



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

**FATİH SULTAN MEHMET SAĞLIK UYGULAMA VE
ARAŞTIRMA MERKEZİ**

ACİL TIP KLİNİĞİ

**VARFARİN KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN PT ve aPTT
YÜKSEKLİĞİNİN AKUT TEDAVİSİNDE İNTRAVENÖZ LİPİD
EMÜLSİYON TEDAVİSİNİN, PROTROMBİN KOMPLEKS
KONSANTRESİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

DR. TANJU BİÇER

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2017



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

**FATİH SULTAN MEHMET SAĞLIK UYGULAMA VE
ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**VARFARİN KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN PT ve aPTT
YÜKSEKLİĞİNİN AKUT TEDAVİSİNDE İNTRAVENÖZ LİPİD
EMÜLSİYON TEDAVİSİNİN, PROTROMBİN KOMPLEKS
KONSANTRESİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

DR. TANJU BİÇER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI:

DOÇ.DR. TUBA CİMİLLİ ÖZTÜRK

İSTANBUL 2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle yardımlarını esirgemeyen, yetişmemde değerli katkıları olan, kıymetli hocam Prof. Dr. Özge Ecmel ONUR'a,

Tezimin tüm aşamalarında yardımcı olan, değerli tez danışmanım Doç. Dr. Tuba CİMİLLİ ÖZTÜRK'e,

Uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen ve tezimin oluşmasında önemli katkıları olan, bilgi birikimi ve deneyimlerinden faydalandığım çok değerli uzmanımız Uzm. Dr. Ebru ÜNAL AKOĞLU'na,

Eğitimine sağladıkları katkılarından dolayı uzmanlarımıza,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ekip ruhunu daima hissettiren ve kaybetmeyen asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize, hastanemiz personel ve memurlarına,

Teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Tanju BİÇER

ÖZET

AMAÇ:

İntravenöz lipid emulsiyon (ILE) tedavisi, etki mekanizması net olarak açıklanamamakla birlikte lipofilik ilaçların doz aşımı durumlarında etkili olduğu gösterilmiş yeni bir tedavi seçeneğidir. Varfarin tromboz riski olan durumlarda sık tercih edilen, dar terapötik aralıklı, lipofilik bir ilaçtır. Bizim bu çalışmadaki amacımız, kronik varfarin tedavisi alan ratlarda intralipid tedavisinin PT ve aPTT değerleri üzerine etkisinin olup olmadığını; varsa antidot olarak kullanılan Protrombin Faktör Kompleksi Konsantresi (PCC) kadar etkili olup olmadığını araştırmaktır.

YÖNTEM:

Çalışmamız Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda 300-400 g ağırlığında 40 adet Spraque-Dawley cinsi erişkin sıçan ile yürütülmüştür. Deney hayvanları Sham, Saline, PCC, ILE, PCC+ILE şeklinde 5 gruba ayrılmıştır. Dört gün boyunca Sham dışındaki gruplarda bulunan sıçanlara oral besleme kateteri ile 2mg/kg varfarin verilmiştir. Beşinci gün etkin antikoagülasyon düzeyi sağlanan deneklerden Saline grubuna 1.5 mL/kg bolus+0.25 mL/kg/30 dk dozunda serum fizyolojik, PCC grubuna 50 U/kg IV dozunda PCC, ILE grubuna 1.5 mL/kg bolus + 0.25 mL/kg/30dk IV dozunda ILE, PCC+ILE grubuna 50U/kg IV dozunda PCC +1.5ml/kg bolus +0.25mL/kg/30 dk IV dozunda ILE verilmiştir. Deneklerin 0. gün, 5. gün tedavi öncesi ve 5. gün tedavi sonrası PT, aPTT ve INR değerlerini incelemek için kan örnekleri alınmış ve karşılaştırılmıştır.

BULGULAR:

Çalışmamız 32 rat ile tamamlanmıştır. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırılmıştır. PCC grubundaki ve PCC+ILE grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında PT ve aPTT değerlerinde anlamlı düzeyde düşüş saptanmış olup; sadece ILE tedavisi veya Saline alan grup ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır.

SONUÇ:

Kronik varfarin tedavisi altındaki sıçanlarda, yüksek PT ve aPTT değerinin geri çevrilmesinde ILE tedavisinin etkisinin olmadığı, PCC ile kombine edildiğinde de anlamlı bir etki yaratmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Varfarin intoksikasyonu, intralipid emülsiyon, protorombin kompleks konsantresi, INR,



ABSTRACT

AIM:

Although the mechanism of action is not well known, Intravenous Lipid Emulsion (ILE) has been shown to be effective in the treatment of lipophilic drug intoxications. Warfarin is a lipophilic and narrow therapeutic ranged drug that is used for thrombotic phenomena. The primary aim of this study is to evaluate the effect of intralipid therapy on PT and aPTT in case of chronic use of warfarin in rats. The results were also compared with Protrombin Factor Complex (PCC) which is a potent antidote.

METHOD:

We performed our study in Yeditepe University, Faculty of Medicine-Experimental Animals Research Center Laboratories, with 40 Sprague-Dawley, grown, male rats that 300-400g weight. We categorized rats into 5 groups: Sham, Saline, PCC, ILE, PCC+ILE. We had fed the rats with 2 mg/kg warfarin by oral catheter for 4 days except SHAM group. At day 5, we had injected 1.5 ml/kg bolus+0.25 ml/kg/30 min serum physiologic to Saline group, 50U/kg iv PCC to PCC group and 1.5 ml/kg bolus+0.25 ml/kg/30 min iv ILE to ILE group. Then we had recorded PT, aPTT, INR at day 0, day 5 before treatment and day 5 after treatment.

RESULT:

Our study was finished with 32 rats. The groups were compared as two. We observed a significant decrease of PT and aPTT in PCC and PCC+ILE groups. This difference was statistically significant when compared with ILE and Saline groups.

CONCLUSION:

In rats under chronic warfarin therapy, the reversal of high PT and aPTT values resulted in no effect of ILE treatment and no significant effect when combined with PCC also.

Key Words: Warfarin Toxicity, Intralipid Emulsion, Prothrombin Complex Concentrate, INR

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. VARFARİN.....	3
2.1.1. Varfarin Tarihçesi.....	3
2.1.2. Varfarinin Farmakokinetik Özellikleri.....	4
2.1.3. Varfarinin Farmakodinamik Özellikleri.....	4
2.1.4. Varfarin Kullanımı Ve Doz Uygulaması.....	5
2.1.5. Varfarin Kullanımına Bağlı Komplikasyonlar.....	7
2.1.6. Varfarin Kullanımına Bağlı Oluşan Komplikasyonların Tedavis.....	8
2.1.7. Varfarinin Diğer ilaçlar İle Etkileşimi.....	9
2.2. İNTRAVENÖZ LİPİD EMÜLSİYON.....	11
2.2.1. İlaç Toksisitesinde İntravenöz Lipid Emülsiyon.....	11
2.2.2. İntravenöz Lipid Emülsiyon Tedavisinin Yan Etkileri.....	13
2.3. PROTROMBİN KOMPLEKS KONSANTRESİ	13
2.3.1. PCC Farmakodinamik Özellikleri.....	14
2.3.2. PCC Farmakokinetik Özellikleri.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. DENEKLER.....	16
3.2. DENEY DÜZENEĞİ.....	16
3.3. DENEYİN UYGULANMASI.....	19
3.4. İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME.....	20
4. BULGULAR.....	21

5. TARTIŞMA.....	27
5.1. KISITLILIKLAR.....	32
6. SONUÇLAR.....	33
7. KAYNAKLAR.....	34
8. EKLER.....	39
8.1. ETİK KURUL KARARI.....	39
8.2. TEZ ONAY BELGESİ.....	40



KISALTMALAR

aPTT	...Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
FDA	Food and Drug Administration
INR	İnternational Normalized Ratio
ILE	İntravenöz Lipid Emülsiyon
KG	Kilogram
L	Litre
ML	Mililitre
NSAİ	Nonsteroidal Anti İnflamatuarlar İlaçlar
PCC	Protombin Kompleks Konsantresi
PTZ	Protrombin Zamanı

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Varfarin teropatik doz aralıkları

Tablo 2. Kanama Derecelendirmesi

Tablo 3. Ciddi Kanama Sınıflandırılması

Tablo 4. Çalışma Yönteminin Özet Olarak Sunumu

Tablo 5. Çalışma dışı kalan sıçanların günlere ve nedenlere göre dağılımı

Tablo 6. Koagüle edilmeyen Sham grubunun ve diğer gruptaki ratların oral varfarin tedavisi öncesi PT ve aPTT değerleri

Tablo 7. Grupların PT değerlerinin medyan farklarının ikişerli olarak karşılaştırılması

Tablo 8. Grupların aPTT değerlerinin medyan farklarının ikişerli olarak karşılaştırılması

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Animal Anesthesia Machine

Şekil 2. Deney hayvanlarının izofluran ile anestezi altına alınması

Şekil 3. Anestezi altında kuyruk ven kateterizasyonu

Şekil 4. Grupların varfarin öncesi (baseline), varfarin sonrası (post-varfarin) ve tedavi sonrası (post-tx) Protrombin Zamanı grafikleri

Şekil 5. Grupların varfarin öncesi (baseline), varfarin sonrası (post-warfarin) ve tedavi sonrası (post-tx) aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı grafikleri

Şekil 6. Grupların PT ve aPTT sürelerinin varfarin sonrası ve tedavi sonrası değişim grafiği.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Varfarin, risk faktörü olan hastalarda tromboz oluşmasını önleme, var olan trombozun ilerlemesini durdurma, trombotik hastalığı olan hastalarda emboli riskini azaltmak için kullanılan antikoagülan bir ajandır. Varfarin karaciğer tarafından metabolize edilir ve idrar ile atılır. K-Vitamini aktivasyonunu engeller ve böylece koagülasyon faktörleri olan faktör 2, 7, 9 ve 10'un hepatik karboksilasyonuna engel olur. Bu K vitamini bağımlı faktörler olmadan ekstrinsik koagülasyon yolağı bloke olur. Varfarin tedavisi başlanan hastaların klinik uygulama sırasında mutlaka PT, aPTT veya INR adı verilen protrombin zamanı standardizasyonu temelli laboratuvar parametreleri kullanılarak monitörize edilmeleri gereklidir. Birçok vaka için istenen terapötik INR değeri 2,0-3,0 arasında olacak şekildedir. Varfarin kullanımı sırasında gelişebilecek en önemli komplikasyon kanamadır. Varfarin kullanıma bağlı gelişen koagülopatinin tersine çevrilmesinde üç yaklaşım kullanılır:

1. Varfarin tedavisinin kesilmesi veya ara verilmesi
2. Oral veya intravenöz K vitamini verilmesi
3. Taze Donmuş Plazma (TDP), Protrombin Kompleks Konsantresi (PCC) verilmesidir (1,2).

Klinik toksikolojide intravenöz lipid emülsiyon (ILE) tedavisi lokal anestetik ajanlara bağlı gelişen, hayatı tehdit edici kardiyak toksisite etkilerini geri çevirmede sık kullanılan bir tedavi haline gelmiştir. ILE tedavisinin etkinliği ilk defa 1998 yılında Weinberg ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. İlk kez 2006 yılında insanlarda, lokal anestetik ajanların sistemik toksisite etkilerinin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 2008 yılından sonra ise diğer lipofilik ilaçların toksisitelerine bağlı gelişen sistemik etkilerin geri çevrilmesinde kullanılmaya başlanmıştır. ILE tedavisinin etki mekanizması net anlaşılamamış olmasına rağmen çeşitli teorilerle açıklanmaya çalışılmaktadır. Ortaya atılan ilk teori, plazmada lipidden zengin kompartman oluşturarak lipofilik ilaçların hedef dokudan ayrılmasını sağladığıdır (3, 4). Tartışılan diğer bir etki mekanizması ise yüksek dozda serbest yağ asidi ile miyokarda enerji kaynağı sağlanarak uzun zincirli yağ asitlerinin kardiyak miyositlerde voltaj bağımlı

kalsiyum kanallarını aktive etmesidir (5, 6). ILE ajanları 1960'tan beri parenteral beslenme sıvısı olarak kullanılmaktadır ve lipofilik toksinleri absorbe etmek üzere dizayn edilmemiştir. Günümüzde kullanılan ILE ajanları uygunluk ve etki mekanizmaları açısından halen araştırılmayı gerektirmektedir. İçeriğindeki hangi komponentin bağlanmayı belirlediği henüz net değildir.

Muhtemel lipid-varfarin etkileşimi konusunda bilgi sınırlıdır. Varfarinin çoğul ilaç etkileşimi olduğu bilinmektedir. Birkaç vaka bazlı bildirimde lipid preparatlarının varfarin etkisini azalttığı bildirilmiştir. Varfarin plazmada albumine %99 oranında bağlanan ve yağda çözünen bir maddedir.

