.* **2005** 352,2285-2293.

8. ÖZGEÇMİŞ

Cansu KARA ÖZTABAĞ, 24.07.1990 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2010 yılında AİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. Haziran 2013 - Eylül 2013 tarihleri arasında ERASMUS programı kapsamında Almanya Heidelberg Üniversitesi Universitätsklinikum Frauenklinik de IVF stajı yaptı. Ocak 2014'de AİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. Şubat 2014'te Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2013-2014 Eğitim- Öğretim Yılında AİBÜ Eğitim Fakültesinde Pedagojik Formasyon Eğitimi aldı. Ocak 2013- Temmuz 2016 tarihleri arasında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında firma elemanı olarak çalıştı. Ocak-2017'de yüksek lisans öğrenimini tamamladı.