Bizim bu çalışmadaki primer amacımız, oral varfarin tedavisi uygulanan sıçanlarda oluşabilecek PT, aPTT ve INR yüksekliğinde intralipid tedavisinin etkinliğini gözlemektir. Bu çalışmadaki sekonder amacımız ise PT, aPTT ve INR yüksekliğine bağlı hayatı tehdit eden kanamaların tedavisinde intralipid tedavisinin rutin tedavide kullanılan Protrombin Kompleks Konsantreleri (PCC) kadar etkin olup olmadığını gözlemlemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 VARFARİN

2.1.1. Varfarin Tarihçesi

Kuzey Amerika’da ve Kanada’da 1900’lü yılların başında “sweet clover” adındaki bir tür yonca çeşidini yiyen sığırlarda kanama ve hematomlar olduğu görülmüştür. 1940 yılında Dr. Karl Paul LİNK yaptığı çalışmalar sonucunda bu sığırlarda kanamaya yol açan maddenin dikumarol (dicoumarol) olduğunu tespit etmiştir. Varfarin Dr. Karl Paul LİNK tarafından izole edilen bishidroksikumarin maddesinin sentetik bir türevidir (7).

İlk olarak fare zehiri olarak kullanılan bu madde daha sonra kan sulandırıcı özelliğinden faydalanılarak oral antikoagülan olarak tedavide yer almaya başlamıştır. Oral antikoagülasyon olarak varfarin kullanımı, insanda ilk defa Wisconsin Üniversitesi’nde Meyer tarafından uygulanmıştır (8). Haziran 1941’de bu konudaki ilk yayın yapılmıştır (9). Varfarinin klinik kullanım için uygun hale getirilmesinde, Dr. Link’in “Endo Laboratuvarları”nda görevli olan arkadaşı Gordon’un çalışmaları önemli rol oynamıştır. Endo Laboratuvarları ilacı “Coumadin” adı ile piyasaya sürmüştür (10).

Varfarin kullanımı 1970’lerde, eşlik eden aşırı kanama komplikasyonları yüzünden tedirginlik yaratsada, protrombin zamanı (PTZ) testlerinin INR ile standardizasyonu sonrasında tekrar kullanılmaya başlanmıştır. Halen varfarin tedavisinin güvenliğini artırmaya yönelik çabalar yoğun bir şekilde sürmektedir.

Ticari olarak varfarin levo ve dektro rasemik şekillerde bulunur ve yarılanma ömrü 36 saattir. Tedavi edici konsantrasyon, uygulanan hasta grubunun belirlenen hedef INR değerlerine göre belirlenmektedir. Varfarinin fonksiyonel etkinliği koagülasyon testi olan PTZ ile kontrol edilir. PTZ, doku tromboplastini ve kalsiyum varlığında plazmanın pıhtılaşma süresini ölçmekte kullanılır.

2.1.2. Varfarinin Farmakokinetik Özellikleri

Varfarin kan pıhtısı oluşumunu, pıhtı şekillenmesini ve büyümesini engeller. Varfarinin bu antikoagülan etkisi, vitamin K epoksid redüktaz enzimini inhibe ederek, vitamin K antagonizması ile oluşur. Vitamin K'nın redükte formu faktör 2, 7, 9 ve 10'un ve natürel koagülan protein C ve S'nin aktivasyonunda kofaktör olarak rol alır (11). Varfarin'in etki mekanizması indirekt olması nedeniyle mevcut olan pıhtı üzerine etkisi yoktur. Pıhtılaşma faktörlerinin 6–60 saatlik yarı ömrü olduğundan, varfarinin etkisini görmek için belli bir süre gereklidir. Belirgin terapötik etki genellikle 24 saat içinde gelişir fakat bir doz sonrasındaki tepe etkisi genellikle 2–3 güne kadar gelişmez (12).

Varfarin, tromboembolik hastalıkların primer ve sekonder korumasında kullanılan bir antikoagülandır. Atrial fibrilasyon ve prostetik kalp kapağı bulunan veya miyokard infarktüsü geçiren hastalarda sistemik tromboembolizm ve iskemik inme gelişmesini önlemek; ayrıca sinüs trombozu ve bazı protrombotik durumlarda iskemik atakların tedavi ve korumasında kullanılmaktadır (13, 14, 15).

2.1.3. Varfarinin Farmakodinamik Özellikleri

Varfarin sodyum, gastrointestinal sistemden hızla emilir ve en yüksek serum konsantrasyonuna 2–8 saat içinde ulaşır. Kanda plazma proteinlerine tama yakın bağlanır ve hızla karaciğerde birikir. Varfarin, S-izomer ve R-izomer'den oluşan rasemik karışım olarak kullanılır. S-izomer, R-izomer'den 3–5 kat daha etkindir. Karaciğer'de, Sitokrom P450 CYP2C9 izoenzimi varfarin'in oksidatif metabolizmasından sorumludur (11, 16, 17). R-varfarin çoğunlukla, CYP1A2 ve CYP 3A4'ü içeren birçok sitokrom P450 izoenzimi ile metabolize edilirken S-varfarin çoğunlukla polimorfik CYP2C9 ile 7-hidroksi varfarin'e metabolize edilir (18, 19).

Stereoizomerlerin her biri diğerinden farklı olarak diğer ilaçlardan etkilenir. Metabolitler, safraya reabsorbe edildikten sonra idrarla atılır. Varfarinin plazma yarı

ömrü ortalama 40 saattir ve etki süresi 2–5 gündür (11). Bazı hastalar varfarine herediter rezistans gösterebilir veya CYP2C9 enzim sistemindeki genetik polimorfizm sonucu azalmış metabolizma, kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer yetmezliği ve yaşlılık gibi nongenetik faktörlerle duyarlılık gelişebilir (20). Varfarin, plasentadan geçer ancak anne sütünde kayda değer miktarda bulunmaz.

2.1.4. Varfarin Kullanımı Ve Doz Uygulaması

Oral antikoagulan olarak kullanılan vitamin K antagonistleri içinde en sıklıkla tercih edilen ilaç varfarindir. Antikoagulan tedavi altındaki her bir hasta için ayrı doz miktarı belirlenmesi gerekir. Ancak varfarinin biyolojik etkisindeki değişkenlik, dar terapötik indeks aralığı, hastalarda uygun varfarin dozunun belirlenmesinde önemli güçlükler arz etmektedir. Yanlış doz uygulamaları ise kanama veya tromboembolizm gibi ciddi komplikasyonların gelişmesi için ciddi risk faktörüdür. Hızlı antikoagülasyon gerektiği durumlarda ilk 2 gün için günlük 10 mg varfarin başlangıç dozu kullanılabilir ancak pek çok durumda 5 mg varfarin dozu yeterlidir. 5 mg altındaki başlangıç dozları, yaşlı ve artmış kanama riski bulunan hastalarda kullanılabilir. Sonraki takip eden dozlar genellikle günlük 3–9 mg arasındadır. Varfarin dozları her gün aynı zamanda verilmelidir (21). Oral antikoagulanların, vitamin K bağımlı pıhtılaşma faktörleri üzerine olan etkisinin yeterli olduğunu göstermek için monitorize edilmesi gereklidir. Çok küçük dozlar yetersiz antikoagülasyon sağlarken çok yüksek dozlar hastayı kanama riskine sokabilir. Bu monitarizasyon sıklıkla uygun tromboplastin preparatı kullanılarak hasta plazmasının pıhtılaşma özelliklerini kontrol edilmesi ile yerine getirilir. Tromboplastin preparatının protrombin üzerine etkisi ile oluşan pıhtı için gerekli süre protrombin zamanı (PTZ) olarak bilinir. Protrombin zamanı Faktör II, VII, IX ve X'un aktivitelerinin baskılanmasına duyarlıdır ve varfarin kullanan hastaların protrombin zamanı kontrollere göre uzamış olarak saptanır (11,16). Protrombin zaman oranı (PTZ), hasta plazmasından elde edilen protrombin zamanının standart plazma örneğine bölünmesidir. Böylece protrombin zaman oranı (PTZ) ile farklı zamanlarda yapılan veya farklı laboratuvarlarda yapılan ölçümlerde tutarlılık olması sağlanır. Bu kalibrasyon, tromboplastine tahsis edilen uluslararası duyarlılık indeksini (ISI) oluşturur. Plazma örneğinin pıhtılaşma kapasitesini, uluslararası duyarlılık indeksini

formül içinde kullanarak protrombin zaman oranının uluslararası normalize edilmiş orana (INR) çevrilmesi ve bu şekilde laboratuvar ölçümü mümkündür.

INR; hasta protrombin zamanının, kontrol protrombin zamanına oranını standardize etmek için ortaya çıkarılmıştır ve tromboplastinin, primer uluslararası referans preparatı kullanılarak oluşturulan protrombin zaman oranına eşittir. Varfarin tedavisinin kontrol ve takibinde INR kullanılır (22). Varfarin kullanımı ve terapötik doz aralıkları farklı hastalık gruplarında Tablo 1 de özetlendiği gibi değişkenlik gösterir.

Tablo 1. Varfarin terapatik doz aralıkları (23)

ÖNERİLEN INR	HASTALIK-DURUM
2,0-3,0	Atriyal fibrilasyon, kalp kapak hastalığı
	Biyoprostetik kalp kapağı, akut MI
	Sistemik emboli profilaksisi
	Serebral ven trombozu
	Servikosefalik arteriyel diseksiyon
	Yüksek riskli cerrahi hastaların venöz tromboemboli profilaksisi
2,5-3,5	Mekanik prostetik kalp kapak hastaları profilaksisi
	Antifosfolipid antikor sendromu

2.1.5 Varfarin Kullanımına Bağlı Komplikasyonlar

Varfarin tedavisinin başlıca riski, hemen her organda oluşabilecek kanama ve bunun neticesinde oluşan hematoma ve anemidir (21).

Hemorajik olay, cerrahi veya endoskopik girişim gereksinimi nedeniyle hastaneye yatırılma gerekliliği doğuran veya kan transfüzyonu gerektiren kalıcı hasar veya ölüm riski taşıyan herhangi bir majör internal veya eksternal kanama olayı olarak tanımlanır. Kanama riski birincil olarak, alınan doz ile ilişkilidir. Diğer risk faktörleri, ileri yaş (> 65), inme ve gastrointestinal kanama hikayesi, beraberinde aspirin kullanımı, böbrek, karaciğer yetmezliği ve genetik olarak artmış duyarlılığa bağlı olabilir. Toplam kanama riski antikoagülasyon tedavi süresi ile ilişkili olmasına rağmen en yüksek risk, tedavinin erken döneminde gelişir. Kanamanın önlenmesinde antikoagülasyon kontrolü esas olmasına rağmen kanama, terapötik INR değerlerinde de oluşabilmektedir. Bu durumlarda, altta yatan renal veya gastrointestinal hastalığın araştırılması gereklidir (20,24).

Varfarin tedavisi gören hastalarda intraserebral kanama açısından risk değerlendirme çalışmasına göre sayısal olarak INR düzeylerindeki her 1.0'lık artış intraserebral kanama riskini iki katına çıkarmaktadır (25). Yapılan diğer birçok çalışmada ise hastalardaki INR düzeylerinde hedef değerlerden sapmaların, ortalama INR oranlarından bağımsız olarak kanama komplikasyonlarını arttırdığı gösterilmiştir (26). Food and Drug Administration (FDA) kılavuzlarında siyah etiketli uyarılardan biri de INR düzeylerinin 4.0'ın üzerine çıkması halinde yaşamı tehdit edecek kanama riskinin bulunacağı yönündedir.

Klinikte karşılaşılan kanama komplikasyonunun derecelendirmesi ve ciddi kanama sınıflaması Tablo 2 ve Tablo 3'de özetlenmiştir (27).

Tablo 2. Kanama derecelendirmesi (27)

1. Derece:	Medikal tedavi gerektirmeyen hafif kanama (diş eti kanaması gibi); Poliklinikte tedavisi mümkün olan; cerrahi veya endoskopik girişim gerektirmeyen kanamalar
2. Derece	Poliklinikte tedavisi mümkün olan; cerrahi veya endoskopik girişim gerektirmeyen kanamalar
3. Derece	Hastaneye yatırılmayı gerektiren (kan transfüzyonu; cerrahi veya endoskopik girişim gereksinimi) ciddi kanamalar

Tablo 3. Ciddi kanama sınıflandırılması (27)

1.	Tekrarlayan epistaksis veya periodontal kanamalar (ikiden fazla) veya transfüzyon/hospitalizasyon gerektirmeyen gastrointestinal kanama
2.	Dokümanite edilmiş geniş perikardiyal effüzyon (ekokardiyografide >1 cm.'den geniş)
3.	Hospitalizasyon, kan transfüzyonu, cerrahi veya endoskopik girişim gerektiren gastrointestinal kanama
4.	Girişim gerektiren kardiyak tamponad; retroperitoneal kanama
5.	Dokümanite edilmiş santral sinir sistemi hemorajisi (serebro-vasküler olay)
6.	Ölümcül kanama

2.1.6. Varfarin Kullanımına Bağlı Oluşan Komplikasyonların Tedavisi

Varfarin tedavisi esnasında gelişen kanama ve artmış antikoagülasyonun kontrolünde, kanamanın derecesi ve INR değerindeki yükseklik referans alınır. Eğer INR değeri 5 üzeri ancak kanama yok veya geçici az miktarda kanama mevcut ise

varfarin, INR değeri 5'in altına düşünceye kadar yavaş yavaş kesilir. INR değeri 5–6 arası olan bazı vakalarda, varfarin dozunun azaltılması tamamen kesilmesine göre daha uygundur. INR değeri 8 üzeri olan vakalarda eğer kanama için başka risk faktörleri de mevcutsa phytomenadion (vitamin K1) önerilir. Phytomenadion'un tipik dozu, 0,5 mg intravenöz (i.v.) veya 5 mg oral'dir. Eğer tedavi esnasında büyük miktarda kanama mevcut ise varfarin tedavisi durdurulur ve F 2,7,9,10 konsantreleri ile birlikte phytomenadion 5mg i.v. yavaş infüzyon şeklinde verilir. Faktör konsantresi sağlanamaz ise taze donmuş plazma verilmesi uygundur ancak faktör konsantresi kadar etkili değildir. Eğer kanama terapötik INR değerlerinde beklenmedik şekilde meydana gelir ise altta yatan renal veya gastrointestinal başka bir sebebi araştırmak gerekir. Teorik olarak varfarinin ani kesilmesi, tromboz riski ile birlikte rebound hiperkoagülabilitateye sebep olabilmektedir. Bazı klinisyenler, uzun süreli oral antikoagülan tedaviyi, sonlandırılması gerektiği durumlarda yavaşça azaltarak sona erdirmeyi önermektedirler (21).

2.1.7. Varfarinin Diğer İlaçlar İle Etkileşimi

Pek çok bileşen varfarin ve diğer oral antikoagülanlar ile karşılıklı etkileşim halindedir. Etkileşim; artmış veya azalmış antikoagülan metabolizması, varfarin stereoisomerleri üzerine seçici etki, ilaç absorpsiyonundaki ve plazma proteinlerine bağlanma oranındaki değişiklikler şeklinde olabilir.

Analjezik ve nonsteroid anti inflamatuvarlar (NSAİ) ile Varfarinin etkileşimi

Varfarin alan hastalarda, tüm NSAİ'lar çok dikkatli kullanılmalıdır. Pek çok NSAİ trombosit fonksiyonunu inhibe eder ve gastrointestinal irritasyonla hemoraji riskini artırır. Ayrıca bazı NSAİ'lar, koagülasyon üzerinde intrinsik etki ile veya varfarini plazma protein bölgesinden ayırarak hipoprotrombinemik etkisini artırabilirler. Bu etki genellikle geçicidir ve NSAİ başladıktan sonraki ilk haftalarda oluşmaktadır özellikle bu dönemde antikoagülasyonun yakın takibi gereklidir. Yüksek doz aspirin ve diğer salisilatlar varfarinin hipoprotrombinemik etkisini artırır ve oral antikoagülan almakta olan hastalarda bu ilaçların kullanımından sakınılmalıdır. Fenilbutazon, oksifenbutazon; varfarinin R ve S izomerlerinin metabolizmasını farklı

yollarla değiştirerek antikoagölasyon aktivitesini artırırılar. Bu ilaçlar varfarin alan hastalarda ciddi kanamalara neden olabileceğinden kullanımından kaçınılmalıdır. Diflunisanol, flurbiprofen, indometazin, ketoprofen, meklofenomat Na, mefenamik asid ve piroksikamı içeren NSAİ'ların; varfarinin hipoprotrombinemik etkisini artırdığını gösteren çalışma sayısı azdır ve bu konuda izole vakalar mevcuttur. Varfarin aktivitesine, etodolak, ibuprofen ve naproksenin minimal etkisi mevcuttur. Bununla beraber oral antikoagölün tedavi alan hastalarda tavsiye edilen analjezik ve antipiretik parasetamoldür (21).

Antiaritmikler ile Varfarinin etkileşimi

Amiodaronun varfarinin metabolizmasını inhibe ederek aktivitesini artırdığını gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Disopiramid ve kinidin hakkında yayımlanan izole vakalarda bu ilaçların, varfarinin antikoagölün etkisini artırdığını göstermektedir (28,29).

Antiepileptikler ile Varfarinin etkileşimi

Fenobarbital ve primidon gibi barbitüratlar, varfarin metabolizmasını artırarak aktivitesini azaltırılar. Karbamazepinin de benzer etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (30). Fenitoinin, antikoagölünler üzerine etkisi net değildir. Varfarinin etkisini artırdığını gösteren yayınlar olmakla birlikte başlangıçta artmış etkiyi takip eden azalmış antikoagölün aktivitesini gösteren vakalar mevcuttur (31). Valproik asidin başlama döneminde varfarin cevabında geçici artış olduğu gösterilmiştir. Valproat ayrıca trombosit fonksiyonunu inhibe eder ve varfarin ile birlikte verildiğinde dikkatli olunması gerekir (32).

Antidepresanlar ile Varfarinin etkileşimi

Trisiklik antidepresanların varfarin üzerindeki etkisini araştıran çok az sayıdaki incelemede net etki üzerinde kesin uzlaşma yoktur. Ancak fluvoksamin ve diğer SSRI'ların artmış varfarin aktivite riskine sebep olabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (33).

Antibakteriyeller: Çeşitli antibakteriyel ajanlar, varfarin ile etkileşim içindedir. Kotrimoksazol, varfarin metabolizmasını inhibe ederek artmış varfarin cevabına neden olur. Sulfametazol, sulfafenazolü içeren sulfonamidler, artmış varfarin aktivitesine neden olur. Eritromisin, klaritromisin; varfarin metabolizmasını inhibe ederek varfarin etkisini potansiyalize eder. Aminosalisilik asid, benzil penisilin, kloramfenikol, doksisisiklin, isoniazid ve neomisinin varfarinin artmış etkisine neden olduğunu gösteren izole vakalar mevcuttur. Rifampisin; varfarini metabolize eden enzimleri aktive ederek, etkisinin azalmasına neden olur (34).

2.2. İntravenöz Lipid Emülsiyon Tedavisi

İntravenöz lipid emülsiyonları parenteral beslenmede kalori ve esansiyel yağ asidi kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu emülsiyonlar, orta zincirli trigliserit, uzun zincirli trigliserit veya kombinasyon biçimde bulunmaktadır. Değişik formları bulunan lipidin, %20 emülsiyon formunda %20 soya yağı, %1,2 yumurta sarısı fosfolipidi, %2,25 gliserin bulunmaktadır. Bunların yanı sıra uzun zincirli trigliseritlerden linoleat, oleat, palmitat gibi serbest yağ asitlerini de içermektedir. Soya yağı, serbest yağ asidi olan linoleat ve linolenatın temel ürünü olması nedeniyle sıklıkla kullanılır (35). İntravenöz lipid emülsiyon, şilomikron benzeri partiküllerin lipozomlarla bir araya gelmesiyle oluşur. Öncelikli olarak β -oksidasyona daha az olarak omega oksidasyona katılırlar ve sonunda enerji kaynağı olarak (ATP) depolanırlar (36, 37).

2.2.1. İlaç Toksisitesinde İntravenöz Lipid Emülsiyon Tedavisi

İntoksikasyonlarda intravenöz lipid emülsiyon tedavisinin etki mekanizmasında en olası teori “yağda çökme” teorisidir. Lipid moleküllerinin, dolaşımda bulunan yağda çözünen toksik maddeleri tutarak emülsiyon içerisine çökmesini sağladığı düşünülmektedir (37, 38). Weinberg ve arkadaşları, izole rat kalbi üzerinde yaptıkları çalışmalarda lipid emülsiyon kullanımının bupivakainin kalp dokusundaki konsantrasyonunu %70 oranında azalttığını ve dokunun bupivakainden temizlenmesinde yardımcı olduğunu ortaya koymuştur (39). Bu çalışmanın sonucunda

bupivakainle ortaya çıkan kardiyak arrest durumunda, lipid emülsiyon tedavisinin bupivakain etkisi altındaki kalp üzerine pozitif inotrop ve kronotrop etkiye sahip olduğu görülmüştür (40). Bupivakain toksisitesi üzerine çalışmalar süresince rat modellerinde bupivakainin de üyesi olduğu lokal anesteziklerin toksisitesi başta olmak üzere, verapamil (41, 42, 43), propranolol (44), bupropion (45), lamotrijin (45), klomipramin (46), haloperidol (47), ketiapin (48), sertralin (48) ve organofosfatlar (49) gibi lipofilik ajanların toksisitelerinde de lipid tedavisinin etkinliği gösterilmiştir.

Diğer bir teori ise lipid emülsiyonunun kardiyak enerji kaynağı olarak kullanılmasıdır. Normal istirahat halindeki kalp dokusunda miyokardiyal ATP sentezi için yağ asitleri kullanılmaktadır. İzole kalp dokusu üzerine yapılan bazı çalışmalar, kardiyak iskemi sırasında da enerji kaynağı olarak yağ asitlerinin kullanıldığını düşündürmektedir (50). Lokal anesteziklerin yağ asidi metabolizmasını bozarak gerçekleştirdikleri kardiyotoksisite ve enerji üretiminin azalması, lipid emülsiyonların sağladığı yüksek enerji ile geri çevrilebilir (5).

Lipid emülsiyon tedavisi ile ilgili güçlü kanıtlarla desteklenen son teori ise hücre içi kalsiyum seviyesini arttırarak miyozit fonksiyonlarını düzelttiği görüşüdür. İzole kalp dokusu üzerinde yapılan çalışmalar, serbest yağ asitlerinin voltaj kapılı kalsiyum kanallarını aktive ettiği gösterilmiştir. Kalsiyum kanalı aktivasyonu doymamış (linoleat, linolenat ve oleat) ve doymuş (palmitat ve stearat) yağ asitlerinde gösterilmiştir. Bu yağ asitleri ILE'nin major komponentleridirler (36,51). Etki mekanizması tam olarak ortaya çıkarılamamış olsa da lipid emülsiyonunun lipofilik ilaçların intoksikasyonunda etkili olmasının, bahsedilen bu 3 mekanizmanın sinerjistik etkileri ile olduğu düşünülmektedir (35).

Eski kılavuzlarda lokal anestezik sistemik toksisite durumunda antidot olarak kabul edilen lipid emülsiyonu, 2015 yılında yayınlanan Amerikan Kardiyoloji Cemiyeti Acil Kardiyovasküler Bakım Kılavuzu'nda standart tedavilere yanıt vermeyen ilaç intoksikasyonlarında da uygulanması önerilmektedir (52). Kullanım dozu konusunda farklı öneriler olsa da Amerikan Medikal Toksikoloji Koleji lipid kullanımı ile ilgili yayınladığı kılavuzda 1,5 mL/kg IV bolus uygulamayı takiben 0,25 mL/kg/dk infüzyon önermektedir (53).

2.2.2. İntravenöz Lipid Emülsiyon Tedavisinin Yan Etkileri

Bu ajanların klinik olarak kullanılabilmeleri için yan etkilerinin nadir olması gerekir. Kontaminasyon genellikle ILE'nin parenteral nutrisyon solüsyonlarına karıştırılmaları esnasında olmaktadır. Mikrobiyal kontaminasyon veya partikül iritasyonu sonucu tromboflebit veya enfeksiyon (sepsis) gelişebilir. İntravenöz lipid emülsiyon ile direk reaksiyonlar nadirdir ancak pirojenik reaksiyonlar ve aşırı yağ yükü oluştururlar. Neyseki pirojenik reaksiyonlar ile ilgili semptomlar %1'in altında hastada rapor edilmiştir (36).

Geç yan etkiler ILE'nin yüksek dozda verilmesinden ve birikmesinden kaynaklanır. Aşırı yağ birikimi hiperlipidemi, hepatosplenomegali, sarılık, nöbet, hemolitik anemi, uzamış pıhtılaşma zamanı, trombositopeni ve yağ embolisi ile kendini gösterir. Bu komplikasyonlar bozulmuş plazma klirensi veya ILE'nin yağ metabolizmasını aşan kapasitede uygulandıklarında gözlenir (36).

İntravenöz lipid emülsiyonun pulmoner fizyolojik etkileri önemlidir çünkü pulmoner destek alan ve mekanik ventilasyon uygulanan kritik hastalarda olası toksik etkiler meydana gelebilir. Vaka raporları solunum yetmezlikli ve/veya sepsisteki hastalarda ILE kullanımının düşük kan O₂ içeriğine, şantlarda artmaya ve pulmoner vazokonstrüksiyona neden olduğunu göstermiştir (36). Uygulama hızı 0.1 g/kg/4 saat'i geçmemelidir; 100 mg/kg hızından yüksek bir hızda verilmesi halinde pulmoner hipertansiyona neden olabileceği bildirilmiştir. Lipid emülsiyon uygulamasında yağ embolisi genellikle 1 mikrondan büyük yağ damlacıklarında görülen bir yan etkidir ve klinik kullanımında herhangi bir vaka bildirilmemiştir. Özellikle 5 mikrondan büyük olanlar pulmoner, splenik, plasental ve serebral emboliye sebep olabilirler (55, 56).

2.3. Protrombin Kompleks Konsantresi (PCC)

K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörleri olan II, VII, IX ve X'un kombinasyonudur. İçerisinde yeterli miktarda Protein C, S ve antitrombin içerir (57). Protrombin Kompleks Konsantresi (PCC), normal plazmadakinin yaklaşık 25 katı kadar faktör içerir. Esasen Hemofili B hastalarının tedavisi için geliştirilmiş olan PCC,

eksik pıhtılaşma faktörlerinin replasmanında ve varfarin kullanımına bağlı INR yüksekliğinin düzeltilmesinde hızlı ve etkili bir yöntemdir.

2.3.1. Protrombin Kompleks Konsantresinin (PCC) Farmakodinamik Özellikleri

K vitamini yardımıyla karaciğerde sentezlenen koagülasyon faktörleri II, VII, IX ve X olup genel olarak Protrombin Kompleksi olarak adlandırılırlar. Faktör VII, kan koagülasyon kaskadının ekstrinsik yolağının başlangıcındaki aktif serin proteaz faktör VIIa'nın zimojenidir. Doku faktörü-faktör VIIa kompleksi faktör X ve faktör IX'u aktive eder, bu aktivasyonla faktör IXa ve faktör Xa oluşur. Koagülasyon kaskadının farklı bir aktivasyonu ile protrombin (faktör II) aktive olur ve trombine dönüşür. Trombinin oluşması ile fibrinojen fibrine dönüşür ve sonuç olarak pıhtı oluşur. Trombinin normal oluşumu, primer hemostazın bir parçası olarak trombosit fonksiyonu açısından hayati önem taşır. İzole ciddi faktör VII eksikliği, az miktarda trombin oluşumuna ve fibrin oluşum bozukluğu ile primer hemostaz bozukluğuna bağlı kanama eğilimine neden olur. İzole faktör IX eksikliği, klasik hemofili hastalıklarından biridir (hemofili B). İzole faktör II ya da faktör X vakaları çok seyrek fakat ciddidir, klasik hemofilide görülen klinik duruma benzer bir kanama eğilimine neden olurlar (58). K vitaminine bağımlı koagülasyon faktörlerinde edinilmiş eksiklik, K vitamini antagonistleri ile tedavi sırasında meydana gelir. Eğer eksiklik ciddileşirse, ciddi bir kanama eğilimi ile sonuçlanır. Kas ve eklem hemorajisinden daha çok retroperitonel ya da serebral kanama ile karakterizedir. İnsan protrombin kompleksi uygulaması, K vitaminine bağımlı koagülasyon faktörlerinin plazma değerlerinde artışa neden olur ve bir ya da birden fazla faktör yetmezliği olan hastalarda koagülasyon bozukluğunu geçici olarak düzeltebilir (59).

2.3.2. Protrombin Kompleks Konsantresinin (PCC) Farmakokinetik Özellikleri

PCC'nin tek doz 50 ü/kg IV uygulamasıyla faktör II, VII, IX ve X'un ve protein S ve C miktarlarında hızlı ve kalıcı artış sağlanır (60). İnfüzyon sonrası 5. dakikada faktör II için %122, faktör VII için %62, faktör IX için %73, faktör X için %158,

protein C için %149 protein S için %59 artış gözlenir (61). Yarı ömürleri faktör II için 40-60 saat, faktör VII için 4-6 saat, faktör IX için 18-25 saat, faktör X için 30-60 saattir (59).

PCC'lerin intravenöz uygulama sonrası absorpsiyonu tam ve hızlıdır. Eliminasyon esas olarak, pıhtılaşma sisteminin aktivitesi sırasında kullanım yoluyla gerçekleştirir. Eliminasyonu dozla orantılı olarak lineerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Yeditepe Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 12.05.2017 tarihli 602 karar numarası ile onayının alınmasından sonra Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. DENEKLER

Bu araştırma Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi Laboratuvarı'nda Ağustos 2017'de gerçekleştirilmiştir. Çalışma için 300-400 g ağırlığında 40 adet Spraque-Dawley cinsi erişkin sıçan kullanılmıştır.

3.2. DENEY DÜZENEGİ

Deney 5 günde gerçekleştirilecek şekilde planlanmıştır. İlk gün sıçanlar, rastgele olarak 5 gruba ayrılmıştır. Gruplar Sham, Saline, PCC, ILE, PCC+ILE şeklinde isimlendirilmiştir. Deneyde karşılaştırılan ilaçların etki gücünü ölçmek için sıçanların varfarin etkisiyle PT, aPTT ve INR değerlerinin yükselmiş olması gerektiğinden, tedavi öncesi PT, aPTT ve INR değerlerinin normal aralıkta olduğunu yani başka bir nedenle bu değerlerde yükselme olup olmadığını görmek için tüm gruplardaki sıçanlardan kan örneği alınmıştır.

Dört gün boyunca tüm gruplardaki sıçanlara standart diyet ve su verilmiştir. Sham dışındaki gruplarda bulunan sıçanlara, etkin PT, aPTT ve INR değeri elde edebilmek için 4 gün boyunca oral besleme kateteri ile 2mg/kg varfarin (Coumadin® 5 mg 28 tb, Zentiva) verilmiştir (71).

Grupların deney sırasında aldığı ilaç tedavileri aşağıdaki gibidir:

1. Sham grubu: Deney süresince inhaler anestezi ajanı dışında ilaç uygulanmayan grup (n=7).

2. Salin grubu: 2mg/kg varfarin (4 gün) + 5. gün 1.5 mL/kg bolus + 0.25 mL/kg/30dk dozunda serum fizyolojik verilen kontrol grup (n=7).

3. PCC grubu: 2mg/kg varfarin (4 gün) + 5. gün Protrombin kompleks konsantresi (50 U/kg) verilen grup (n=8).

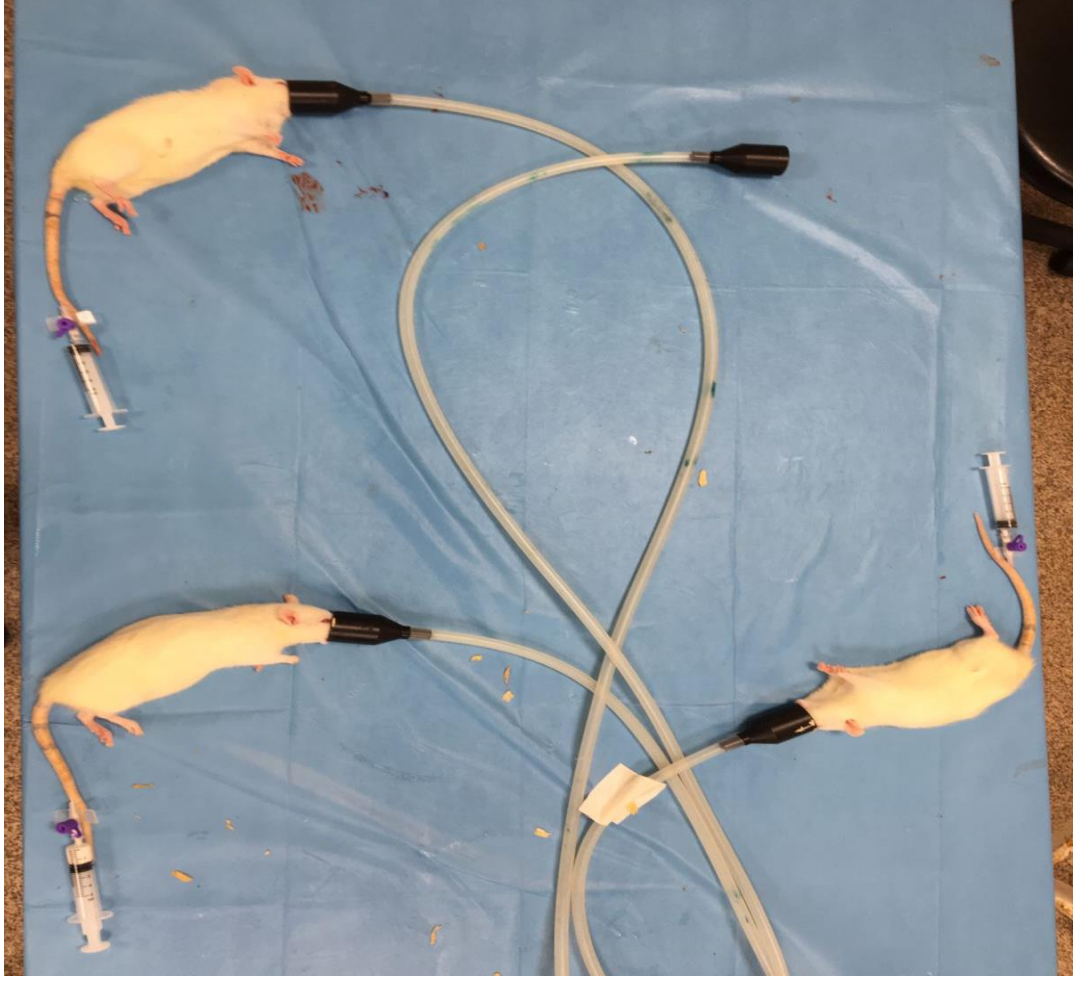
4. ILE grubu: 2mg/kg varfarin (4 gün) + 5. gün İntravenöz lipid emülsiyon tedavisi (1.5 ml/kg bolus + 0.25mL/kg/30dk IV) verilen grup (n=9).

5. PCC+ILE grubu: 2mg/kg varfarin (4 gün) + 5. gün İntravenöz lipid emülsiyon tedavisi + Protrombin kompleks konsantresi (1.5 ml/kg bolus+0.25mL/kg/30dk IV lipid emülsiyon + 50 U/kg PCC) verilen grup (n=9).

Beşinci gün tüm deney hayvanları inhaler izofluran (İzofluran, Isofludem 100 ml, Dem İlaç, İstanbul, Türkiye) kullanılarak Animal Anesthesia Machine ile anestezi altına alınmıştır (Şekil 1, Şekil 2). Yeterli anestezi derinliği sağlandıktan sonra kan örneği almak ve çalışmada kullanılan ilaçları uygulamak için her gruba 26 G intraket (IV NEO ALPHA, La-med Healthcare, Hayrana, India) ile kuyruk ven kanülasyonu yapılmıştır (Şekil 3). Tüm gruplarda ilaç uygulanması sonrasında tekrar kan alınarak anestezi altında giyotin ile dekapitasyon sağlanmıştır.



Şekil 1. Animal Anesthesia Machine



Şekil 2. Deney hayvanlarının izofluran ile anestezi altına alınması



Şekil 3 . Anestezi altında kuyruk ven kateterizasyonu

3.3.DENEYİN UYGULANMASI

Sham grubu: Deney süresince diğer gruplarla aynı şekilde beslenip aynı ortamda bulunan grup. Bu gruptaki sıçanlara varfarin verilmemiştir. 5. Gün diğer gruplardaki sıçanlar gibi inhaler ajanla anestezi altında kuyruk ven kateteri açılarak kan örneği alınmıştır.

Salin grubu: Kuyruk ven kateterinden varfarin tedavisi sonrası INR değerine bakmak için kan örneği alınmıştır. Ardından 1.5 mL/kg bolus sonrasında 30 dakika boyunca 0.25 mL/kg dozunda serum fizyolojik verilmiş, yaklaşık 15 dakika sonra tedavi sonrası INR değerine bakmak için yeniden kan örneği alınmıştır. Giyotin ile dekapitasyon sağlanmıştır.

PCC grubu: Kuyruk ven kateterinden varfarin tedavisi sonrası INR değerine bakmak için kan örneği alınmıştır. Protrombin kompleks konsantresi (50 U/kg) yaklaşık 30 dakikalık süre içerisinde verilmiş, yaklaşık 15 dakika sonra tedavi sonrası INR değerine bakmak için yeniden kan örneği alındıktan sonra giyotin ile dekapitasyon sağlanmıştır.

ILE grubu: Kuyruk ven kateterinden varfarin tedavisi sonrası INR değerine bakmak için kan örneği alınmış, ardından İntravenöz lipid emülsiyon tedavisi (1.5 ml/kg bolus sonrasında 0.25 mL/kg 30 dakika boyunca IV) verilmiştir. Yaklaşık 15 dakika sonra tedavi sonrası INR değerine bakmak için yeniden kan örneği alınmış, giyotin ile dekapitasyon sağlanmıştır.

PCC+ILE grubu: Kuyruk ven kateterinden varfarin tedavisi sonrası INR değerine bakmak için kan örneği alındıktan sonra İntravenöz lipid emülsiyon tedavisi + Protrombin kompleks konsantresi (1.5 mL/kg bolus + 0.25 mL/kg/30dk IV lipid emülsiyon + 50 U/kg PCC) birlikte verilmiş, yaklaşık 15dakika sonra tedavi sonrası INR değerine bakmak için yeniden kan örneği alındıktan sonra giyotin ile dekapitasyon sağlanmıştır.

Çalışma için alınan kan örnekleri 1 ml %3.2 Sodyum Sitrat içeren koagülasyon tüplerine koyuldu (Vacusera, Disera, İzmir). Ardından 10 bin devirde 4 dakika santrifüj edildikten sonra bekletilmeden Fatih Sultan Eğitim Ve Araştırma Hastanesi

Acil Laboratuvarı'nda Stago marka STA Compact model koagülasyon cihazında Neoplastine CI Plus ve C.K. Prest kitleri kullanılarak çalışılmıştır.

Tablo 4. Çalışma Yönteminin Özet Olarak Sunumu

	Sham grubu	Salin grubu	PCC grubu	İLE grubu	PCC+İLE grubu
1.gün	INR bakılması için kan örneği alınması				
1-4. gün	Standart diyet verildi	Standart diyet ve suya ek olarak oral besleme kateteri ile 2mg/kg varfarin oral verildi.			
5.gün	İnhaler izofluran ile anestezi sağlandıktan sonra kuyruk ven kanülasyonu sağlandı.				
5.gün	INR bakmak için kan örneği alındı	Varfarin tedavisi sonrası kontrol INR değerine bakmak için kan örneği alındı.			
5.gün	İlaç uygulaması yapılmadı	1.5 mL/kg bolus+0.25 mL/kg/30d k dozunda serum fizyolojik	50 U/kg IV dozunda PCC	1.5 mL/kg bolus + 0.25 ml/kg/30dk IV dozunda İLE	50U/kg IV dozunda PCC +1.5ml/kg bolus +0.25mL/kg/30 dk IV dozunda İLE
	Tedaviden 15 dakika sonra INR değerine bakmak için tüm gruplardaki deney hayvanlarından kan alındıktan sonra giyotin ile dekapitasyon sağlandı.				

3.4.İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. İstatistiksel analiz verileri ortalama $\pm$ standart sapma ve median (minimum–maksimum) değerler ile sunuldu. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde $p<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda toplam 40 sıçan kullanılmıştır. Bu sıçanlardan 8 tanesi çalışmanın belirli aşamalarında hayatını kaybettiği ve gerekli kan parametreleri için yeterli kan elde edilemediği için veya alınan kan örneklerinin transportu ve çalışılması ile ilgili problemlerden dolayı çalışma dışı bırakılmıştır. Tablo 5'te sıçanların hangi aşamalarda çalışma dışında bırakıldıkları gösterilmektedir. Çalışmamıza en son 32 sıçan dahil edilmiştir. Dahil edilen tüm deney hayvanları çalışma sonunda öldürülmüştür.

Tablo 5. Çalışma dışı kalan sıçanların günlere ve nedenlere göre dağılımı

	Sham grubu (n=7)	Salin grubu (n=7)	PCC grubu (n=8)	ILE grubu (n=9)	PCC+ILE grubu (n=9)
1. Gün				1 sıçandan alınan kan örneği çalışılamadı	1 sıçan öldü
2. Gün		1 sıçan öldü		1 sıçan öldü.	
3. Gün					2 sıçan öldü
4. Gün				1 sıçan öldü.	
5. Gün	1 sıçandan yeterli kan alınamadı.				
Toplam	6	6	8	6	6

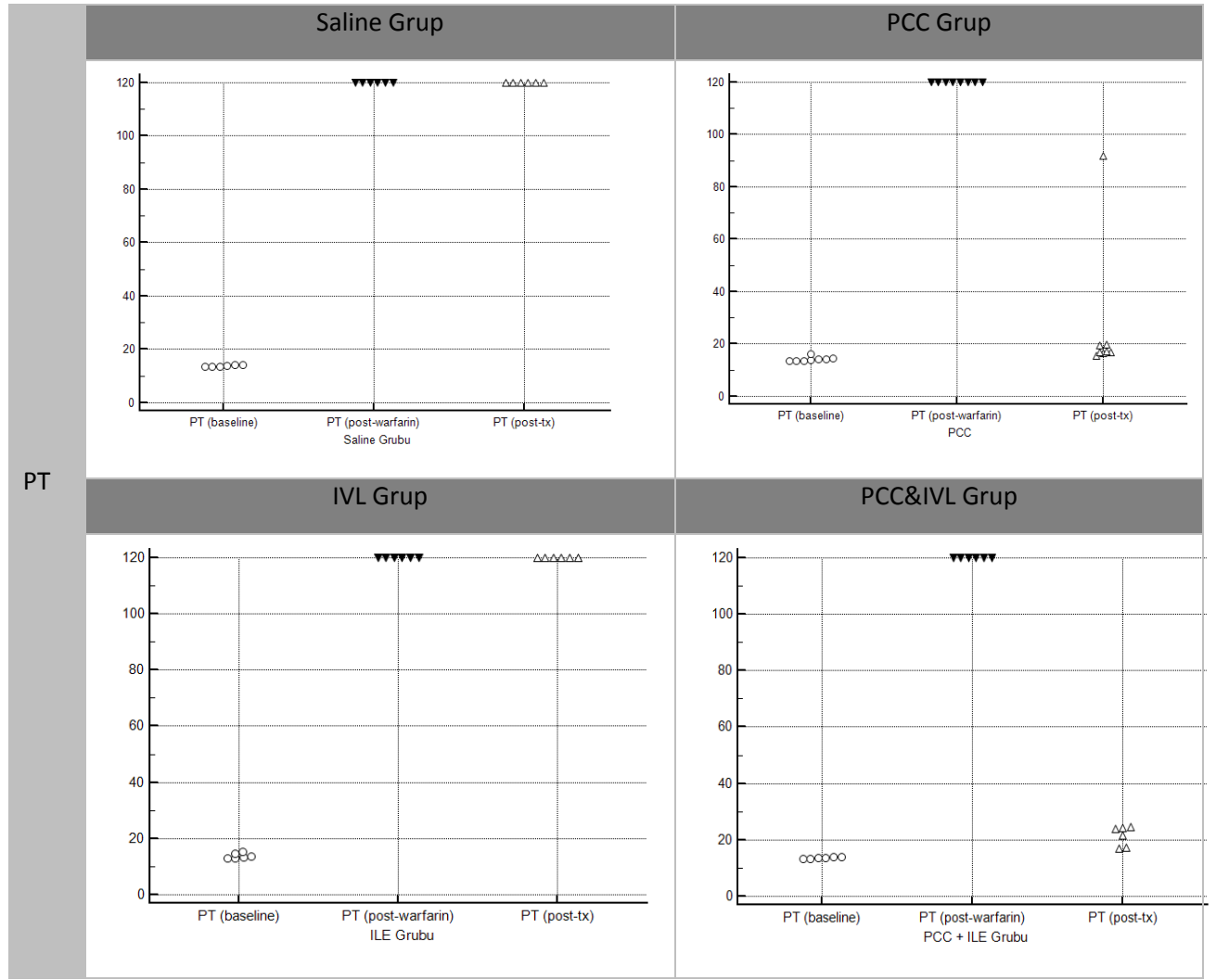
Varfarin ile antikoagüle edilmeyen Sham (kontrol) grubu ve diğer tüm grupların oral varfarin tedavi öncesindeki PT ve aPTT değerlerinin medyanları ve 25-75 IKA'ları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6.Koagüle edilmeyen Sham grubunun ve diğer gruplardaki ratların oral varfarin tedavisi öncesi (0. saat) PT ve aPTT değerleri

Gruplar	Koagülasyon parametreleri				
	n	PT		aPTT	
		Medyan	25-75 IKA	Medyan	25-75 IKA
Sham	7	14.00	13.73 ila 14.33	15.60	15.00 ila 16. 20
Saline	7	13.80	13.55 ila 14.03	14.70	14.00 ila 15.50
PCC	8	13.95	13.70 ila 14.40	14.45	13.50 ila 15.80
ILE	9	13.50	13.08 ila 14.60	15.30	14.23 ila 15.90
PCC+ILE	9	13.50	13.40 ila 13.90	15.10	0.00 ila 16.03

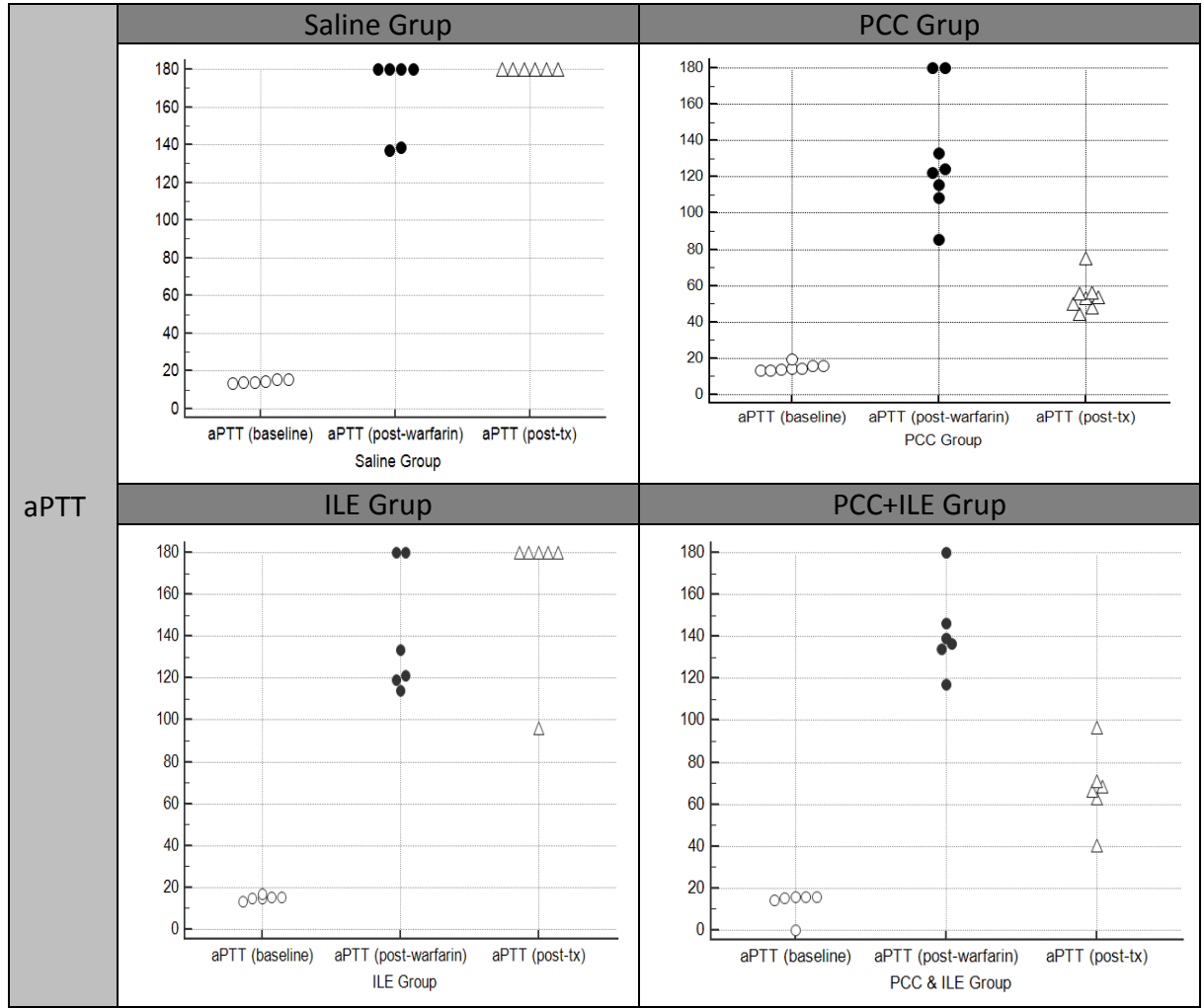
(aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, PT: protrombin zamanı, PCC: protombin kompleks konsantresi , ILE: intravenöz lipid emülsiyon tedavisi)

Tüm grupların antikoagülasyon öncesindeki, antikoagülasyondan sonraki ve tedavi sonrasındaki 15. dakikadaki PT ve aPTT medyan değerlerinin grafikleri Şekil 4 ve Şekil 5'de gösterilmiştir. Tüm gruplarda yeterli antikoagülasyon sağlandığı görülmüştür. Bazal değerlerde gruplar arası anlamlı fark bulunmamıştır.



(aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, PT: protrombin zamanı, PCC: protombin kompleks konsantresi , ILE: intravenöz lipid emülsiyon tedavisi)

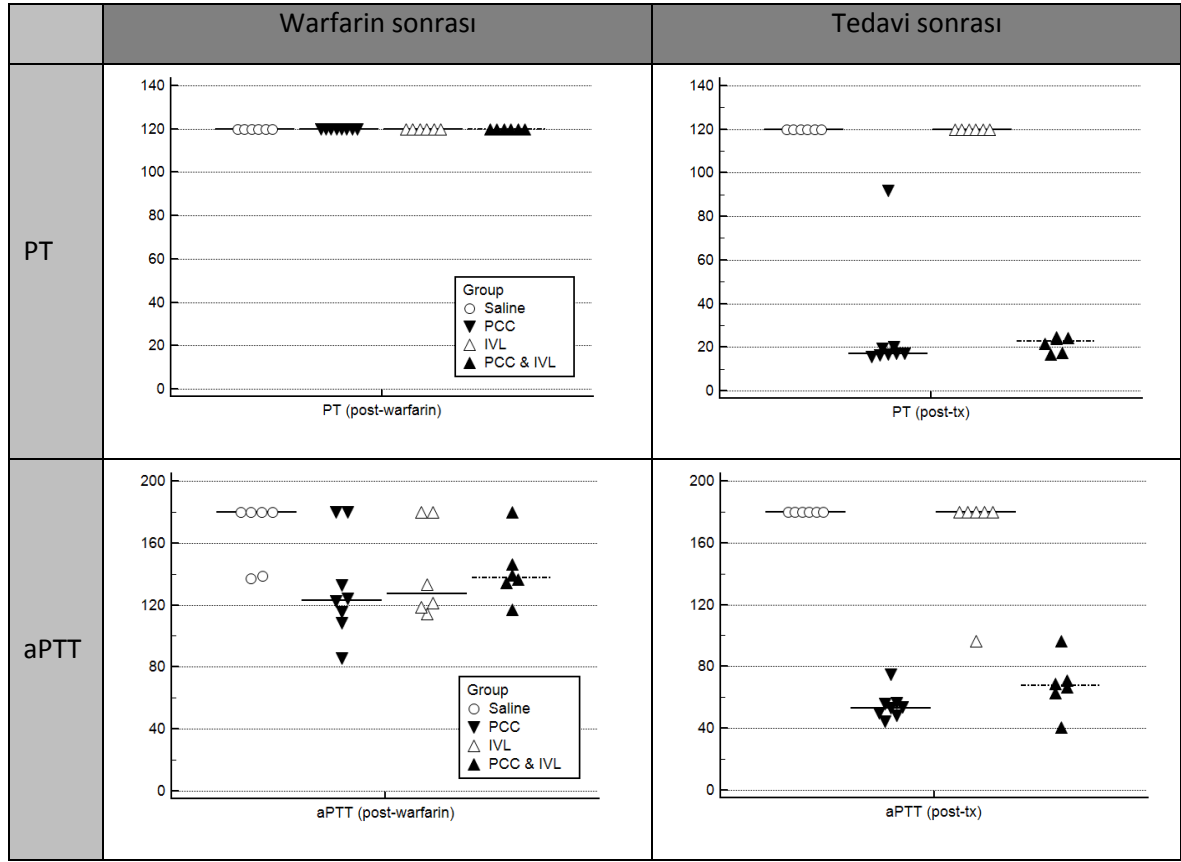
Şekil 4. Grupların varfarin öncesi (baseline), varfarin sonrası (post-warfarin) ve tedavi sonrası (post-tx) Protrombin Zamanı grafikleri



(aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, PT: protrombin zamanı, PCC: protrombin kompleks konsantresi , ILE: intravenöz lipid emülsiyon tedavisi)

Şekil 5. Grupların varfarin öncesi (baseline), varfarin sonrası (post-warfarin) ve tedavi sonrası (post-tx) aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı grafikleri

Grupların varfarin sonrası ve tedavi sonrasındaki PT ve aPTT değerlerindeki değişim grafikleri Şekil 6’de gösterilmiştir.



(Yatay çizgiler grup medyanlarını göstermektedir)

(aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, PT: protrombin zamanı, PCC: protrombin kompleks konsantresi, ILE: intravenöz lipid emülsiyon tedavisi)

Şekil 6. Grupların PT ve aPTT sürelerinin varfarin sonrası ve tedavi sonrası değişim grafiği

Grupların tedavi sonrasındaki PT değerlerinin medyan farkları Tablo 7’de ikişerli olarak karşılaştırılmıştır. Salin grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında PT değeri PCC ve PCCILE gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek seyretmiştir. PCC grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında PT değerlerinde anlamlı düzeyde düşüş saptanmış olup; ILE grubu ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde PCC+ILE tedavisi alan gruptaki sıçanlarda sadece ILE tedavisi alan gruba göre PT düzeylerinde anlamlı şekilde azalma saptanmış olup; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 7. Grupların PT değerlerinin medyan farklarının ikişerli olarak karşılaştırılması

	Grupların karşılaştırılması	Medyan farkları (95% CI)	P
PT	Saline vs PCC	102.9 (100.0, 103.5)	0.0015
	Saline vs ILE	0.0 (0.0, 0.0)	1.0000
	Saline vs PCC +ILE	97.3 (95.3, 103.2)	0.0028
	PCC vs ILE	102.9 (100.0, 103.5)	0.0015
	PCC vs PCC +ILE	4.4 (-2.6, 7.5)	0.1376
	ILE vs PCC +ILE	97.3 (95.3, 103.2)	0.0028

(aPTT:aktif parsiyel tromboplastin zamanı, PT: protrombin zamanı, PCC:protombin kompleks konsantresi , ILE: intravenöz lipid emülsiyon tedavisi)

Grupların tedavi sonrasındaki aPTT değerlerinin medyan farkları Tablo 8’de ikişerli olarak karşılaştırılmıştır. Saline grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında aPTT değeri PCC ve PCC+ILE gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek seyretmiştir. PCC grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında aPTT değerlerinde anlamlı düzeyde düşüş saptanmış olup; ILE grubu ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde PCC+ILE tedavisi alan gruptaki sıçanlarda sadece ILE tedavisi alan gruba göre aPTT düzeylerinde anlamlı şekilde azalma saptanmış olup; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 8. Grupların aPTT değerlerinin medyan farklarının ikişerli olarak karşılaştırılması

	Grupların karşılaştırılması	Medyan farkları (95% CI)	P
aPTT	Saline vs PCC	126.7 (123.5, 131.8)	0.0015
	Saline vs ILE	0.0 (0.0, 83.7)	0.4602
	Saline vs PCC + ILE	112.5 (83.5, 139.4)	0.0028
	PCC vs ILE	126.3 (105.0, 131.8)	0.0017
	PCC vs PCC + ILE	14.6 (7.6, 24.2)	0.1213
	ILE vs PCC + ILE	111.3 (55.7, 117.3)	0.0056

(aPTT:aktif parsiyel tromboplastin zamanı, PT: protrombin zamanı, PCC:protombin kompleks konsantresi , ILE: intravenöz lipid emülsiyon tedavisi)

5. TARTIŞMA

Varfarinin, PT ve aPTT değerleri üzerine olan etkisine İntralipid tedavisinin etkisinin olup olmadığını; varsa antidot olarak kullanılan Protrombin Faktör Kompleksi Konsantresi (PCC) kadar etkili olup olmadığına cevap aradığımız çalışmamızda kronik varfarin tedavisi alan ratlarda intralipid tedavisinin PT ve PTT değerleri üzerinde etkisinin olmadığı ve tedavide PCC kadar etkin olmadığı saptanmıştır.

Varfarin, dünyada en sık kullanılan dar terapötik indeksli oral antikoagülandır ve bireyler arası geniş doz cevabı değişkenliğiyle karakterizedir (18, 62). Varfarin, dar terapötik indeksi nedeniyle özellikle başlangıç döneminde daha fazla olmak üzere sıklıkla kanama komplikasyonlarına sebep olabilmektedir. Varfarin kullanan tüm hastalarda, yıllık %7.6 ila %16.5 kanama ve %1.3 ila %2.7 oranında hayatı tehdit eden büyük kanamalar gelişmektedir (63, 64). Kanama riski, terapötik düzeylerde de olabilmesine rağmen antikoagülasyonun yoğunluğu ile artmaktadır (24).

Varfarinin çoğu ilaçla etkileşime girmekte olup; etkinliği ilaçlara bağlı olarak azalıp artabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı da sadece kanamaya meyil sağlamayıp, tam tersine etkinliği azaldığında emboli ve tromboz eğiliminde artışa da neden olabilmektedir. Tedavinin etkinliği INR düzeyi ile ölçülmektedir.

Varfarin tedavisi esnasında gelişen kanama ve artmış antikoagülasyonun kontrolünde, kanamanın derecesi ve Uluslararası normalize edilmiş protrombin zaman oranı (INR) değerindeki yükseklik referans alınır (22). Eğer INR değeri 5 üzeri ancak kanama yok veya geçici az miktarda kanama mevcut ise varfarin, INR değeri 5'in altına düşünceye kadar yavaş yavaş kesilir. INR değeri 5–6 arası olan bazı vakalarda, varfarin dozunun azaltılması tamamen kesilmesine göre daha uygundur. INR değeri 8 üzeri olan vakalarda eğer kanama için başka risk faktörleri de mevcutsa phytomenadion (vitamin K1) önerilir. Phytomenadion'un tipik dozu, 0,5 mg i.v veya 5mg oral'dir. Eğer tedavi esnasında büyük miktarda kanama mevcut ise

varfarin tedavisi durdurulur ve F 2,7,9,10 konsantreleri ile birlikte phytomenadion 5mg i.v yavaş infüzyon şeklinde verilir. Faktör konsantresi sağlanamaz ise taze donmuş plazma verilmesi uygundur, ancak faktör konsantresi kadar etkili değildir (21).

Etki mekanizması tam olarak ortaya çıkarılamamış olan lipid emülsiyonunun lipofilik ilaçların intoksikasyonunda etkili olduğu ve bu ilaçların etkinliğini azalttığı gösterilmiştir (35). Cave ve arkadaşları (65) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, beta bloker grubundan propranolol toksisitesinin tedavisinde lipid kullanımının etkinliğini, Tebbut ve arkadaşları (41) ise verapamil toksikasyonunda lipid tedavisinin etkinliğini araştırmışlardır. Lipid emülsiyonunun bu ilaçların toksik yan etkilerini azaltırken, sağkalım oranını arttırdığı ve aynı zamanda verapamilin ortalama letal dozunu iki katına çıkarttığı saptamıştır. Kang ve ark.'larının yaptıkları iki çalışmada kalsiyum kanal blokerleri ile gelişen toksisite durumlarında lipid tedavisinin etkin olduğunu gösterilmiştir (66). Xanthos ve ark. ise lipid tedavisinin amiadoron toksikasyonu üzerindeki etkisini göstermişlerdir (67).

Eski kılavuzlarda lokal anestezi sistemik toksisite durumunda antidot olarak kabul edilen lipid emülsiyonu, 2015 yılında yayınlanan Amerikan Kardiyoloji Cemiyeti Acil Kardiyovasküler Bakım Kılavuzu'nda standart tedavilere yanıt vermeyen ilaç intoksikasyonlarında da uygulanması önerilmektedir (52).

Literatürdeki çalışmalarda, lipid emülsiyonlarının trombosit agregasyonu ve koagülasyonu üzerine çeşitli bağımsız etkilerinin olduğu ve varfarin ile farmakodinamik olarak etkileşebileceği üzerinde durulmuştur (68,69,70). MacLaren ve ark.'larının 1997 yılında yaptıkları bir çalışmada, intravenöz yağ emülsiyonu olan Lipomul'un trombosit agregasyonunu arttırdığı ve koagülasyon kaskadı ile etkileştiği ileri sürülmüştür (70). Yine Cheung ve ark.'larının 6 hastalık bir vaka serisinde soya yağı özlü %20 İntralipid emülsiyon tedavisinin koagülasyon üzerine benzer etkileri olduğu gösterilmiştir (68). Tüm bunlara ek olarak pıhtılaşma faktör sentezinin artması ve fibrinolizin önlenmesinin lipid emülsiyon tedavisi verilmesinin sonuçları olduğu iddia edilmiştir. Uzun yağ zincirli yağ asitlerinin özellikle stearic asidin Faktör 7 üretimini artırarak hiperkoagülasyonu indükleyebileceği ileri sürülmüştür. Yine başka çalışmalarda yağ asidi solüsyonlarının içinde bulunan Vitamin K'nın da varfarinin etkinliğini azaltılabileceği söylenmiştir. Ama bu çalışmalar geniş hasta tabanlı çalışmalar olmayıp ön çalışma olarak yayınlanmıştır.

Varfarinin çoğu ilaç ile farmakodinamik etkileşimi çalışılmış ve biliniyor olsa da, lipid-varfarin ikilisi arasındaki farmakokinetik etkileşim hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır. Varfarin, yağda çözünen bir ilaçtır (log P=3.5). Varfarin fazlaca emilen, oral biyoyararlanımı %93 olan, zayıf dağılımlı, %99'u albumine bağlanarak taşınan bir moleküldür (11). Bu nedenle sadece bağlı olmayan yüzdesinin artması antikoagulasyonu etkiler. Birkaç çalışmada lipid emülsiyonlarının varfarinin albumine bağlanması üzerine etkilerine bakılmıştır. Bir in vitro çalışmada palmitate, oleat yağ asitlerinin varfarinin albumine bağlanmasını arttırdığı gösterilmiştir. Bu da muhtemelen antikoagulasyonu terse çevirir diye iddia edilmiştir.

Biz de acil servise çok fazla varfarine bağlı kanama olgusu geldiği ve şu an varfarin etkisini terse çevirmek için taze donmuş plazma ya da protrombin kompleks konsantresi kullanılmasının zorunlu olduğu; bu ürünlerin de kan ürünü olup hem bulunması hem de soğuk zincir gerekliliği nedeniyle saklanması zor olduğundan, yüksek maliyetler ve kan ürün transfüzyon komplikasyonlarına da sebep olduğundan alternatif olarak İntralipid tedavisinin kullanılıp kullanılamayacağını araştırmak istedik. Aynı zamanda varfarin kullanılan hastalarda İntralipid tedavisinin antikoagulasyonu etkileyip etkilemediğini de görmek çalışmamızın amaçlarından biriydi. İntralipid emülsiyon tedavisinin etkinliğini araştırmadaki sebebimiz ise daha önce vaka bazlı bildirimlerde varfarin etkinliğini azalttığının gösterilmiş olmasıdır.

Cheung ve arkadaşları yayınladıkları vaka sunumunda yüksek lipid içerikli total parenteral nutrisyon (TPN) ile beslenen hastalarda oluşan varfarin direncinden bahsetmişlerdir (68). Varfarinin yağda çözünürlüğünün yüksek olması ve intralipid emülsiyon tedavisinin etki mekanizmasını açıklamak için kullanılan “yağda çökme” teorisi bu direncin oluşmasında en etkili mekanizma olarak gösterilmiştir (69). Yine McLaren ve arkadaşları benzer bir vaka sunumu yayınlamıştır. Bu yayında da lipid infüzyonu altında warfarin alan hastalarda, ek vitamin K kullanımı olmaksızın, mekanizması net açıklanamayan bir şekilde teropatik INR düzeylerine ulaşamadığından bahsedilmektedir (70). Bu gibi vaka sunumlarının ortak noktası ILE alan hastalarda antikoagülasyonun sağlanmasında güçlük yaşanmasıdır. Ek olarak varfarine bağlı INR yüksekliğinde ILE kullanımının, INR değerinde değişikliğe neden olup olmayacağı sorusu ise bir diğer ortak noktadır. Çalışmamızı lipofilik bir molekül olan varfarinin düzenli kullanımı sonucunda oluşabilecek INR yüksekliğinde, ILE infüzyonunun varfarin konsantrasyonunu azaltarak etkinliğini

düşüreceği hipotezi üzerine kurduk. Ayrıca ILE tedavisinin hücre içersindeki kalsiyum miktarını arttırarak miyozit fonksiyonları üzerine etkinliğinin arttığı teorisinden yola çıkarak, koagülasyon kaskadında protrombinin trombine dönüşümünde önemli rolü olan kalsiyum molekülünün hücre içersindeki artışının da antikoagülasyon üzerine indirekt olarak etki edebileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızda kullanılan ilaç dozları önceden yapılmış olan benzer hayvan deneylerindeki ilaç dozları ile aynıdır (71,72).

Çalışmamızda 40 sıçanı rastgele olarak 5 gruba ayırdık. Sham grubu 7, salin grubu 7, PCC grubu 8, ILE grubu 9, ILE ve PCC'nin birlikte verildiği grupta ise 9 hayvandan oluşacak şekilde gruplar oluşturuldu. Varfarin verilmeden önce tüm gruplardan INR bakarak değerlerinin normal olduğundan, başka bir nedenle INR yüksekliğinin olmadığından emin olarak çalışmamıza başladık. Sham grubuna çalışma süresince inhaler anestezi hariç, varfarin de dahil olmak üzere herhangi bir ilaç uygulaması yapmadık. Sham grubundaki sıçanlarda deney süresi başında ve sonunda PT, aPTT ve INR değerinde değişme olmadığını gördük. Sham grubu dışındaki sıçanlara 4 gün boyunca standart beslenmeye ek olarak 2 mg/kg dozunda oral varfarin verildi. Bu doz daha önce varfarin kullanımıyla ilgili yapılmış hayvan çalışmalarındaki dozla aynıdır (71). Beşinci gün tüm gruplardaki sıçanlardan kan örnekleri alındıktan ve PT, aPTT ve INR düzeylerine bakılarak yeterli antikoagülasyonun sağlanmış olduğu görüldükten sonra çalışmamıza başladık. Sırayla Salin grubundaki sıçanlara 1.5 mL/kg bolus sonrasında 0.25 mL/kg dozunda serum fizyolojik 30 dakika boyunca, PCC grubuna 50 U/kg dozunda PCC yaklaşık 30 dakika içerisinde, ILE grubuna 1.5 mL/kg bolus sonrasında 0.25 mL/kg ILE 30 dakika boyunca, ILE + PCC grubuna ise 1.5 mL/kg bolus + 0.25 mL/kg/30dk IV lipid emülsiyon + 50 U/kg PCC birlikte verildi. Bu ilaç dozları önceden yapılmış olan benzer hayvan deneylerindeki ilaç dozları ile aynıdır (71,72). Tüm deneklerden ilaç tedavisi sonrasındaki 15. dakikada kontrol PT, aPTT ve INR düzeyleri için kan örnekleri alındı.

Çalışmamızın başında bazal PT, aPTT, INR değerleri bakılmış ve gruplar arası fark bulunmamışken, ilaç tedavisinden 15 dakika sonra tüm gruplardaki sıçanlardan tekrar INR bakmak amacıyla kan örneği alınmış ve grupların tedavi sonrasındaki PT ve aPTT değerlerinin medyan farkları ikişerli olarak karşılaştırılmıştır. Saline grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında PT ve aPTT değeri PCC ve PCC+ILE

gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek seyretmiştir. PCC grubundaki sıçanlarda tedavi sonrasında PT ve aPTT değerlerinde anlamlı düzeyde düşüş saptanmış olup; ILE grubu ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde PCC+ILE tedavisi alan gruptaki sıçanlarda sadece ILE tedavisi alan gruba göre PT düzeylerinde anlamlı şekilde azalma saptanmış olup; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ama saline grubu ile ILE grubu arasında ve PCC ile PCC+ILE grupları arasında PT ve aPTT değerleri arasında fark saptanmamıştır. Bunlar da ILE tedavisinin PT ve aPTT üzerinde artırıcı ya da azaltıcı bir etkisinin olmadığını, PCC tedavisinin tek başına anlamlı olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar daha önce lipid tedavisinin varfarin ile etkileştiği ve varfarinin etkisini azalttığını iddia eden yukarıdaki çalışmalarla çelişmektedir. İddia edildiği gibi lipidlerin koagülasyon üzerindeki etkileri ve antikoagülasyon parametrelerini etkilediklerini biz bu çalışmamızda bulamadık. Bu sonuçlarda deney grubumuzda varfarinin kronik etkileri ile ratların yüksek PT, aPTT ve INR değerlerine sahip olduğu, varfarinin akut alımı sonrası lipid verilmemesi, dolayısı ile de ilacın önceden metabolize edilmiş olabileceği etkin olabilir. Yine intralipid tedavisi aldıktan kısa bir süre sonra ratların kan değerlerine bakılması da bir faktör olabilir. Lipidlerin koagülasyon sistemi, faktör seviyeleri üzerine etkileri için zaman gerekliliği olabilir. Bu sonuçların başka bir açıklaması da çalışmada kullanılan ILE'nin yetersiz kalması olabilir. Akla gelen bir başka fikir de yağda çözünen faktörleri inhibe eden varfarinin kendi etkinliği lipid tedavisi tarafından azalsa da faktörlerin de lipid tedavisi ile bağlanması antikoagülasyon etkisini toplam etki olarak etkilememiş olması ile sonuçlanmasıdır.

Aslında varfarine benzer bir ilaç olan, yeni kuşak trombin inhibitörü Dabigatran, için de yapılan bir hayvan deneyinde, lipid tedavisinin Dabigatran'ın etkilerini de geri çevirmediği gösterilmiştir (73). Bu çalışmada Dabigatran'ın lipofilik özelliğinden dolayı ILE tedavisinin antidot olarak etkin olabileceği düşünülmüştür. Literatür verilerine göre Varfarinin lipofilitesi Dabigatrandan yüksektir (Dabigatran LogP=1.78, Varfarin LogP= 3.5). Bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer hedeflerle yapılmış, varfarin gibi lipofilik bir ilaç olan dabigatranın kanama zamanı üzerine olan etkilerinde ILE tedavisinin etkinliği gösterilememiş, hatta bu çalışmada ILE tedavisinin kendi başına kanama zamanını uzattığı bulunmuştur. Maalesef bizim çalışmamızda tek başına ILE tedavisinin PT ve PTT üzerine etkileri hayvan sayısının

kısıtlı tutulması nedeni ile çalışılamamıştır. Bu çalışmada da bizim çalışmamız gibi etki mekanizmaları gösterilememiştir.

Daha önce PCC ve ILE etkinliğini kıyaslayan benzer çalışma olmadığı için çalışmamızın sonuçlarını karşılaştırmak mümkün olmamıştır. Bu sonucun doğrulanması için daha fazla hayvan sayısı ile daha geniş gruplu bir çalışmaya gerek vardır.

5.1.KISITLILIKLAR

Çalışmamız sıçanlar üzerine yapılan bir hayvan deneyi olduğundan insanlar üzerinde aynı etkinin görülüp görülmeyeceği bilinemez. Hayvan deney çalışmalarında etik nedenlerden dolayı kısıtlı sayıda denek kullanıldığından sonuçlar genele yayılamamaktadır. Bu da daha geniş gruplarda çalışmanın tekrarlanması gereğini doğurmaktadır. Hayvan kısıtlılığı söz konusu olduğundan sadece ILE alan grup çalışmamızda oluşturulamamıştır. Daha önce bu konuda benzer çalışma az olduğu için araştırma sırasında kullanılan ilaç dozları başka çalışmalardan elde edilmeye çalışılmıştır. Çalışmamızda deney hayvanlarından 3 defa kan örneği alınması gerekliliği bazı sıçanların ölmesine veya yeterli kan örneği alınamamasına neden olarak çalışmayı zorlaştırmıştır. Çalışmamızda varfarinin düzenli kullanımına bağlı oluşan antikoagülasyon modeli oluşturulmuştur, akut alımda ILE tedavisinin etkinliği hakkında yorum yapmak için bu konuya odaklı bir çalışma dizaynı ile konunun tekrar araştırılması gerekmektedir.

SONUÇLAR

Çalışmamızın sonucunda oral varfarin verilerek antikoagüle edilen sıçanlarda, yüksek PT ve aPTT değerinin düşürülerek varfarin etkisinin geri çevrilmesinde ILE tedavisinin etkisinin olmadığı, PCC ile kombine bir etki de yaratmadığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçların daha fazla denek içeren çalışmalarla doğrulanması uygun olacaktır.

1. KAYNAKLAR

1. Kearon C, Hirsh J. Changing indications for warfarin therapy. In: Recent Advances in Blood Coagulation. Poller L, Ludlam CA (eds). New York, Churchill Livingstone, 1997: 141-160.
2. Phillips S, Barr A, Wilson E, Rockall TA, Stebbing JF. Two cases of retroperitoneal haematoma caused by interaction between antibiotics and warfarin. *Emerg Med J* 2006;23: e8.
3. Harvey MG, Cave G, Hoggett K. Correlation of plasma and peritoneal diasytate clomipramine concentration with hemodynamic recovery after intralipid infusion in rabbits. *Acad Emerg Med*. 2009 Feb;16(2):151-6. doi: 10.1111/j.1553-2712.2008.00313.x. Epub 2009 Jan 3.
4. Niiya T, Litonius E, Petäjä L, Neuvonen PJ. Intravenous Lipid Emulsion Sequesters Amiodarone in Plasma and Eliminates Its Hypotensive Action in Pigs *Ann Emerg Med*. 2010 Oct;56(4):402-408.e2. doi: 10.1016/j.annemergmed.2010.06.001.
5. Stehr SN, Ziegeler JC, Pexa A, Oertel R, Deussen A, Koch T, Hübner M. The effects of Lipid infusion on myocardial function and bioenergetics in l-bupivacaine toxicity in the isolated rat heart. *AnesthAnalg*. 2007 Jan;104(1):186-92.
6. Fettiplace MR, Ripper R, Lis K, Lin B, Lang J, Zider B, Wang J, Rubinstein I, Weinberg G. Rapid cardiostimulatory effects of lipid emulsion infusion. *CritCareMed*. 2013 Aug;41(8): e156-62. doi: 10.1097/CCM.0b013e318287f874.
7. Link, KP. 1959. The discovery of dicoumarol and its sequels. *Circulation*, 19-97., Hunter, RB. 1961. Review of the action of oral anticoagulant on the coagulation mechanism Symposium on Anticoagulant Therapy, Report of the Proceeding. Haverly & Bylthe Ltd, London.
8. Bingham, JB., Meyer, OO., Pohle, FJ. 1941. Studies on the hemorrhagic agent 3,31 methylene bis (4-hydroxy coumarin): I Its effect on the prothrombin and coagulation time of the blood of dogs and humans. *Am J Med Soc*, 202:563.
9. Butt HR, Allen EV, Bollman JL. 1941. Preparation from spoiled sweet clover 3,31 Methylene- bis (4-Hydroxy coumarin) which prolongs the coagulation and protombin time of blood: preliminary report of experimental and clinical studies. *Proc. Staff. Meet. Mayo. Clin.*, 166:388 .
10. Wright IS, Marple CD, Beck DF. 1948, Report of the Working Party on Anticoagulant Therapy in Coronary Thrombosis to the Medical Research Council 1969.
11. Hirsh J, Dalen JE, Anderson D, Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. *Chest* 1998; 114:445-469.
12. Mungall DR, Ludden T, Marshall J, Hawkins D. Population pharmacokinetics of racemic warfarin in adult patients. *Pharmacokinetic Biopharm* 1985; 13: 213-227.
13. Albers GW, Easton JD, Sacco RL, Teal P. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke. *Chest* 1998; 114. 683-698.

14. The European Atrial fibrillation Trial Study Group. Optimal oral anticoagulant therapy in patients with non-rheumatic atrial fibrillation and recent cerebral ischemia *N. Engl J Med* 1995;333:5-10.
15. WHO Task Force on Stroke and Other Cerebrovascular Disorders, recommendations on stroke prevention, diagnosis and therapy. *Stroke* 1989; 20:1407-31.
16. Majerus PW, Broze GJ, Miletrich JP, Tollefsen DM. Anticoagulant, Thrombolytic and Antiplatelet Drugs. New York: Goodwin and Gillman, 1995:1341-1359.
17. Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL, Lawrence RB, Eddy AC, Aoyama T. 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.
18. Takahashi H, Echizen H. Pharmacogenetics of warfarin elimination and its clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.* 2001;40:587-603.
19. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA, Cytochrome P4502C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in vitro and human data. *Pharmacogenetics*. 2002;12:251-263.
20. Mordechai M, Simcha B, Amir E, Irena K, Yoseph C. Warfarin metabolism and anticoagulant effect: A Prospective, observational study of the Impact of CYP2C9 genetic polymorphism in the presence of drug-disease and drug-drug interactions. *Clinical Therapeutics/ Volume 29, Number 3*, 2007.
21. Martindale: The complete drug reference. Thirty fifth edition, edited by Sean C Sweetman. Cardiovascular Drugs; Warfarin Sodium, 2007; 1281-1288.
22. Le DT, Brochler M, Raynaud R, Planhol T. The international normalized ratio (INR) for monitoring warfarin therapy: reliability and relation to other monitoring methods. *Ann Intern Med* 1994;120: 552-58.
23. <http://www.gpnotebook.co.uk/simplepage.cfm?ID=1617625155>
24. Levine M, Raskob GE, Landefeld S, Kearon C. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. *Chest* 1998; 114: 511S-523S.
25. Hylek E. M, Singer D. E. 1994. Risk factors for intracranial hemorrhage in outpatients taking warfarin. *Ann Intern Med*, 120(11):897-902.
26. Anonymous. 1996. Adjusted-dose warfarin versus low-intensity, fixed-dose warfarin plus aspirin for high-risk patients with atrial fibrillation: Stroke Prevention in Atrial Fibrillation III randomised clinical trial. *Lancet*, 348(9028):633-638.
27. Kulik A, Rubens FD, Wells PS, Kearon C, Mesana TG. 2006. Early postoperative anticoagulation after mechanical valve replacement: a systematic review. *Ann Thorac Surg*, 81(2):770-781.
28. Kerin NZ, Blevins RD, Goldman L, Fattel K, Rubenfire M. The incidence, magnitude and time course of the amiodarone-warfarin interaction. *Arch Intern Med* 1988; 148:1779-81.
29. Serpa MD, Cossolias J, McCreevy MJ. Moricizine-warfarin: a possible drug interaction. *Ann Pharmacother* 1992; 26:127.
30. Ross JRY, Beeley L. Interaction between carbamazepine and warfarin *Br Med J* 1980; 280:1415-16.

31. Levine M, Sheppard I. Biphasic interaction of phenytoin with warfarin. *Clin. Pharm* 1984;3: 200-203.
32. Guthrie SK, Stoysich AM, Bader G, Hilleman DE. Hypothesized interaction between valproic acid and warfarin. *J Clin Psychopharmacol* 1995;15:138-9.
33. Borrás-Blasco J, Marco-Garbayo JL, Bosca-Sanleón B, Navarro-Ruiz A. Probable interaction between citalopram and warfarin. *Ann. Pharmacother* 2002; 36:345.
34. Weibert RT, Lorentz SM, Townsend RJ. Effect of erythromycin in patients receiving long-term warfarin therapy. *Clin Pharm* 1989; 8:210-14.
35. Turner-Lawrence D.E, Kerns Li W. Intravenous fat emulsion: a potential novel antidote. *J Med Toxicol.* 2008;4(2):109-14.
36. Waitzberg DL, Torrinhas RS, Jacintho TM. New parenteral lipid emulsions for clinical use. *J Parenter Enteral Nutr* 2006; 30: 351–367.
37. Mazoit JX, Le Guen R, Boloel H, Benhamou D. Binding of Long-lasting Local anesthetics to lipid emulsion. *Anesthesiology* 2009; 110: 380-6.
38. Leskiw U, Weinberg GL. Lipid resuscitation for local anesthetic toxicity: is it really lifesaving? *Curr Opin Anaesthesiol.* 2009;22(5):667-71.
39. Weinberg GL. In defence of lipid resuscitation. *Anaesthesia.* 2006;61(8):807-8).
40. Weinberg GL, Ripper R, Murphy P, Edelman LB, Hoffman W, Strichartz G, et al. Lipid infusion accelerates removal of bupivacaine and recovery from bupivacaine toxicity in the isolated rat heart. *Reg Anesth Pain Med.* 2006;31(4):296-303.
41. Tebbutt S, Harvey M, Nicolas T, Cave G. Intralipid prolongs survival in a rat model of verapamil toxicity. *Acad Emerg Med* 2006;13:134-9 .
42. Bania T, Chu J, Perez E, Su M., Hahn IH. Hemodynamic effects of intravenous fat emulsion in an animal model of severe verapamil toxicity resuscitated with atropin, calcium, and saline. *Acad Emerg Med* 2007;14:105-11 .
43. Young AC, Velez LI, Kleinschmidt KC. Intravenous fat emulsion therapy for intentional sustained-release verapamil overdose. *Resuscitation* 2009;80:591-3.
44. Harvey MG, Cave GR. Intralipid infusion ameliorates propranolol induced hypotension in rabbits. *J Med Toxicol.* 2008;4:71-6.
45. Sinanni AJ, Osterhoud KC, Callelo DP, Muller AA, Waterhouse MR, Goodkin MB, Weinberg GL, Henterig FM. Use of lipid emulsion in the resuscitation of a patient with prolonged cardiovascular collapse after overdose of Bupropion and Lamotrigine. *Ann Emerg Med.* 2008;1:412-5.
46. Harvey M, Cave G. Intralipid outperforms sodium bicarbonate in a rabbit model of clomipramine toxicity. *Ann Emerg Med.* 2007;49:178-85.
47. Weinberg G, Di Gregio G, Hiller D, Hewett A, Siriann A. Reversal of haloperidol-induced cardiac arrest by using lipid emulsion. *Ann Intern Med.* 2009;150:737-8.
48. Finn S D, Uncles D R, Willers J, Sable N. Early treatment of quetiapine and sertraline overdose with intralipid. *Anaesthesia* 2009;64:191-4.

49. Zhou Y, Zhong Q, Pan H, Yang G. Intravenous lipid emulsions combine extra corporeal blood purification: a novel therapeutic strateg for severe organo phosphate poisoning. *Med Hypotheses* 2010;74:309-11.
50. Van de Velde M, DeWolff M, Leather HA, Wouters PF. Effects of lipids on the functional and metabolic recovery from global myocardial stunning in isolated rabbit hearts. *Cardiovasc Res.* 2000;48(1):129-37.
51. Huang JM, Xian H, Bacaner M. Long-chain fatty acids activate calcium channels in ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(14):6452-6.
52. Bhanji F, Donoghue AJ, Wolff MS, Flores GE, Halamek LP, Berman JM, et al. Part 14: Education: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation.* 2015;132(18 Suppl 2):S56173.
53. American College of Medical T. ACMT position statement: interim guidance for the use of lipid resuscitation therapy. *J Med Toxicol.* 2011;7(1):81-2.
54. Waitzberg DL, Torrinhas RS, Jacintho TM. New parenteral lipid emulsions for clinical use. *J Parenter Enteral Nutr* 2006;30:351–367.
55. Brull S J. Lipid Emulsion for the Treatment of Local Anesthetic Toxicity: Patient Safety Implications. *Int Anesth Res Soc* 2008;106:5 .
56. Takifuji K, Tanimura H. Adverse effects of intravenous fat emulsion administration. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 1998;99:127-5.
57. Dentalli F, Crowther MA. Management of excessive anticoagulant effect due to vit K antagonist. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008:266-70.
58. Sorensen B. Clinical review PCC evolution of safety and thrombogenicity. *Clinical care* 2011;15:201.
59. Factor IX Complex Drug Facts and Comparisons. *Facts & Comparisons [database online]*. St. Louis, MO: Wolters Kluwer Health Inc; 2013. Accessed May 17, 2013.
60. Kcentra ,Kankakee, IL: CSL Behring LLC; April 2013.
61. Ostermann H, Haertel S, Knaub S, Kalina U, Jung K, Pabinger I. Pharmacokinetics of *Beriplex P/N* prothrombin complex concentrate in healthy volunteers. *Thromb Haemost.* 2007;98(4):790–797.
62. Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1633- 52.
63. Van der Meer F, Rosendaal F, Vandenbroucke J, Briet E. Bleeding complications in oral anticoagulant therapy. *Arch Intern Med.* 1993;153:1557.
64. Palareti G, Leali N, Coccheri S, Poggi M, Manotti C, Pengo V. Italian study on complications of oral anticoagulant therapy. Bleeding complications of oral anticagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study (ISCOAT). *Lancet.* 1996;348:423.
65. Cave G, Harvey MG, Castle CD. The role of fat emulsion therapy in a rodent model of propranolol toxicity: a preliminary study. *J Med Toxicol.* 2006;2(1):4-7.

66. Kang C, Kim DH, Kim SC, Lee SH, Jeong JH, Kang TS, et al. The effects of intravenous lipid emulsion on prolongation of survival in a rat model of calcium channel blocker toxicity. *Clin Toxicol (Phila)*. 2015;53(6):540-4.
67. Xanthos T, Psichalakis N, Russell D, Papalois A, Koutsovasilis A, Athanasopoulos D, et al. Intralipid administration attenuates the hypotensive effects of acute intravenous amiodarone overdose in a swine model. *Am J Emerg Med*. 2016.
68. Cheung LK, Agi R, Hyman DJ. Warfarin resistance associated with parenteral nutrition. *Am J Med Sci* 2012; 343: 255–8.
69. Wilson CO, Gisvold O, Block JH, .Wilson and Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry, 11th ed.In: Block J, Beale J Jr, editors. New York: Lippincott Williams and Wilkins; 2004.
70. MacLaren R, Wachsman BA. Warfarin resistance associated with intravenous lipid administration: discussion of propofol and review of the literature. *Pharmacotherapy* 1997;17:1331–7.
71. Ertan Sönmez, M.D., Umut Yücel Çavuş, M.D., Cemil Civelek, M.D.,Ali Dur, M.D.,Eda Karayel, M.D.,Bedia Gülen, M.D. Ömer Uysal, M.D.,Göktürk İpek, M.D. The efficacy of a hemostatic agent in anticoagulant drug-induced rat bleeding model. *Ulus Travma Acil Cerr Derg*, March 2014, Vol. 20, No. 2.
72. Gerhard Dickneite. Prothrombin complex concentrate versus recombinant factor VIIa for reversal of coumarin anticoagulation. *Thrombosis Research* (2007) 119, 643—651.
73. Blum J, Carreiro S, Hack JB. Intravenous lipid emulsion does not reverse dabigatran-induced anticoagulation in a rat model. *Acad Emerg Med*. 2013 Oct; 20(10):1022-5. PMID: 24127705.

8.EKLER

8.1. ETİK KURUL KARARI



**T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU
(YÜDHEK)
ETİK KURUL KARARI**

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
12.05.2017	602	28.04.2017	Uzm.Dr. Ebru ÜNAL AKOĞLU

‘Varfarin etkilerini önlemede intralipid emülsiyon tedavisinin etkisi’ adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 Yıl	Hayvan Türü ve cinsiyeti: Sıçan ♂ veya ♀	Hayvan Sayısı: 32
------------------------------------	---	----------------------

GÖREVİ	ADI SOYADI	
Başkan	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	
Raportör	Vet. Hekim Engin SÜMER	
Üye	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Üye	Doç. Dr. Rukset ATTAR	KATILMADI
Üye	Doç. Dr. Soner DOĞAN	
Üye	Doç. Dr. Ediz DENİZ	
Üye	Prof. Dr. Gamze TORUN KÖSE	KATILMADI
Üye	Yrd. Doç. Dr. Aylin YABA UÇAR	
Üye	Hakan GÖKSEL	
Üye	Ahmet ŞENKARDEŞLER	

8.2. TEZ ONAY BELGESİ

Evrak Tarih ve Sayısı: 05/06/2017-E.6601



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı : 46418926-020
Konu : Dr. Tanju BİÇER'in Tez Onayı Hk.

İSTANBUL FATİH SULTAN MEHMET SUAM

İlgi : 31/05/2017 tarihli ve 6334 sayılı yazı.

Hastanenizde Acil Tıp Kliniği uzmanlık öğrencisi olan As. Dr. Tanju BİÇER'in tez konusu uygun bulunmuştur.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Ali İhsan TAŞÇI
Dekan V.

01/06/2017 Veri Hazırlama ve Kontrol İşletmeni

Şeyda DELİKGÖZ

Adres: Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Külliyesi, Tıbbiye Cad. No:38 Selimiye
Telefon: 216 346 36 38 Faks: 216 346 36 40
Elektronik Ağ: <http://sbu.edu.tr>

Bilgi için: Şeyda DELİKGÖZ
Unvanı: Veri Hazırlama ve Kontrol İşletmeni

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır