**T.C.**
**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**
**TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**
**HEMATOLOJİ BİLİM DALI**

# ERZURUM BÖLGESİNDE CYP2C9 GEN POLİMORFİZMİ VE VARFARİN DOZ GEREKSİNİMİ

**Uz. Dr. Rahşan YILDIRIM**

**Tez Yöneticisi**
**Prof.Dr. Mehmet GÜNDOĞDU**

**Yan Dal Uzmanlık Tezi**
ERZURUM 2011

# İÇİNDEKİLER


| | |
|---|---|
| **ONAY** | iv |
| **ÖZET** | v |
| **SUMMARY** | vii |
| **1. GİRİŞ VE AMAÇ** | 1 |
| **2. GENEL BİLGİLER** | 3 |
| **3. GEREÇ VE YÖNTEM** | 18 |
| **4. BULGULAR** | 21 |
| **5. TARTIŞMA** | 25 |
| **6. SONUÇ VE ÖNERİLER** | 33 |
| **7. KAYNAKLAR** | 35 |

**ONAY**

"Erzurum Bölgesi'nde CYP2C9 Gen Polimorfizmi ve Warfarin Doz Gereksinimi" adlı çalışma İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın 27.04.2009 tarih, 370 sayı, 28 nolu kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 17.04.2009 tarih, 3 sayılı oturum ve 74 nolu kararı, Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nın 28.04.2009 tarih, 3 sayılı oturumu ve 28 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

# ÖZET

## ERZURUM BÖLGESİNDE CYP2C9 GEN POLİMORFİZMİ VE VARFARİN DOZ GEREKSİNİMİ

Oral antikoagülanlar, klinik pratikte arteryel ve venöz tromboembolik bozuklukların tedavisinde ve profilaksisinde sık kullanılan ilaçlardır. Varfarin, dünyada oral antikoagulan olarak kullanılan en yaygın ilaçtır. İnsanların farmakolojik ajanlara olan cevabında genetik polimorfizmlerin önemli yeri vardır. Varfarin, günlük pratikte, farmakogenomik testlerin uygulanmakta olduğu ilaçlardan biri olması yönüyle önemlidir. Sitokrom P450 2C9 'CYP2C9' insan karaciğerinde ilaç metabolizmasında rolü olan bir enzimdir. Yapılan çalışmalarda CYP2C9 *2 ve *3 varyant alele sahip hastalarda, artmış kanama riski olduğu, bu nedenle düşük doz varfarine ihtiyaç duydukları bildirilmiştir. Bu çalışmada; Erzurum Bölgesi'deki varfarin kullanmakta olan hastalarda görülen kanama komplikasyonu ile CYP2C9 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırıldı.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne Mayıs 2009 - Mayıs 2010 tarihleri arasında başvuran, varfarin kullanmakta olan toplam 80 hasta çalışma kapsamına alındı. Hastalarda görülen kanama komplikasyonları kaydedildi. Hastaların genotip incelemeleri yapılarak; CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 varyantlarını taşıma şekilleri (homozigot, heterozigot ve wild tip) tespit edildi. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Student t-Test, Mann-Whitney U test, Kruskal Wallis testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare ve Fisher Exact test kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

Hastalar CYP2C9*2 allelini % 17,5 oranında heterozigot, % 3,8 oranında homozigot olarak taşırken, CYP2C9*3 allelini % 25 oranında heterozigot, % 2,5 oranında ise homozigot olarak taşıyordu. CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastaların ortalama INR değerleri bu alleli taşımayan veya homozigot olarak taşıyan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Heterozigot hasta grubundaki yüksek ortalama INR nedeni, homozigot grubundaki kişi sayısının az olması olarak düşünüldü. CYP2C9*3 alelini taşımayan, heterozigot veya homozigot olarak taşıyan hastaların ortalama INR değerleri arası

anlamlı derecede fark yoktu ($p>0.05$). INR değeri <4, 4-8, >8 olan hasta gruplarına ait kullanılan ortalama varfarin dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Hastalarda tespit edilen bu allellerle, kanama komplikasyonu arasında yapılan karşılaştırmada; CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, bu alleli taşımayan veya homozigot olarak taşıyan hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). CYP2C9*2 allelini homozigot olarak taşıyan gruptaki kanama oranının, heterozigot gruba göre beklenenin aksine düşük olması, homozigot grubundaki hasta sayısının az (n=3) olmasının neden olabileceği düşünüldü. CYP2C9*3 allelini homozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, bu alleli heterozigot olarak taşıyan ve taşımayan hasta gruplarına göre beklenildiği üzere istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).

Sonuç olarak; oral antikoagülan tedavi başlanacak hastalara, CYP2C9 genotip taraması yapılarak *2 ve *3 varyantlı yüksek riskli hastaların tespit edilmesi, klinisyenin bu hastalara daha düşük dozlarda varfarin başlaması ve sıkı doz ayarlamaları yapmasına imkân sağlayacaktır. Bu sayede güvenilir ve etkin tedavi, zaman zaman ölümcül olabilen kanama komplikasyonlarının azalmasına yardımcı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** CYP2C9, Gen-Polimorfizm, Varfarin

**SUMMARY**

**CYP2C9 GENE POLYMORPHISM**

**AND WARFARİN DOSE REQUIREMENT IN ERZURUM REGION**

Oral anticoagulants are frequently used drugs in clinical practice in the treatment and prophylaxis of arterial and venous thromboembolic disorders. Warfarin, is the most widely used oral anticoagulant drug around the world. People's genetic polymorphisms have an important place in the response to pharmacological agents. One of the important aspects of Warfarin is it was one of the drug that pharmacogenomics tests to be applied in daily practice. Cytochrome P450 2C9 'CYP2C9' is an enzyme that involved in drug metabolism in human liver. Studies have been reported that patients with CYP2C9 * 2 and * 3 variant allele have an increased risk of bleeding, therefore, they need lower doses warfarine. In this study, we investigated the relationship between CYP2C9 polymorphisms with bleeding complications in patients under warfarin therapy within Erzurum Region.

A total of 80 patients whose applied warfarin therapy enrolled in the study between the May 2009 - May 2010 that followed in Atatürk University Faculty of Medicine, Internal Medicine Clinic. Patients with bleeding complications were recorded. Examinations of patients by genotype, CYP2C9 * 2 and CYP2C9 * 3 variant forms of transportation (homozygous, heterozygous and wild-type) were determined. The Student's t tests, Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis tests were used in the study to evaluate comparison of quantitative data. Qualitative data were compared using Chi-square-Fisher's exact test. Results were evaluated with 95% confidence interval, significance regarded at $p < 0.05$.

Among 17.5% of the patients detected as heterozygous carriers for CYP2C9 * 2 allele and 3.8% were detected as homozygous. CYP2C9 * 3 allele carriage was detected heterozygous and homozygous among the patients accordingly 25% and 2.5%. The average INR values of the patients carrying the CYP2C9 * 2 allele in heterozygous or homozygous compare to patients without this allele, was found statistically significantly higher ($p<0.05$). Higher average INR of heterozygous patient group commented to, less number of patients in homozygous group. There is no statistically significant difference at an average INR between the groups that did not carry the CYP2C9 * 3 allele, carry the allele heterozygous or homozygous ($p>0.05$). The patient groups; INR <4, 4-8,> 8 of

used in the mean warfarin doses found no statistical significant difference ($p > 0.05$). When we compared bleeding complications according to carried allele, bleeding rate in patients carrying the CYP2C9 * 2 allele as a heterozygote was significantly higher than patients carry this allele in homozygous state or did not carry the allele ($p<0.05$). We thought that contrary to expectations low rate of bleeding in the group CYP2C9 * 2 allele in homozygous state compare to the heterozygous group is caused by the small number of patients with homozygous group ($n = 3$). The rate of bleeding in patients with homozygous CYP2C9 * 3 state, was found statistically significantly higher compare to heterozygous for this allele and allele negative groups as expected, ($p<0.05$).

As a result, by screening CYP2C9 * 2 and * 3 variant genotype to identify high-risk patients will enable clinicians safe treatment modalities with oral anticoagulation, begin warfarin at lower doses than those patients who do and will provide strict dosage adjustments. In this way, reliable and effective treatment will help reduce bleeding complications that were sometimes fatal.

**Key words**: CYP2C9, Gene-polymorphism, Warfarin

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oral antikoagulanlar, klinik pratikte arteryel ve venöz tromboembolik bozuklukların tedavisinde ve profilaksisinde sık kullanılan ilaçlardır (1–5). Varfarin, dünyada oral antikoagulan olarak en yaygın kullanılan ilaçtır (6). Bireylerin varfarine olan yanıtı çok farklıdır. Günlük 40 mg'a varan dozlarda reçete edilen varfarinin teropatik indeksi dar olması sebebi ile hastalar, international normalized ratio (INR) ile yakın takip edilir. Ancak bu yakın takibe rağmen yine de her yıl tahmini olarak % 7,6–16,5 oranında kanama komplikasyonu görülür. Kanama komplikasyonu en sık varfarin tedavisinin başlangıç döneminde görülür (2,7).

Varfarin, antikoagulan etkisini, vitamin K epoksit'den, indirgenmiş vitamin K oluşumunu sağlayan vitamin K epoksit redüktaz enzimini inhibe etmek suretiyle gösterir (8). Son zamanlarda bu protein, vitamin K epoksit redüktaz kompleks subunit 1 geni (VKORC1) olarak kodlanmış olup, bu gen mutasyonlarında pıhtılaşma faktör eksiklikleri ve varfarin direnci olduğu bildirilmiştir (9). Sitokrom P450 2C9 (CYP2C9), varfarin gibi birçok önemli ilacın oksidatif metabolizması için gerekli olan bir karaciğer enzimidir ve CYP2C9 bölgesinde bir dizi genetik polimorfizm tanımlanmıştır (10,11). Bu genetik mutasyonlardan biri; exon 3 pozisyon 144' de, arjininin sisteinle yer değiştiği CYP2C9*2 (Arg144Cys), diğeri exon 7 pozisyon 359' da izolösinin lösinle yer değiştirdiği CYP2C9*3'(Ile359Leu)' tür ki bu mutasyonlar invitro varfarin hidroksilasyondaki bozulmayı gösterir (12,13). CYP2C9 alellerinden biri, CYP2C9*1 alleli wild, en yaygın tip olup, doğal tip genotip olarak bilinir.

CYP2C9*2 allelini taşıyan hastalardaki enzim aktivitesi, wild tip enzim aktivitesinin % 12'si, CYP2C9*3 allelini taşıyan hastalardaki enzim aktivitesi ise % 5' idir (12,14,15). Her iki varyant allelin, kararlı dozu elde etme güçlüğüne sebep olduğu, warfarin doz gereksiniminde azalma ve ilaç kullanımının erken döneminde daha yüksek kanama riski ile ilişkisi olduğu görülmüştür (16–24).

Varfarin tedavi uygulamasında dozun, hastanın diyeti, eşlik eden hastalık durumu, kilosu, diğer kullandığı ilaçlar ve genetik faktörlere göre ayarlanması gerektiği için, etkili ve güvenli doz ayarını yapmak zordur. Çalışmadaki amacımız; warfarin tedavisi almakta olup hastanemize başvuran hastalarda, genetik yapı ile günlük doz ihtiyacı ve komplikasyonlar arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir.

Bu değerlendirme bize, hiperkoagulasyona sebep olan CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 alleli taşıyan hastaların, ilacının daha düşük dozda başlanması, doz artımının düşük derecelerde yapılması suretiyle özellikle ilk bir ay içinde olan kanama komplikasyonun en aza indirgenmesini sağlamaktır.

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1. Hemostaz-koagülasyon

Hemostaz, damar hasarı veya yırtılmasını takiben oluşan kanamanın önlenmesi anlamına gelir. Damar hasarı sonrası sırasıyla;

1-Şiddetli damar daralması (25)

2-Trombosit tıkacın oluşması (25,26)

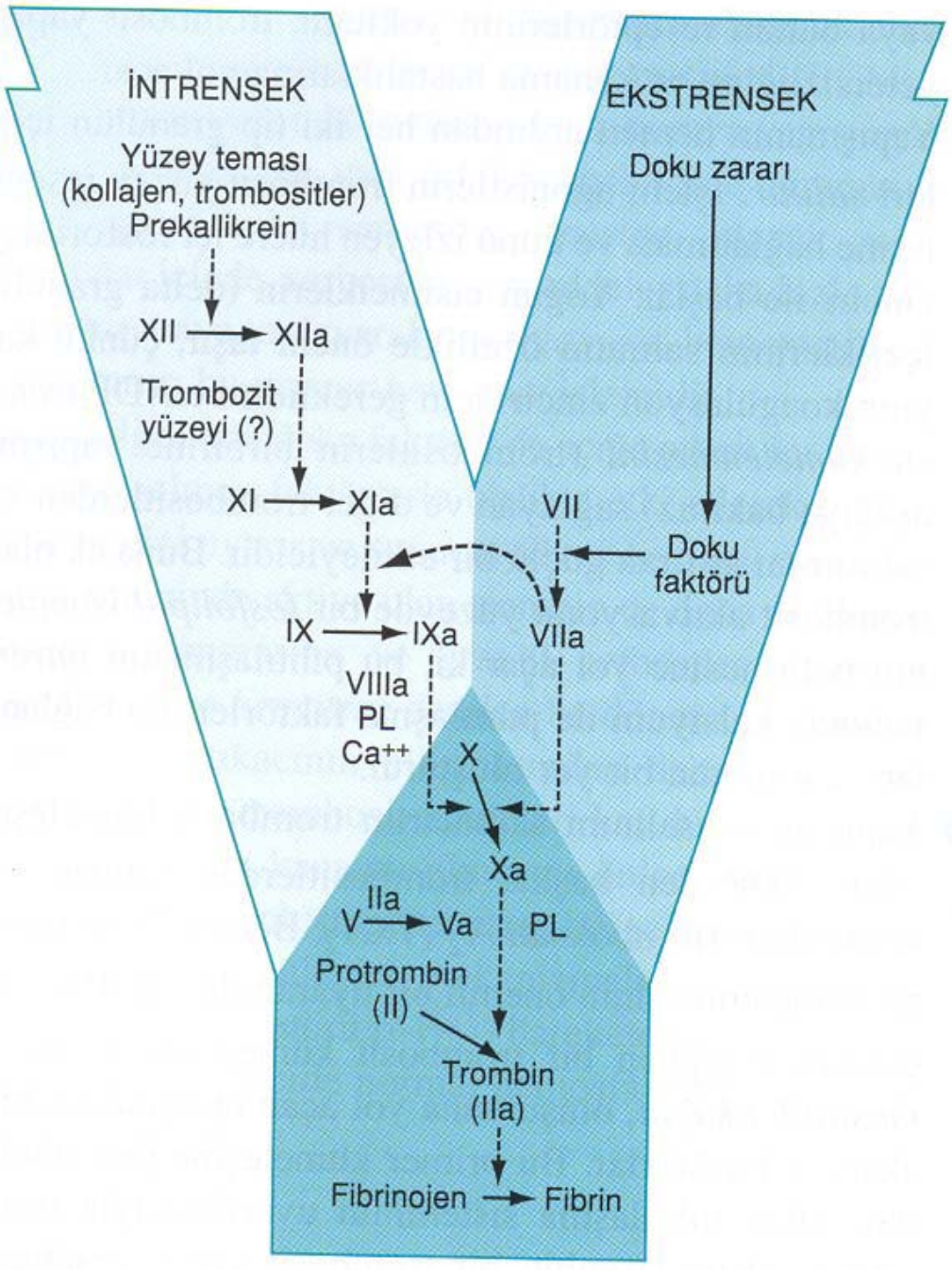
3- Kanın pıhtılaşması (25,26)

4-Yaralı bölgede fibröz dokunun gelişmesi ve yarayı onarması yoluyla hemostaz gerçekleşmektedir (27).

Yaralanan damarda oluşan daralma, yerel miyojenik spazm, sinirsel refleksler, trombositlerden ve zedelenen dokudan açığa çıkan tromboksan $A_2$ gibi faktörler aracılığı ile gerçekleşir. Trombositler hasarlı damar yüzeyine temas ettiklerinde şişmeye ve düzensiz bir biçim almaya başlarlar. Trombosit tıkaç damarda oluşan küçük bir deliği tıkayabilir. Tromboksan $A_2$ trombositlerden salınan adenozin difosfat (ADP) civardaki trombositleri aktive ederek, ilk aktive olan trombosite yapışmalarını ve böylece trombosit tıkaç oluşumunu sağlar (27). Hemostazı sağlayan üçüncü mekanizma kanın pıhtılaşmasıdır. Ciddi damar hasarı varlığında pıhtılaşma 1–2 dakikada gerçekleşirken, hafif vakalarda bu süre 15–20 saniyedir. Hasarlanan damar bölgesi çok büyük değilse, 3–6 dakika içinde tüm damar açıklığı pıhtıyla kapatılacak şekilde onarılmış olur. 20 dakika ile bir saat arasında pıhtının büzüşmesiyle damarın açıklığı daha iyi kapanmış olur. Pıhtı oluşumundan sonra fibroblastların bölgeyi çevrelemesi ile pıhtı boyunca bağ dokusu oluşumu başlar (27).

Hemostatik pıhtı oluşumunu başlatan olay, doku faktörü “tissue faktör” (TF)’ün açığa çıkması ile TF/VIIa kompleksinin oluşmasıdır. Tissue faktör normalde damar

kompartmanına açılmayan, subkutan dokular ve kan damarlarının adventisya dokusu gibi doku yüzeylerinden üretilir. TF dolaşımdaki lökositlerde de vardır, ancak bazı durumlarda aktive olur. TF/VIIa kompleksi FX'u FXa'ya, FIX'u da FIXa'ya dönüştürmektir. FXa, TF taşıyan hücrenin yanında kalır ve FV'i FVa'ya dönüştürür. Daha sonra TF taşıyan hücre üzerinde F IXa/Va kompleksi oluşur. Bu kompleks TF taşıyan hücre civarında az miktardaki protrombini (FII), trombine çevirebilir. Bu az miktar oluşan trombin, takip eden hemostatik olaylar için hazırlık aşamasıdır. Trombin trrombositler ile birlikte FVIII, FIX ve FXI'i aktive eder, bunun için FVIII'i Von Willebrand faktör (vWF)' den ayırır. Bu hazırlayıcı miktardaki trombin oluştuktan sonra FXa/VIIa/TF kompleksi, TF yolağı inhibitörü ile inhibe olur. TF'ünü taşıyan hücre tarafından oluşturulan FIXa hücrenin etrafında kalmaz ve active trombosit yüzeyindeki kofaktörü VIIIa'daki özel bağlanma proteinlerine bağlanır. Böylece aktive trombosit yüzeyinde trombin oluşumuna yol açan olaylar gerçekleşir (28) (Şekil 1'de koagulasyon kaskadı gösterildi).




Pathologic Basis of Disease, 7th ed., 2005

Şekil 1-Koagülasyon kaskadı

Aktive trombositler öncelikle kofaktörler FVIIIa ve FVa'yı bağlarlar ve ardından da sırası ile bunların ilgili enzimleri FIXa ve FXa'ya bağlanmalarında görev alırlar. Aktive trombosit yüzeyindeki FIXa, kofaktörü FVIIIa varlığında daha fazla FX'un FXa'ya dönüşümünde görev alır. Trombosit yüzeyindeki kofaktörü FVa ile birlikte FXa protrombinaz kompleksini oluşturur. Bu kompleks fibrinojenin pıhtılaşması için yeterli miktarda protrombini trombine çevirebilir. Ayrıca FXIa trombin oluşumunda artma ile sonuçlanacak şekilde daha fazla FIX'u FIXa'ya dönüştürebilmektedir (29).

Dolaşıma doğru ilerleyecek olan fazla miktardaki trombin antitrombin (AT) tarafından inhibe olurken bu inhibisyona komşu sağlam endotel de katkıda bulunur. Pıhtı oluşumunun başlangıcında sağlam endotele gelen trombin, hücre içinde trombomodüline yerleşerek trombin/trombomodülin kompleksi (T-TM) oluşturur. T-TM kompleksi Protein C'yi aktive eder ve Protein C de kofaktörü protein S varlığında hem FVa ve FVIIIa'yı parçalar. Böylece trombin oluşumu damar duvarının hasarlı bölgesinde lokalize olur ve pıhtının normal endotel hücre yüzeyinden taşıp damar lümenini tıkaması önlenmiş olur (29). Fibrin oluşumunu hasar bölgesinde sınırlayan mekanizmalar, protein C sistemi yanı sıra TF yolak inhibitörü, damar duvarındaki AT ve glikozaminoglikanlardır. Bu mekanizmalardaki bozukluklar trombotik hastalıkların oluşumuna zemin hazırlar (28,29).

Antitrombin karaciğerde üretilir ve trombini nötürleştirir. Trombine bağlanması başlıca heparin ve glikozaminglikanlar sayesinde olur. TF yolu inhibitörü TF-FVIIa kompleksini inhibe ederek trombin oluşumunu düzenler. Endotel hücresinin yüzeyinde ve plazmada lipoproteinlere bağlı olarak bulunur. Fibrinolitik sistem kanın pıhıtlaşma eğilimine karşı düzenli çalışması gereken bir sistemdir. t-PA gibi plazminojen aktivatörleri aracılığı ile plazminojenin plazmine dönüştürülmesi fibrinolitik sistemin temel reaksiyonudur. Plazmin güçlü bir proteolitik etki ile fibrini eriyebilir parçalara ayırır**.** Sıkı kontrol altında tutulan bu sistemde plazminojen aktivasyonunun başlıca inhibitörü plazminojen aktivatör inhibitörüdür (PAI-1). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 normal şartlarda plazmada az oranda bulunurken travma ile artar (30). Kanda az miktarda plazmin sürekli oluşmaktadır. Kanda bulunan alfa$_2$-antiplazmin, plazmine bağlanarak inaktif hale getirmektedir (27).

## 2.2. Antikoagülan İlaçlar

### 2.2.1. Heparin

Heparin 1916 yılında ilk kez karaciğerden elde edilmiştir. Kan pıhtılaşmasını in vivo ve in vitro olarak etkileyen bir maddedir. Organizmada hemen her organda bulunmakla birlikte en çok akciğerlerde bulunur. Sülfatlanmış polisakkarit karışımıdır. Mast hücrelerinin granülleri içinde oluşmaktadır. Bu hücrelerde heparin-lipoprotein kompleksi halinde bulunmaktadır. Doğal preparatların kaynağı hayvan akciğer ve karaciğerleridir (31).

Heparin molekül ağırlığı, farmakokinetik özellikleri ve antikoagülan aktivitesi ile heterojen bir yapıya sahiptir. Birbirinin aynı olan farklı uzunluktaki polisakkardid zincir karışımından oluşmaktadır. Bu nedenle molekül ağırlığı ortalama olarak verilmektedir (3000–30,000 Da; ortalama 15,000 Da) (32). Heparin molekülü antikoagülan etki için pentasakkarit zinciri yoluyla bir plazma faktörü olan AT' e bağlanır. Böylece hem standart heparin hem de düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH), AT yoluyla faktör Xa' yı inaktive eder. Onsekiz sakkarit üniteden küçük heparin molekülü sadece Faktör Xa inhibisyonu yaparken, daha büyük heparin molekülü Faktör Xa yanında, AT aracılı trombin inaktivasyonu yapar (33). Yüksek molekül ağırlıklı heparinler, standart heparin (SH) ve DMAH' lere göre dolaşımdan daha hızlı temizlenir. Heparin-AT kompleksi trombin yanında, FXIa, FXa ve FIXa'yı da inhibe eder ve indirekt trombin inhibitörüdür.

Heparin dolaşımda endotel hücrelerine, plazma proteinlerine ve trombositlerden salınan proteinlere (Platelet Faktör 4) bağlanır (34). Böylece hem tedavi sırasında etkin doz farklılıklarına, hem de tromboz ile giden heparine bağlı trombositopeni (HIT) gelişimine yol açabilir. Aynı zamanda akut faz proteinlerine de bağlanması, akut faz yanıtı artmış olgularda ilaç etkinliğinin azalmasına neden olur (35).

Heparin subkutan veya intravenöz olarak uygulanır. Subkutan tedavi düşük doz (12 saat arayla 5000 U), orta doz (12 saat arayla12500 U ya da 15000 U) ve yüksek terapötik doz (>35000 U toplam günlük doz iki eşit doza bölünerek) şeklindedir (36).

Venöz tromboembolizm olgularında heparin 80 U/kg bolus ardından, 18 U/kg/saat infüzyon ile verilir. American College of Cardiology' ye göre, anstabil anjina ve ST segment yüksekliği olmayan myokard infaktüsü olgularında uygulanması gereken heparin dozu 60–70 U/kg (maksimum 5000U) bolus sonrası 10–15 U/kg/saat (maksimum 1000 U/saat)'tir

(37,38). Rekombinant t-PA uygulanan akut ST segment yüksekliğine sahip myokard infaktüs olgularında ise uygulanması gereken heparin dozu, 60 U/kg (maksimum 4000 U) bolus ve 12 U/kg (maksimum 1000 U/saat)'dır. Glikoprotein IIb/IIIa inhibitörleri ile birlikte perkutan koroner girişim uygulanan olgularda ise doz, 70 U/kg bolus ve ek boluslarla aktive pıhtılaşma zamanı (ACT) değerini 200 saniyenin üzerinde tutmaktatır (39).

Trombolitik tedavi ve glikoprotein IIb/IIIa inhibitörleri ile beraber heparin kullanımında kanama riski artmaktadır. Ayrıca yakın zamanda geçirilen cerrahi, invaziv girişimler travma ve hemostatik defekt varlığı heparine bağlı kanama riskini artırır.

Heparinin kanama dışındaki yan etkileri, trombositopeni, hipoaldosteronizm sonucu hiperkalemi, daha çok intramüsküler (İM) uygulamada izlenen ağrı, hematom, ülserasyon ve osteoporozdur (40). Anfraksiyone heparin alan olgularda, heparine bağlı trombositopeni riski nedeniyle trombosit sayısının düzenli izlenmesi gerekmektedir. Tedavi dozunda anfraksiyone heparin kullanan olgularda 14 güne kadar ya da heparin kesilene dek günaşırı trombosit sayımı yapılmalı, proflaktik doz anfraksiyone heparin ya da DMAH alanlarda heparin kesilene dek her 2-3 günde bir trombosit sayımı yapılmalıdır (41).

**2.2.1.1. Heparin Endikasyonları**

-Venöz tromboz, pulmoner tromboemboli ve periferik arteriyel emboli profilaksi ve tedavisi (26),

- Atriyal fibrilasyonda oluşan trombüs, emboli ve inme tedavisi,
- Stabil olmayan angina ve akut miyokard infarktüsü (MI),
- Protez kapaklar ve koroner arter cerrahisi,
- Romatizmal kalp kapak hastalıkları,
- İskemik serebrovasküler hastalıklar (40)

**2.2.1.2. Heparin Kontrendikasyonları**

- Heparine aşırı duyarlılık
- Kontrol edilemeyen kanamalar
- Ciddi trombositopenik olgular
- Arteriyovenöz malformasyonlar
- Malign tümörler
- Yakın zamanda geçirilmiş cerrahi, travma veya derin biyopsi
- Kontrol edilemeyen hipertansiyon

- Aktif gastrointestinal sistem (GİS) ülserleri gibi kanama riski olan durumlar

- Ağır böbrek ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanımı tartışmalıdır (40).

Heparin tedavisinin izlenmesi başlıca aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), daha yüksek dozlar gerektiğinde ACT ya da heparin düzeyinin protamin sülfat titrasyon testi ve anti-faktör Xa testi ile yapılır. DMAH, anfraksiyone heparinin depolimerizasyonu ile oluşur, ortalama molekül ağırlığı 5000 Da'dır (42). Düşük molekül ağırlığından dolayı plazma proteinlerine ve hücrelere daha az bağlanır. Anfraksiyone heparin gibi faktör Xa' yı inaktive eder ve plazma proteinlerine daha az bağlandığı için daha düşük dozda daha belirgin etki gösterir. Düşük molekül ağırlıklı heparinin sakkarit ünitesi yeterli olmadığı için trombin üzerine etkisi azdır. Anfraksiyone heparin molekülü için anti-faktör Xa/antifaktör IIa oranı 1:1 iken DMAH'ler için bu oran molekül büyüklüğüne göre 2:1 ile 4:1 arasında değişmektedir. DMAH'ler düşük dozda subkutan olarak biyoyararlanımı %100' olup plazma proteinlerinedaha az bağlandığı için anfraksiyone heparine göre etkisi daha belirgindir. Eliminasyon yarı ömrü standart heparinin aksine dozdan bağımsız olup subkutan uygulama sonrası 3 ile 6 saat'dir. Bu yüzden DMAH'ler kiloya uygun dozda verildiğinde laboratuvar izlemi gerektirmeden uygulanabilir (43).

**2.2.1.3. Düşük molekül ağırlıklı heparinin standart heparine üstünlükleri**

1. Deri altı yolu ile kullanıldığında biyoyararlanımı yüksektir.

2.Trombini Faktör Xa' ya göre daha az inhibe eder.

3.Yarılanma ömrü daha uzun, plazma proteinleri, endotel hücrelerine ve makrofajlara daha az bağlanır.

4. Günde tek veya iki doz olarak kullanılabilir.

5. Özel koşullar dışında laboratuvar izlemi gerektirmeden devamlı antitrombotik etki gösterir.

6. Platelet Faktör 4' e daha az bağlanır, HIT daha az sıklıkla görülür.

7. Osteoklast aktivasyonu ve osteopeni sıklığı daha azdır.

8. Venöz tromboembolinin önlenmesi ve tedavisinde standart heparin kadar etkilidir (44).

9.Mekanik kalp kapağı replasmanı sonrası antikoagulan tedavide ve oral antikoagülanın kontendike olduğu mekanik kapak olgularında anfraksiyone heparin kadar etkilidir (45).

Düşük molekül ağırlıklı heparinler, tedavi amacıyla vücut ağırlığına göre, proflaksi amacıyla ise sabit dozda uygulanır. Laboratuar izlemi genellikle gerekli değildir. Böbrek yetmezliği ve obesite olguları dışında laboratuar izlemi gerekmez (46). Bu amaçla pıhtılaşmaya dayalı anti-faktör Xa testi (Heptest), kromojenik anti-faktör Xa testi uygulanabilir. Tedavinin kiloya göre ayarlanarak subkutan uygulanması ile anti-faktör Xa aktivitesi ortalama 4 saatte pik yapar. Her bir molekül kendine ait özel yapısal ve moleküler farklılıklar gösterir. Bu yüzden tedavi sırasında anti-Xa aktivitelerine bakarak DMAH'ler arasında değişim yapmak uygun değildir (47). Günde tek doz uygulama sırasında hedef anti-Xa aktivitesi tinzaparin için 0.85 U/ml iken nardoparin ve dalteparin için sırasıyla 1,3 U/ml ve 1,05 U/ml' dir (48).

### 2.2.2. Oral Antikoagülanlar

Oral antikoagulanlar tromboembolik olayların önlenmesi veya tedavisi için kullanılırlar. Ağızdan kullanım olanağı ve ucuz olmaları tercih nedenidir. Etkileri oral yoldan alındıktan 24 saat sonra ortaya çıkar, bu nedenle acil yanıt beklendiğinde tercih edilmezler. Oral antikoagulanlar, kumarin türevleri ve indandion türevleri olmak üzere iki gruba ayrılır. Pıhtılaşma faktörlerinin üretim basamaklarını bozarak gecikmeye sebep olurlar, fonksiyonlarını etkilemezler (31,40). Bu da etkilerinin ortaya çıkması için geçen süreyi açıklamaktadır.

Kumarin türevleri arasında dikumarol, tromekzan, kumadin, siklokumarol mevcuttur. Karaciğerde protrombin, faktör VII, faktör IX ve faktör X' un sentezini engelleyerek koagülasyonu önlerler (49). Kumarin bileşiklerinin etkisiyle hem protrombin zamanı (PT) hem de aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) uzar, etkileri protrombin zamanının değerlendirilmesiyle ölçülür (26,50).

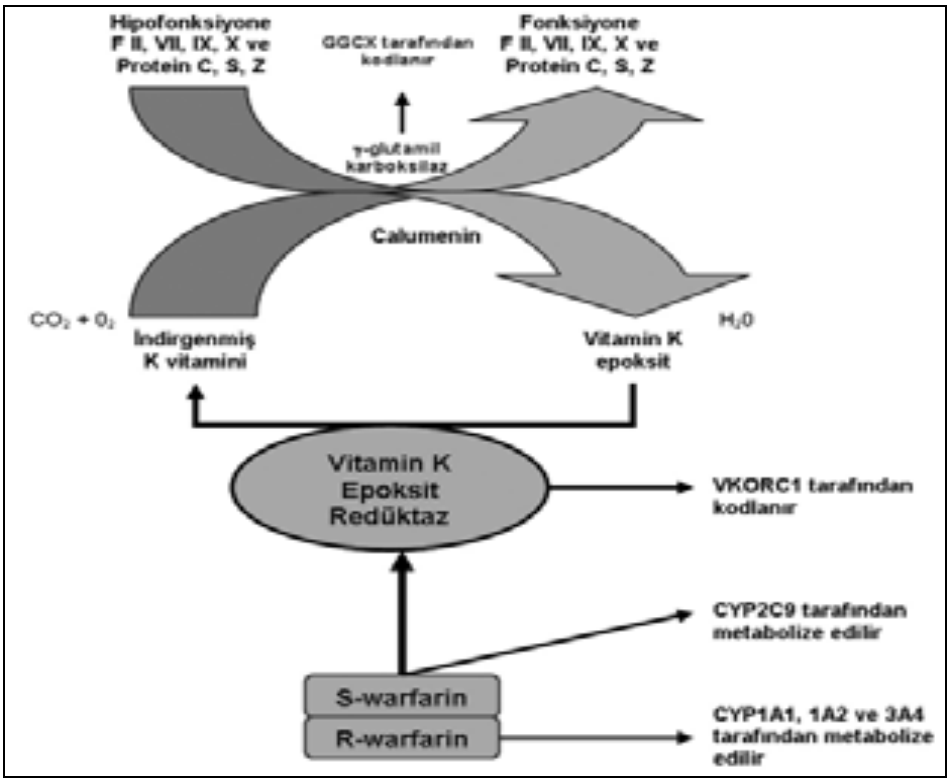
İndandion türevleri kimyasal yapıları kumarinden farklıdır ancak farmakolojik özellikleri benzerlik gösterir. K vitaminini antagonize ederler. Protrombin oluşumunu önleyerek etki gösterirler. Ağız yoluyla kullanılırlar. Bu bileşiklere karşı alerjik reaksiyonlar ve agranülositoz tarif edilmiştir. Fenindion, Difenadion, Anisidon bu bileşiklerdendir (31).

#### 2.2.2.1 Varfarin sodyum:

4-Hidroksi–3-(3-oxo–1-phenylbutyl ) coumarin'in sodyum tuzudur. Su ve alkolde oldukça çözünebilir bir molekül olup, beyaz higroskopik tozdur. Sudaki %1 solüsyonunun PH'sı 7,6–8,6'dır(51). Varfarin, R ve S-izomer olan iki subünitten oluşur. S- izomer, R-

izomer'den 3–5 kat daha etkindir. Sitokrom P450 CYP2C9 izoenzimi varfarin'in oksidatif metabolizmasından sorumlu bir karaciğer enzimidir. S-varfarin çoğunlukla polimorfik CYP2C9 ile 7-hidroksi varfarin'e metabolize olurken R-varfarin çogunlukla, CYP1A2 ve CYP3A4'ü içeren sitokrom P450 izoenzimi ile metabolize olur (52–55). Varfarin ağızdan alındıktan sonra ince barsaktan emilir, karaciğerde ve böbreklerde işlenir (56). Varfarin K vitamini epoksit redüktaz enzimini inhibe ederek hidrokinonun aktif şeklinin oluşumundan sorumlu olan K vitamini epoksitinin redüksiyonunu engeller (26,31). Karaciğerde K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerinin yapımını engeller, kanın pıhtılaşması gecikir. Pıhtılaşmayı önleyici etkinin başlaması için en az 48 saat gereklidir. Varfarin ekstrensek pıhtılaşma sisteminin fonksiyonlarını gösteren protrombin zamanı (PT) testini uzatır. Kullanılan test tüplerinin, ölçüm cihazlarının ve ölçüm maddelerinin değişkenliği test sonuçlarını etkilediği için varfarin kullanan hastalarda PT testi, standart bir değer ile (INR: International Normalized Ratio) ifade edilir. INR normal insanlarda 1 civarındadır. Varfarinin güvenli ve etkili olarak kullanılması, INR değerinin terapetik sınırda tutulmasına bağlıdır (57). Eğer INR düşükse tedavi etkisiz olur, aksine INR terapötik aralığın üst sınırını aşarsa hastada kanama riski artar (58). Buna rağmen günümüzde varfarin kullanan hastaların sadece üçte ikisi hedef INR değerine sahiptir (59). Yapılan çalışmalarda, INR değeri 3'ün üzerinde olan hastalarda kanama riskinin 5 kat arttığı belirtilmektedir. Gastrointestinal sistem mukozasının bütünlüğünün bozulduğu hastalıklarda, hipertansiyon varlığında, renal ve serebrovasküler hastalıklarda varfarin tedavisine bağlı kanama riski daha da belirginleşmektedir (60) (Şekil 2'de varfarin etkimekanizması gösterildi).

Genetik faktörlere ek olarak varfarinin antikoagulan etkisini diyet, ilaçlar ve çeşitli hastalıklar etkiler. Diyet vitamin K içeriği, varfarin aktivitesini etkiler. Ayrıca birçok ilaç varfarin metabolizmasını, klirensini, absorbsiyonunu değiştirebilir (56,61). Bu ilaçlar arasında trombosit fonksiyonunu ve agregasyonunu bozan asetil salisilik asit (ASA) veya diğer nonsteroid ilaçlar, antikoagülanlarla birlikte kullanıldığında ciddi kanama problemlerine sebep olabilirler. Bu ilaçlar fibrin oluşumunu önledikleri gibi hemostaz üzerinde de inhibisyon yaparlar. Nonsteroid antienflamatuar (NSA) ilaçlar, kloralhidrat ve etakrinik asit, oral antikoagülanlara bağlanarak albuminden serbest hale getirirler. Böylece plazma konsantrasyonları yükselerek antitrombinemik etkileri uzamaktadır. Varfarin tedavisi gören hastaların analjezik olarak parasetamol grubunu tercih etmeleri önerilir (31, 40).




Şekil 2-Varfarin etki mekanizması

Fenilbutazon, oksifenbutazon; varfarinin R ve S izomerlerinin metabolizmasını farklı yollarla değiştirerek antikoagülan aktivitesini artırırlar. Bu ilaçlar varfarin alan hastalarda ciddi kanamalara neden olabileceğinden kullanımından kaçınılmalıdır. Diflunisanol, flurbiprofen, indometazin, ketoprofen, meklofenomat Na, mefenamik asid ve piroksikamı içeren NSA' ların; varfarinin hipoprotrombinemik etkisini artırdığını gösteren çalışma sayısı azdır ve bu konuda izole vakalar mevcuttur (51).

Oral antikoagülan kullanan hastaların sedatif olarak barbitürat yerine benzodiazepin türevlerini tercih etmeleri önerilir. Simetidin ve omeprazol karaciğer mikrozomal enzimlerini inhibe eder ve antikoagülanların yıkımını önleyerek etkilerini artırır. Kolestiramin oral antikoagülan emilimini engeller. Kloramfenikol, makrolidl ve ketokonazol benzeri mantar ilaçları, karaciğer mikrozomal enzim inhibisyonu yaparak oral antikoagülanların etkinliğini artırırlar (26,28). Bu yolla oral antikoagulanların etkinliğini artıran diğer ilaçlar arasında disulfuram, imipramin, metranidazol ve simetidin de bulunur (26,31).

Gastrointestinal sistem kanaması gibi hemorajik komplikasyonlar, varfarin tedavisinin en yaygın komplikasyonu olmakla birlikte, ürtiker, allerjik makülopapüler döküntüler, eozinofilik plörit, vaskülit (62–64), deri nekrozu, mor ayak sendromu, toksik hepatit de daha az sıklıkta görülen nonhemorajik komplikasyonlarıdır (65).

Varfarin tedavisinin yan etkisi olan kanama sonucu hematom ve anemi oluşur (51). Kanama riski; tedavinin yoğunluğu, inme ve gastrointestinal kanama hikâyesi, ileri yaş, beraberinde aspirin kullanımı, karaciğer, böbrek yetmezliği ve genetik olarak artmış duyarlılık ile ilşkilidir. Kanama riski en fazla tedavinin erken döneminde görülür. Antikoagulasyon kontrolü iyi olan, terapötik INR değerinde kanaması olan hastalarda, altta yatan renal veya gastrointestinal hastalığın araştırılması gereklidir (66,67).

Cilt nekrozu, subkutan yağ dokusundaki kapil ve venüllerin trombozu sonucu tedavinin ilk 10 günü içinde gelişen varfarinin nadir bir komplikasyonudur. Lezyonlar, başlangıçta eritematöz görünümlüyken, daha sonra büllöz hale gelerek sonrasında gangrenöz nekrozla sonuçlanan sınırlandırılmış ağrılı cilt lezyonlarına dönüşür. Protein C eksikliği, cilt nekrozu gelişme riskini artırır. Cilt lezyonlarının geliştiği durumlarda antikoagülan tedavinin kesilmesi ve etkisini geri çevirmek için vitamin K verilmesi gereklidir (68).

Vitamin K kemik metabolizması ile ilişkilidir ve vitamin K antagonizması, artmış osteoporotik kırıklara neden olur. Uzun süreli oral antikoagülan tedavi altındaki hastalarda, artmış osteoporoz ve kırık riski mevcuttur (69).

Varfarin, düşük ve ölü doğuma sebep olabilen teratojen bir ajandır. Birinci trimestırda verilen varfarin, fetal varfarin sendromu veya kemik değişiklikleri, nazal hipoplazi ile karakterize varfarin embriyopatisine neden olmaktadır. Ayrıca gebeliğin geç döneminde kullanımı fetal kanamalara neden olabilir (70,71).

Varfarin alan hastalarda, kolestatik karaciğer hasarı olan birkaç vaka rapor edilmiştir ki bu vakalarda karaciğer hasarı, ilacın kesilmesi ile geri dönmüştür. Ayrıca ilaca bağlı pankreatit vakaları da bildirilmiştir (72).

Varfarin tedavisi esnasında gelişen kanamada, tedavi seçiminde INR değerindeki yükseklik ve kanama şiddeti dikkate alınır. Eğer INR değeri 5 ve üzeri, kanama yok veya geçici az miktarda kanama mevcut ise varfarin, INR değeri 5'in altına düşünceye kadar kesilir. INR değeri 8 ve üzeri olan vakalarda, kanama için başka risk faktörleri de mevcut ise vitamin K1 önerilir. Phytomenadion olan K1 vitamininin dozu, 0,5 mg i.v veya 5mg oral'dir.

Büyük miktarda kanamalarda ise varfarin tedavisi durdurulur ve faktör konsantreleri ile birlikte phytomenadion 5mg i.v infüzyon verilir. Faktör konsantresi sağlanamaz ise taze donmuş plazma verilmesi faktör konsantresi kadar etkili olmasada önerilir. Eğer kanama terapötik INR değerlerinde meydana gelir ise altta yatan kanama bölgesine göre başka bir sebebi araştırmak gerekir. Uzun süreli oral antikoagülan tedavinin kesilmesi gerektiği durumlarda yavasça azaltılarak sona erdirilmelidir (51).

**2.2.3. Yeni antikoagülan ilaçlar:**

Heparinin yan etkisi, parenteral kullanım zorunluluğu, varfarinin terapötik penceresinin dar ve etkileşimlerinin fazla olması, daha potent ve kolay uygulanabilir antikoagülan ilaçların geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. İdeal bir antikoagülan ilacın etkinliğinin yüksek olması, etkisinin çabuk başlaması, uygulanmasının kolay olması, yan etkisinin az olması, güvenilir bir antidotu olması, diğer ilaçlarla etkileşmemesinin yanında ilacın hasta tarafından kolay tolere edilebilmesi gerekir. Günümüzde bu konuda büyük adımlar atılmıştır. Heparin ve varfarinin, koagülasyon proteinlerinin inaktivasyonuna indirekt olarak sebep olur. Yeni geliştirilen antikoagulan ilaçlar ise koagulasyon sisteminde spesifik basamakları doğrudan inhibe ederler (73,74).

Yeni geliştirilen antikoagülan ilaçlar etki mekanizmalarına göre aşağıdaki gibi özetlenebilir:

| | |
|---|---|
| Doku faktorü/FVIIa kompleks inhibitörleri | Tifacogin (TFPI), NAPc2 |
| İndirekt faktor Xa inhibitorleri | Fondaparinux, Idraparinux |
| Direkt faktor Xa inhibitorleri | Apiksaban, Razaxaban, DX-9065a |
| Direkt trombin inhibitorleri | Hirudin, Bivaluridin, Argatroban, Dabigatranç Ximelogatran |

TFPI'nın bir rekombinan formu olan Tifacogin, koagülopatiyi engellemesi nedeni ile mortalite üzerinde olumlu etkileri savunulan bir antikoagülan ilaçtır (75). rNAPc2, hem FX hem de FXa'nın nonkatalitik bölgesine bağlan 85 aminoasitli antikoagülan bir proteindir ve FVIIa/TF kompleksi içindeki FVIIa'yı inhibe eder (76). Fonksiyonel olarak rNAPc2 ve TFPI benzeşir.

Yeni FXa inhibitörleri FXa'yı direkt veya indirekt olarak inhibe eder. Indirekt FXa inhibitörleri AT aracılığı yoluyla inhibisyonu sağlarken direkt FXa inhibitörleri direkt olarak

FXa'nın aktif bölgesine bağlanır ve onun substratlarla etkileşimine engel olurlar. Heparin/antitrombin kompleksi sadece serbest FXa'yı inhibe ederken, direkt FXa inhibitörleri serbest FXA yanında protrombinaz kompleksi içindeki trombositlere bağlanacak olan FXa'yı da inaktive eder (77,78). Bu özellik direkt inhibitörlerin tercih edilme nedenidir.

İndirekt FXa inhibitörü olan heparin zincirinin sentetik analogları ise fondaparinux ve idraparinux'tur. Fondaparinux ve idraparinux, AT yoluyla FXa inhibisyonuna neden olarak trombin oluşumunu bloke ederler. AT'den başka plazma proteinlerine bağlanmadıkları için dozları ve etkileri önceden tahmin edilebilir. Kullanım şekilleri subkutandır. Fondaparinux 15–20 saatlik yarılanma ömrü nedeni ile günde bir kez kullanılır.

Direkt FXa inhibitörleri, antistatin ve kaba antikoagülan peptid'dir. Arteryel trombozu engellediği gösterilmiştir. DX-9065a; FXa nın aktif bölgesine reversibl olarak bağlanır, düşük moleküler ağırlıklı non-peptidik yapıdadır. Razaxaban, oral olarak günde iki kez verilebilen FXa' ya yüksek affiniteli aminobenzisoksazol yapıda bir ajandır (79).

Trombin inhibitörleri ise; koagülasyon ve hemostazda anahtar rolü olan trombini inhibe ederler. Trombin inhibitörleri, trombin aracılı FV, FVIII and FXI feedback aktivasyonlarını, trombin kaynaklı trombosit agregasyonunu, fibrin formasyonunu ve pro-koagülan etkileri inhibe ederler. Ximelogatran, oral olarak emilemeyen bu nedenle subkutan verilebilen aktif bölge etkili trombin inhibitörü olan malegatranın ön ilacı olup, ilk oral direkt trombin inhibitörü olma özelliğine sahiptir (80,81,82). Dabigatran etexilate ise, diğer bir oral etkili trombin inhibitörüdür, yarılanma ömrü yaklaşık 8 saattir (83).

### 2.3. CYP2C9 genetik polimorfizmi ile varfarin metabolizması arasındaki ilişki

Genler kromozomlarda 'alel' olarak adlandırılan çiftler halinde bulunur. Farklı kodlar taşıdığı için farklı özelliklerin oluşmasına sebep olan ancak aynı karakteristik özelliği kodlayan genlerden her biri aleldir. Genom üzerindeki her 2000–2500 nükleotitte bir olan tek nokta mutasyonu, bireyler arası değişikliğe neden olur (84).

İnsanların farmakolojik ajanlara olan cevabında genetik polimorfizmlerin önemli yeri vardır (85). İlaçların etki ve eliminasyonunun genetik farklılıklar nedeniyle değişmesi farmakogenetik bilim dalı tarafından incelenir. Farmakogenetik; hekimin her bir genetik varyasyon için yaptığı tedaviyi yönlendirmesini sağlayan önemli bir sahadır (86).

İnsanların farmakogenomik bilgilerini; ilaç sinyal yollarını etkileyen proteinler, ilaç metabolize eden enzimler, reseptörler ve taşıyıcıları kodlayan gen polimorfizmlerini belirleyen çalışmalar verir. Farmakogenetik bilgisi, hastanın ilaç toksik etkilerine maruz kalmadan önce, etkili tedavi dozunun belirlenmesini sağlar. Warfarin, günlük pratikte, farmakogenomik testlerin uygulanmakta olduğu ilaçlardan biri olması yönüyle önemlidir (85).

Sitokrom P450 2C9 'CYP2C9' insan karaciğerinde ilaç metabolizmasında rolü olan bir enzimdir. Oral antidiyabetik ilaçlar, phenitoin, bazı anjiyotensin reseptör blokörleri, oral antikoagülan ilaçlar gibi birçok ilacın oksidatif metabolizmasından sorumludur (87,88). Sitokrom P450 enzimleri, kodladıkları genlerin dizi benzerliklerine göre %55'in üzerinde alt üniteye sahip olup, CYP2A, CYP3A, CYP2B, CYP2C, CYP2D şeklinde sınıflandırılırlar (11).

Varfarin, S-varfarin ve R-varfarin olmak üzere iki subunitten oluşur, CYP2C9 enzimi tarafından metabolize edilir. S-varfarin R-varfarinden yaklaşık 3–5 kat daha potenttir. S-varfarin çoğunlukla polimorfik CYP2C9 ile 7-hidroksi varfarin'e metabolize edilirken, R-varfarin çoğunlukla, CYP1A2 ve CYP 3A4'ü içeren birçok sitokrom P450 izoenzimi ile metabolize edilir (89).

CYP2C9 alelleri; CYP2C9*1 aleli wild tip, en yaygın olup, doğal tiptir. CYP2C9*2 alelini taşıyan, Arg144Cys mutasyonuna sahip hastalardaki enzim aktivitesi % 12, CYP2C9*3 alelini taşıyan Ile359Leu mutasyonuna sahip hastalardaki enzim aktivitesi % 5'dir. Populasyonun CYP2C9*2'yi homozigot taşıma oranı % 1 iken % 22'si heterozigot taşır. CYP2C9*3'ün ise taşınma oranı sırayla % 0,4 ve % 15'dir. % 1,4 oranında ise CYP2C9*2*3 bileşimi heterozigot taşnır. CYP2C9 *2 veya *3 varyant allele sahip hastalar artmış kanama riskine sahiptir, bu nedenle düşük doz varfarine ihtiyaç duyarlar (90). Exon 3 üzerinde oluşan tek nükleotid polimorfizmi; genetik zincirde TGT baz yapısının CGT'nin yerini alması ve CYP2C9 enzimindeki 144. amino asid olan arjinin yerine sistein geçmesiyle 'Arg 144 Cys ' oluşur. Bu varyasyon CYP2C9*2 varyant aleli olarak adladırılır. En az bir CYP2C9*2 varyant alleli taşıyan hastaların enzim metabolizması, CYP2C9*1 allelini homozigot olarak taşıyan hastalara göre %30-%50 oranında azalmıştır ki bu varfarin dozunun %14 ila %20 oranında azaltılması ihtiyacını doğurur. Exon 7 üzerindeki tek nükleotid polimorfizmi ise; genetik zincirde CTT baz yapısının ATT'nin yerini alması ve

CYP2C9 enziminde 359. aminoasid olan isolösin yerine lösin geçmesine ‘Ile 359 Leu’ yol açar. Bu varyasyon da CYP2C9*3 varyant aleli olarak belirtilir. En az bir CYP2C9*3 varyant alel taşıyan hastalar, CYP2C9*1 alelini homozigot taşıyan hastalara göre %80–90 oranında azalmış enzim metabolizmasına sahiptir ve %21–49 oranında varfarin dozunun azaltılması ihtiyacını doğurur (23,88,91,92).

Daha önce bu konuda yapılan çalışmalar; hastaların genotipinin bilinmesinin, varfarinin optimal dozunu tespit edilip hedef INR değerine hızlı bir şekilde erişmeyi sağladığını göstermiştir (93-95).

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Mayıs 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında gerçeklestirildi. Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran, en az bir ay süre ile herhangi bir endikasyonla varfarin kullanmakta olan yaşları 29 ile 80 arasında değişen (ortalama 59,86±14,46), 45'i kadın, 35'i erkek, toplam 80 hasta çalışma kapsamına alındı. Çalışmaya başlanmadan önce Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan gerekli izinler alındı. Hastalara, çalışma hakkında bilgi vererek çalışmanın önemi anlatıldı ve onayları alındı.

Hastalardan 5cc venöz kan örneği EDTA'lı tüplere alınarak +4°C'de saklandı. Varfarin dozu haftalık toplam dozun 1/7'si olarak hesaplandı. Çalısmaya katılan bütün hastalardan ayrıntılı anamnez alındı, fizik muayene yapıldı. Muayene sırasında kanama olup olmadığı kaydedildi. Hastaların genotip incelemeleri yapılarak; CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 varyantlarını taşıma şekilleri (homozigot, heterozigot ve wild tip) tespit edildi.

Hastaların genotip incelemesi yanında böbrek, karaciğer ve tiroid fonksiyon testleri, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), protrombin zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı, INR için kan alındı. Vücut yüzey alanları tespit edildi. Malignite, hepatik ve renal bozukluk, CYP2C9 ile metabolize olan ilaç kullanımı, tiroid fonksiyon bozukluğu, varfarin kullanım süresinin bir aydan kısa olması ve hasta uyumsuzluğu çalışma dışı bırakılma kriterleri idi. CYP2C9*1/*1 ve en az bir varyant alel taşıyan CYP2C9 *1/*2, CYP2C9*1/*3, CYP2C9*2/*2, CYP2C9*2/*3 ve CYP2C9*3/*3 genotiplerini belirlemek üzere moleküler genetik tanı ve araştırma laboratuvarlarında çalışıldı.

## 3.1 Polimorfizm Analizleri

Polimorfizm analizleri Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Moleküler Analiz PCR laboratuarında gerçekleştirildi. VCORC1 -1639 G>A, CYP2C9 1075 A>C ve CYP2C9 430 C>T polimorfizm analizleri için, EDTA'lı hemogram tüplerine alınan venöz kan örnekleri alikotlanarak, analiz işlemi yapılıncaya kadar -80 $^{o}$C'de saklandı. PGX-Thrombo StripAssay kiti (ViennaLab Diagnostics, Avusturya) kullanılarak polimorfizm analizleri yapıldı. Bu analiz işlemleri, DNA izolasyonu, biotinlenmiş primerlerin kullanıldığı

polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifikasyon ve amplifikasyon ürünlerinin revers–hibridizasyonu olmak üzere üç basamakta gerçekleştirildi.

DNA izolasyonu, PGX-Thrombo StripAssay ticari kiti beraberinde gelen GENXTRACT Resin çözeltisi ve diğer izolasyon reaktifleri kullanılarak üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda venöz kan örneklerinden gerçekleştirildi.

DNA konsantrasyonları ve saflık dereceleri, quartz küvette, 195 µL saf su + 5 µL süpernatant olacak şekilde, 260 ve 280 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapılarak belirlendi. $A_{260}/A_{280}$ oranının 1,7-1,8 olması PCR analizinde kullanılabilecek saflık derecesi olarak kabul edildi.

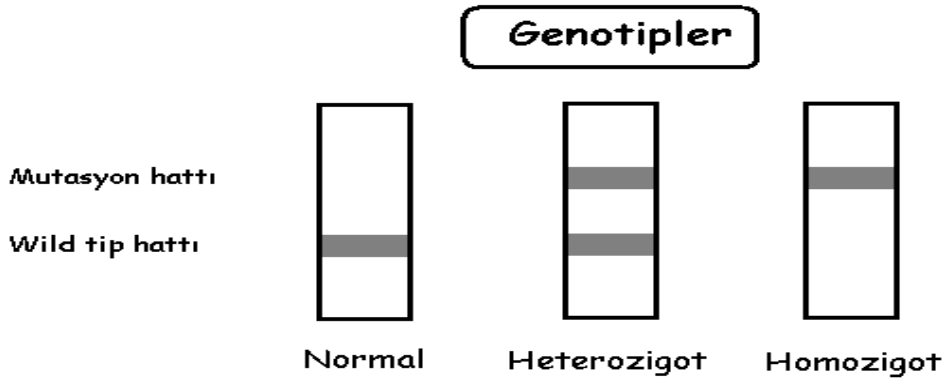
PCR reaksiyon karışımı şu şekilde oluşturuldu:

- 15 µL Amplifikasyon Mix
- 5 µL dilüe Taq DNA Polimeraz
- 5 µL DNA Template

PCR reaksiyon tüpleri Thermocycler cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki PCR programı uygulandı:

- Pre-PCR: 94 $^{o}$C/2 dakika
- Thermocycling: 94 $^{o}$C/15 saniye, 58 $^{o}$C/30 saniye, 72 $^{o}$C/30 saniye (35 siklus)
- Final ekstansiyonu: 72 $^{o}$C/3 dakika

Elde edilen amplifikasyon ürünleri 2-8 $^{o}$C'de saklandı. Daha sonra PCR ürünleri, otomatik hibridizasyon cihazına yüklenerek hibridizasyon işlemi gerçekleştirildi. PGX-Thrombo StripAssay ölçüm, strip membranlar üzerine immobilize edilmiş allele spesifik oligonükleotidler ile biyotinle işaretlenmiş PCR ürünlerinin reverse (ters) hibridizasyonu prensibine dayanmakta idi. Her polimorfik gen bölgesi için muhtemel üç farklı (wildtype, heterozigot ya da homozigot) boyanma özelliğine göre her bir örneğin genotip analizi yapıldı (Şekil 3'de striplerde oluşan wild tip ve mutasyon bantları gösterildi).




**Şekil 3.** Striplerde Oluşan Wild Tip ve Mutasyon Bantları

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11,3 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma) yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Student t-Test, Mann-Whitney U test, Kruskal Wallis testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare ve Fisher Exact test kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

Prospektif olarak yaptığımız çalışmaya alınan 80 hastanın yaş ortalaması 58,96±1,85 yıl olarak tespit edildi. Hastaların 35 (% 43,75)'i erkek, 45 (% 56,25)'i kadındı. Hastalardaki antikoagulasyon sebebi; %26,25 (21) oranında atrial fibrilasyon, % 25,00 (20) oranında kalp kapak hastalığı, %7,50 (6) oranında derin ven trombozu, % 2,50 (2) oranında pulmoner emboli ve %38,75 (31) oranında trombofili ve başka nedenlerle varfarin kullanmaktaydı. Hastaların 27 (% 33,75)'sinin çalışmaya alındığı anda kanaması mevcuttu. Hastaların aldığı ortalama varfarin dozu 4,5138 ± 0,18053 mg/gün'dü. Hastalardaki ortalama INR değeri 5,1523 ± 0,56280 idi. Hastaların ortalama vücut yüzey alanı 25,44±4,81 idi. Erkek hastaların yaş ortalaması 61,71±2,59 iken bayanların ki 56,82± 2,59 idi (Tablo 1). Varfarin tedavisi alan 80 hasta CYP2C9*2 ve CYP3C9*3 varyantları bakımından değerlendirildi.

**Tablo 1.** Hastaların Karakteristik Bulguları

| | X ± Sx | (Max-Min) |
|---|---|---|
| Yaş | | |
| Erkek (n=35) | 61,71±2,59 | (30–35) |
| Bayan (n=45) | 56,82± 2,59 | (17–81) |
| Günlük Ortalama Varfarin Dozu (mg) | 4,514 ± 1,620 | (1,60–10,0) |
| BMI | 25.44 ± 4.81 | (17–38) |
| Ankoagülasyon Sebebi | n (%) | |
| DVT | 6 (% 7,5) | |
| Pulmaner Emboli | 2 (%2,5) | |
| Kalp Kapak Hastalığı | 20 (% 25) | |
| Atrial Fibrilasyon | 21 (%26,3) | |
| Diğerleri | 31 ( % 38,3) | |

Hastalar CYP2C9*2 allelini % 17,5 (14) oranında heterozigot (*1*2), % 3,8 (3) oranında homozigot (*2*2) olarak taşırken, % 78,8 (63) gibi yüksek orandaki hasta grubu, bu alleli taşımıyordu (Tablo 2). CYP2C9*2 allelini heterozigot veya homozigot olarak taşıyan

veya taşımayan hastalara ait INR ortalamaları sırasıyla; 7,39±1,43, 5,47±2,30, 4,64±0,62 olarak tespit edildi. CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastaların ortalama INR değerleri bu alleli taşımayan veya homozigot olarak taşıyan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Heterozigot hasta grubundaki ortalama INR değerinin, homozigot hasta grubundaki ortalama INR değerinden yüksek bulunmasının nedeni, homozigot grubundaki kişi sayısının az olması olarak düşünüldü.

**Tablo 2.** Hastaların CYP2C9*2 polimorfizmi

| CYP2C9*2 aleli | Frekans | X ± Sx | *P* |
|---|---|---|---|
| CYP2C9*1 (Wild) | 63 (% 78,8) | 4,64±0,62 | |
| CYP2C9*1*2 (Heterozigot) | 14 (% 17,5) | 7,39±1,43 | |
| CYP2C9*2*2 (Homozigot) | 3 (% 3,8) | 5,47±2,30 | |
| Toplam | 80 (100) | 5,15±0,56 | **0,019** |

**(*p*<0,05)**

Hastalar CYP2C9*3 allelini, % 25 (20) oranında heterozigot (*1*3), % 2,5 (2) oranında ise homozigot (*3*3) olarak taşırken, % 72,5 (58) oranındaki hasta grubu, bu alleli taşımıyordu (Tablo3). CYP2C9*3 allelini heterozigot veya homozigot olarak taşıyan veya taşımayan hastalara ait INR ortalamaları sırasıyla; 4,29±1,1, 4,7±0,3 ve 5,47±0,68 olarak tespit edidi. CYP2C9*3 allelini heterozigot veya homozigot olarak taşıyan veya taşımayan hastaların ortalama INR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark yoktu ($p>0,05$).

**Tablo 3.** Hastaların CYP2C9*3 polimorfizmi

| CYP2C9*3 alleli | Frekans | X ± Sx | *P* |
|---|---|---|---|
| CYP2C9*1 (Wild) | 58 (% 72,5) | 5,47±0,68 | |
| CYP2C9*1*3 (Heterozigot) | 20 (% 25,0) | 4,29±1,1 | |
| CYP2C9*3*3 (Homozigot) | 2 (% 2,5) | 4,7±0,3 | |
| Toplam | 80 (%100) | 5,15±0,56 | 0,203 |

*p*>0,05

Hastaları INR değerlerine göre <4, 4–8, >8 olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Hastaların 52 (%65)'sinin INR değeri 4'ün altında, 13 (% 16,3)'ünün INR değeri 4–8 aralığında, 15 (% 18,8)'inin INR değeri ise 8'in üzerinde idi. INR değeri; 4'ün altında olan gruba ait ortalama INR 2,31±0,1, 4–8 grubuna ait ortalama INR 5,94 ± 0,31 iken 8'in üzerinde olan gruba ait ortalama INR ise 14.32±1,13 olarak tespit edildi (Tablo 4).

**Tablo 4.** INR değerine göre hasta grupları

| INR grupları | Frekans | X ± Sx |
|---|---|---|
| <4 | 52 (% 65) | 2,31±0,1 |
| 4–8 | 13 (% 16,3) | 5,94±0,31 |
| >8 | 15 (% 18,8) | 14,32±1,13 |
| Toplam | 80 (% 100) | 5,15±0,56 |

INR değeri <4, 4–8, >8 olan hasta gruplarına ait kullanılan ortalama varfarin dozları sırasıyla; 4,6±0,24, 4,67±0,36, 4,09±0,39 mg/gün olup, bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Tablo 5).

**Tablo 5.** INR değeri <4, 4–8, >8 olan gruplardaki ortalama varfarin dozları

| Varfarin seviyesi | Frekans | X ± Sx | *P* |
|---|---|---|---|
| <4 | 52 (% 65) | 4,6±0,24 | |
| 4–8 | 13 (% 16,3) | 4,67±0,36 | |
| 8< | 15 (% 18,8) | 4,1±0,38 | |
| Total | 80 (%100) | 4,51±0,18 | 0,535 |

p>0,05

CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 allelleri ile hastalardaki kanama komplikasyonu arasındaki ilişki araştırıldı. Tablo 6'da, hastalardaki bu allel durumuna göre kanama oranları görülmektedir.

**Tablo 6.** CYP2C9*2 ve *3 alleline ait kanama oranları

| | CYP2C9*2 (%) | *P* | CYP2C9*3 (%) | *P* |
|---|---|---|---|---|
| Wild | 30,16 | **0,000** | 36,20 | **0,003** |
| Heterozigot | 57,14 | **0,000** | 25,00 | **0,001** |
| Homozigot | 0,0 | **0,000** | 50,00 | **0,000** |

***p*<0,05**

CYP2C9*2 allelini taşımayan hasta grubundaki kanama oranı % 30,16, heterozigot olarak taşıyan hasta grubundaki kanama oranı % 57,14, homozigot olarak taşıyan hasta grubundaki kanama oranı ise % 0 olarak tespit edildi. CYP2C9*3 allelini taşımayan hasta grubundaki kanama oranı % 36,2, heterozigot olarak taşıyan hasta grubundaki kanama oranı % 25, homozigot olarak taşıyan hasta grubundaki kanama oranı ise % 50 olarak tespit edildi. Hastalarda tespit edilen bu allellerle, kanama komplikasyonu arasında yapılan karşılaştırmada; CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, bu alleli taşımayan ve homozigot olarak taşıyan hastalara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). CYP2C9*2 allelini homozigot olarak taşıyan gruptaki kanama oranının, heterozigot gruba göre beklenenin aksine düşük olması, homozigot grubundaki hasta sayısının az (n=3) olmasının neden olabileceği düşünülmüştür.

CYP2C9*3 allellini homozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, bu alleli heterozigot olarak taşıyan ve taşımayan hasta gruplarına göre beklenildiği üzere istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

## 5. TARTIŞMA

Kumarin bazlı antikoagülan ilaçlar ki varfarin bir kumarin derivesidir, tüm dünyada tromboembolik olayların önlenmesi ve tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılır(96). Vitamin K pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX, X yanı sıra antikoagülan protein C ve S'in sentezi için de gerekli bir kofaktördür. Varfarin K vitaminin siklik rejenerasyonunu inhibe ederek indirekt yoldan bu faktörlerin sentezinde hız sınırlayıcı bir şekilde rol oynar (97,98).

Varfarin çoğu ilaç gibi tek sabit dozda kullanılamaz. Çünkü bireyler, farklı varfarin dozlarına karşı farklı yanıt verirler. Bu sebeple varfarinin antikoagülan etkisi standardize edilmiş protrombin zamanı ile ölçülür ve dozu ona göre ayarlanır (99).

Hastalara reçete edilen antikoagülan dozu, istenen antikoagülan yoğunlukla alakalı olduğu gibi hastanın diyet alışkanlığı ve bereberinde reçete edilen ilaçlarla da sıkı ilişkisi vardır. Varfarin kullanan hastalar bereberinde genellikle başka ilaçlar da kullanır ve reçete edilen ilaç sayısı ne kadar fazla ise etkileşim oranı o kadar fazla olacağından, hastalarda hipokoagülasyon sebebi ile tromboemboli ya da hiperkoagülasyon sebebi ile kanama gibi yan etkilerin görülmesi nadir değildir (100).

Erişkin toplumda yapılan bir çok çalışmada; diyetteki vitamin K desteğinin varfarin dozu ve antikoagulasyona önemli oranda etkisi olduğu vurgulanmıştır. Vitamin K'dan zayıf beslenme ile daha düşük varfarin doz gereksinimi ve INR kontrolünün daha zor olduğu belirtilmiştir (101).

Varfarin tedavisinde güncel indüksiyon doz rejimleri, hasta eğitimi ve sıkı kontrolü ile hastaların çoğu güven içesindedir. Ancak hastaların küçük bir kısmı ki bunların bir kısmı varfarine sensitif bir kısmı da sensitif değildir bu nedenle artmış kanama ve tromboembolizm riskine sahiptir. Kontrolsüz ve varfarine gecikmiş yanıt durumunda gerçek dozu belirlemek zordur. Bazı hastalarda INR seviyesi tedavinin ilk 3-5 günü boyunca hedef seviyeye

ulaşırken, daha sonraki günlerde aşırı antikoagulasyon görülebilir ve istenmeyen sonuçlara neden olabilir. Farmakogenetik bazlı doz rejimleri uygulanması özellikle varfarine sensitif ve sensitif olmayan dirençli hastalara faydalı olabilir.

Varfarin tedavisinde dikkat edilmesi gereken iki nokta vardır. Birincisi; tedavi süresinde özellikle kanamaların sık olduğu tedavinin ilk aylarında, etkili ve güvenli sabit bir doz tespit etmek, ikincisi tespit edilen bu idame dozunu hastada değişebilen diyet, ağırlık, hastalık durumu ve ilave edilen ilaçlara göre ayarlamaktır. Yapılan son çalışmalarda genetik faktörlerin de bu faktörlere ilave değerlendirilmesi gerektiğini göstermiştir (23). Çalışmamızda; hastaları INR değerlerine göre; 4'den düşük, 4–8 arası ve 8'in üzeri olarak gruplandırıldığında; bu gruplar arasında varfarin dozu açısından anlamlı fark bulunamadı. Bu sonuç bize dolaylı olarak INR değeri üzerine varfarin dozunun tek etken olmadığını gösterdi.

Bin dokuzyüz doksanlara kadar varfarine olan yanıtın, karaciğer hastalığı, hipertroidizm, kalp yetmezliği gibi durumlarda değiştiği, varfarinin bazı ilaçlarla etkileştiği ve ileri yaşlarda ilaca hassasiyetin arttığı bilinmiyordu (12). Genetik polmorfizmlerin tanınması ile ilaçların yan etkileri ile genotip arasındaki ilişkileri gösteren çalışmalar yapılmıştır. CYP2C9 genotipi ve kanama arasındaki ilişkinin klinik önemi vurgulanmış, CYP2C9 genotipinin, varfarin tedavisinin özellikle başlangıç evrelerinde olan kanamalarda, bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (23).

Sitokrom P450, oksidasyon sisteminin miks fonksiyonlu terminal oksidazı olarak fonksiyon gören büyük bir hemoprotein ailesini içeren enzim sistemidir. En az 481 CYP geni ve 22 psödö geni olduğu düşünülüyor (102). CYP2C9 insan CYP2C ailesinin bilinen dört üyesinden biridir ancak genetik çalışmalar muhtemel üç ek CYP2C enzim varlığını göstermiştir. Son yıllarda özellikle ilaç metabolizmasında CYP2C9'un önemi artmıştır (103). İnsan CYP2C ailesinin bilinen diğer üyeleri içinde CYP2C8, CYP2C18 ve CYP2C19 enzimleri vardır. CYP2C10 enzimi ise bugün CYP2C9'un bir varyantı olarak düşünülüyor (87,102).

Sitokrom P450, ilaç ve bazı kimyasal maddeleri metabolize eden karaciğerde bulunan bir enzim sistemidir. Bu enzim sisteminin bir üyesi olan CYP2C9 ise, R-varfarinden 3 kat daha potent olan S- varfarinin inaktivasyonu ve metabolizmasından sorumlu bir enzimdir. Bu sebeple, CYP2C9 gen polimorfizmi, hastalarda farklı katalitik aktiviteli protein expresyonuna yol açar (12).

CYP2C9 insanlarda ilaç metabolizmasında rol alan en önemli enzim olarak bilinir. CYP2C9'un metabolizmasında rol aldığı bu ilaçlardan bazıları; fluoxetine, fenitoin, losartan, tolbutamid, S-varfarin, torsemid ve bir çok non steroid anti inflamatuardır. Rifampisin yanısıra etanol, karbamezapin and fenobarbital CYP2C9 aktivitesini artırır. Birbirine alterne substratlar arasında karşılıklı yarışmalı inhibisyondan başka birçok ilacın CYP2C9 aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Klinik olarak önemli olan bu ilaçlar; amiodarone, flukonazol, fenilbutazon, sulfinpirazon ve diğer bazı sülfanamidlerdir (104).

CYP2C9'un belli yaygın genetik mutasyonlarını taşıyan hastalar, daha düşük doz varfarin ve stabil doza ulaşmak için daha uzun süreye ihtiyaç duyarlar. Bu kişiler aşırı antikoagulasyon ve şiddetli kanama riskine sahiptirler (23,105).

Farmakogenetik, hastaların reçetelerini bireyselleştirmeyi optimize etmek için yapılan genetik testlerdir. Varfarin, yaygın kullanılan, dar terapötik penceresi olan, metabolizmasında polimorfizm görülebilen reseptörlerin ve enzimlerin olması sebebi ile farmakogenetik testler için alanı olan önemli bir ilaçtır. Eğer başarılı bir şekilde, yapılan tedaviler bireyselleştirilebilirse, farmakogenetik sağlık için çok faydalı olma potansiyeline sahiptir. Farmakogenetik testler, hastaların varfarine olan cevabı üzerinde etkisi olan tek parametre olmadığı için klinik sonuçların düzelmesine katkısı belirsizdir. Bu nedenle henüz rutin olarak kullanılmamaktadır (106).

Varfarin farmakogenetiği ile ilgili günümüze kadar yaklaşık 30 gen bildirilmiştir. Yine de bu genler üzerinde daha fazla araştırma yapmak gerekir. CYP2C9 ve VKORC1 genleri bu genler arasında varfarin etkisi ile ilgili olanlardır. VKORC1 geni varfarinin

farmakodinamiğinde, CYP2C9 geni ise varfarin farmakokinetiği ile ilgili major genlerdir (107).

Farmakogenetik bilim dalına göre, normal popülasyonda bir karakter için iki veya daha fazla fenotip bulunması ve bu fenotiplerin her birinin %1'den daha büyük sıklıkta görülmesi genetik polimorfizm olarak adlandırılır (84). Genetik polimorfizm sitokrom P450 enzim sisteminin, CYP2C9 bölgesinde tanımlanmıştır. Bu polimorfizmde, exon 3 üzerindeki tek nükleotid polimorfizmi, 144. amino asid olan arjinin yerine sistein geçmesine yol açar ki bu varyasyon CYP2C9*2 varyant alleli olarak belirtilir. Exon 7 üzerindeki tek nükleotid polimorfizmi ise 359. aminoasid olan isolösin yerine lösin geçmesiyle oluşur, bu da CYP2C9*3 varyant alleli olarak belirtilir. CYP2C9*2 alleline sahip hastalar, wild tipe ( CYP2C9*1) sahip hastaların enzim aktivitesinin yaklaşık %12'sine sahipken, CYP2C9*3 allele sahip olanlar, % 5'ine sahiptir. Her iki varyant allel de sabit dozu sağlamak için daha fazla zamana ihtiyaç gösterir, daha fazla kanama riskine sebep olur (12,14,15).

CYP3A4 de diğer bir CYP gen mutasyonudur. R-warfarin metabolizmasına önemli katkısı vardır. Bireyler arası enzim seviyeleri farklılık gösterir. Bu genin çeşitli polimorfizmleri tanımlanmışsa da, mutasyon sıklığı genel populasyonda çok düşüktür, klinik önemi tartışmalıdır (101).

Antikoagülan tedavinin özellikle ilk ayları risklidir çünkü hasta için etkin ve güvenli doz bilinmez, ilaç ampirik olarak başlanır. Bu sebeple kanama komplikasyonuna sebep olan aşırı koagülasyon, bu süre zarfında daha sıktır (108,109,110).

İlk kez Furuya ve arkadaşları, 1995'te varfarin doz gereksinimi üzerine CYP2C9 polimorfizminin etkisini rapor etmişler ve CYP2C9*2 alleli için heterozigot olan hastaların hedef INR değerine ulaşmak için % 20 daha az varfarin dozu gerektiğini ileri sürmüşlerdir (21).

Sconce ve arkadaşlarının çalışmasında varfarin dozu üzerine etki gösteren en önemli faktörlerin yaş, boy, VKORC1 ve CYP2C9 genotipleri olduğu ve bunların kişiler arası varfarin doz değişkenliği üzerine % 55 etkisi olduğu görüşü savunulmuştur (111).

Çalışmamızda; CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastalardaki ortalama INR değerleri, bu alleli homozigot taşıyan veya taşımayan hastalara göre anlamlı yüksek bulundu. Aynı şekilde kanama komplikasyonu ile CYP2C9*2 alleli karşılaştırıldığında, heterozigot olarak taşıyan hastalarda kanama oranı daha yüksek bulundu. Çalışmamızda, yüksek INR değerinin homozigot yerine heterozigot hastalarda tespit edilmesi yönü ile Furuya ve arkadaşları (21)'nın çalışmasına benzemektedir. Homozigot hasta grubundaki birey sayımızın yetersiz olması beklenenin aksine homozigot grup INR sinin anlamlı yüksek olmasını engellediği düşünüldü.

Aithal ve arkadaşları ise; bir veya daha fazla varyant CYP2C9 alelli hastaların daha düşük doz varfarin kullanması gerektiğini, bu grup hastaların wild tip CYP2C9 genotipli hastalara göre major kanama riskinin dört kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (16).

Scordo ve arkadaşları'nın 2002'de yaptığı bir çalışmada ise; CYP2C9 polimorfizmi ile varfarin doz gereksinimi arasındaki ilişkiyi doğrulamakla birlikte, wild tip CYP2C9 genotipli hastaların % 30'unun da düşük doz varfarin gereksinimi olduğunu ileri sürmüş, buna sebep olarak ta fizyolojik, patolojik, çevresel faktörlerin yanında *2 ve *3 allelleri dışında, diğer genetik faktörlerin de katkısı olduğunu savunmuşlardır (24).

İkibin beşte yapılan bir metaanalizde; 2775 hastanın % 12,2'sinin CYP2C9*2, %7,9'unun CYP2C9*3 varyant alelini taşıdığını göstermişler, CYP2C9*2 allelli hastaların %17 oranında, CYP2C9*3 allelli hastaların ise % 37 oranında, hedef INR değeri için varfarin dozunun azaltılması gerektiğini öne sürmüşlerdir (112).

Benzer sonuçlar varfarin tedavisi alan CYP2C9*2 veya CYP2C9*3 varyant allelini, heterezigot ve homozigot gösteren hastaların, düşük doz varfarin gereksinimi olduğunu,

wild-tip hastalarla karşılaştırıldığında bu hastalarda aşırı antikoagulasyon ve kanama olduğunu bildirmişlerdir (113).

Çalışmamızda; CYP2C9*3 allelini homozigot veya heterozigot taşıyan veya bu alleli taşımayan hastalar arasında INR açısından fark bulunamadı. Ancak kanama komplikasyonu ile CYP2C9*3 alleli arasında yapılan karşılaştırmada, bu alleli homozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, heterozigot olarak taşıyan veya taşımayan hastalara göre anlamlı yüksek bulundu. Çalışmamız bu sonucu ile Joffe HV, Aithal ve Ablin J ve arkadaşlarını desteklemektedir.

CYP2C9 alellerinin prevalansı etnik gruplar arasında farklılık gösterir. Afrika toplumunda az sıklıkta CYP2C9*5 ve *6 alelleri tespit edilmiştir. Irklar arasında kıyaslandığında, *2 ve *3 alelleri siyah ırkta beyaz ırktan daha az sıklıkta görülmüştür. Ayrıca Çinli hastaların, Asyalı hastalara göre daha düşük doz varfarin gereksinimi olduğunu, bu surette toplumlar arasındaki varfarin doz gereksiniminin farklılık arzettiğini vurgulanmıştır (114). Ayrıca Malezya'da varfarin tedavisi alan hasta Çinli, Malay'lar ve sağlıklı bireylerde bakılan CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 prevalansı düşük bulunmuştur (115).

Yine 2007'de yayınlanan Loebstein R ve arkadaşlarının yaptığı bir makalede ise; varfarin doz gereksiniminin etnik gruplar arasında değiştiğini, Afrika ve Amerika'lıların Asyalılardan daha yüksek doza gereksinim duyarken, Japon ve Çin'lilerin ise daha düşük doza gereksinim duyduğunu ifade etmişler, ancak hasta sayılarının yetersiz olduğunu dile getirmişlerdir (116).

Aynacıoğlu A.Ş ve arkadaşlarının 1999'da Türkiye'de yaptığı bir çalışmada; 499 fenitoin kullanan hasta CYP2C9 genotipi alelleri açısından taranmıştır. CYP2C9*1 alleli 0,794, CYP2C9*2 alleli 0,106 ve CYP2C9*3 alleli ise 0.100 oranında tespit edilmiştir. Türk toplumu'nda, *2 ve *3 varyantlarının sıklığı, diğer Asya toplumlarıyla aynı bulunmuş, bireyler arasındaki fenitoin seviye farklılıklarının ancak genotip ile açıklanabildiği vurgulanmıştır (117).

Bizim çalışmamız da, daha önce yapılan çalışmalar gibi (105,106,108), etnik gruplar arasında farklılık tespit edilen CYP2C9 genotipini, Erzurum Bölgesi'ndeki varfarin kullanan hastalarda tespit etmeyi amaçlamıştır. Erzurum Bölgesinde, varfarin tedavisi alan hastaların CYP2C9*2 allelini, % 17,5 oranında heterozigot, % 3,8 oranında homozigot olarak taşıdığı, CYP2C9*3 allelini ise % 25 oranında heterozigot, % 2,5 oranında homozigot olarak taşıdığı, bunların dışındakilerinin ise wild tip olduğu tespit edildi.

Varfarin doz gereksinimi üzerine CYP2C9 polimorfizmi yanı sıra, vitamin K epoksit redüktaz komplex 1 (VKORC1) varyantlarının etkisi araştırılmıştır. VKORC1 varyantlarının CYP2C9 *2 ve *3 varyantlarına göre varfarin doz gereksinimi üzerine üç kat daha fazla etkisi olduğu savunulmuş, farklı soydan (Asya, Avrupa, Afrika) gelen hastalar arasında, farklı doz gereksiniminin olmasının VKORC1 varyantlarının olduğu vurgulanmıştır (118).

Taube J ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı çalışmada ise CYP2C9 genotipi ve varfarin sensitivitesi arasındaki ilişki doğrulanmış, ancak varyant allele sahip hastalarda aşırı bir antikoagülasyon durumu görülmediği, uzun süre tedavi alan hastaların izlemlerinde, sabit bir antikoagülasyon durumu olduğu bildirilmiştir (18).

Ablin J ve arkadaşları, kronik atriyal fibrilasyon ve inme sebebi ile varfarin tedavisi alan bir hastada, haftalık 17,5 mg varfarin kullanılmasına rağmen yüksek hatta ölçülemeyecek seviyede INR tespit ettiklerini, bu hastaya yapılan genotipleme sonucu hastada CYP2C9*3 alelini homozigot tespit ettiklerini bildirmişlerdir (119).

Schwarz UI ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, tam tersi olarak CYP2C9 genotipi, terapötik aralıkta olmaksızın ilk INR'yi önceden tahmin etmede önemli değil iken dört kez bakıldıktan sonra INR'nin önceden tahmininde önemlidir. Hem CYP2C9 genotipi hem de VKORC1 haplotipi tedavinin ilk iki haftasından sonra varfarin doz gereksiniminin belirlenmesinde önemlidir (120).

CYP2C9 ve VKORC1'den başka farklı genetik varyasyonların da varfarin doz gereksinimi ile ilişkisi olduğu birçok raporda bildirilmiştir. Ancak bu varyantların etkisi, minimaldir ve tüm varyantların %3'ünden azdır (121–125).

Varfarinin kanama üzerine olan bir çok çalışması dışında başka etkileri de araştırılmış. Tek dozluk varfarin uygulamasından sonra akut ve kronik lenfositik lösemili hastalarda, kanserli hücrelerde mitokondrideki hücresel solunumu uyarmak ve oksijenin kullanımını artırmak suretiyle, hücre içi oksidatif stres artışı ile doğrudan bir antitümoral etki ortaya çıkarabileceği öne sürülmüştür (126).

Varfarin kullanan hastalara standart klasik klinik pratik yerine rutin olarak farmakogenetik testlerin yapılması bütün yeni teknolojik gelişmelerde olduğu gibi tabiî ki ekonomik açıdan daha büyük masraflara neden olur. Ancak testlerin etkili bir şekilde kullanılması halinde pahalı olan varfarin yan etkilerinin tedavi ve hastane giderleri yanında daha az sıklıkta INR kontrolüyle daha iyi hayat kalitesi mümkün olabilir. Bunun teyiti için varfarin kullanan hastaların INR tarama maliyetlerinin de yapıldığı, gerçek yapılandırlmış çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak yine de varfarin tedavisi altındaki hastaların yakın takibi ve tedavilerinin bireyselleştirilmesi gerektiği kanısına varıldı.

# 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçlarına göre;

- Erzurum Bölgesin'deki varfarin kullanan hastalar CYP2C9*2 allelini % 17,5 oranında heterozigot (*1*2), % 3,8 oranında homozigot (*2*2) olarak taşırken, % 78,8 gibi yüksek orandaki hasta grubu, bu alleli taşımıyordu. CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastaların ortalama INR değerleri bu alleli taşımayan veya homozigot olarak taşıyan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Heterozigot hasta grubundaki ortalama INR değerinin, homozigot hasta grubundaki ortalama INR değerinden yüksek bulunmasının nedeni, homozigot grubundaki kişi sayısının az olması olarak düşünüldü.

-Hastalar CYP2C9*3 allelini, % 25 oranında heterozigot (*1*3), % 2,5 oranında ise homozigot (*3*3) olarak taşırken, % 72,5 oranındaki hasta grubu, bu alleli taşımıyordu. CYP2C9*3 allelini heterozigot veya homozigot olarak taşıyan veya taşımayan hastaların ortalama INR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark yoktu ($p>0,05$).

-INR değeri <4, 4–8, >8 olan hasta gruplarına ait kullanılan ortalama varfarin dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

-CYP2C9*2 allelini heterozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, bu alleli taşımayan ve homozigot olarak taşıyan hastalara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). CYP2C9*2 allelini homozigot olarak taşıyan gruptaki kanama oranının, heterozigot gruba göre beklenenin aksine düşük olması, homozigot grubundaki hasta sayısının az olmasının neden olabileceği düşünüldü.

-CYP2C9*3 allellini homozigot olarak taşıyan hastalardaki kanama oranı, bu alleli heterozigot olarak taşıyan ve taşımayan hasta gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).

Gün geçtikçe gen analizlerinin daha kolay yapılabilmesinden dolayı klinisyenlerin hasta tedavi ve takibinde yeni kuralları göz önünde bulundurması gereklidir. Bu sebeple farmakogenetik bilgiyi, yaptığı tedavileri en etkin ve en güvenilir hale sokmak için kullanması gerekir. Varfarin; dar terapötik aralık ve bireyler arasında farklı doz yanıtının olması nedeni ile doz ayarı zor bir ilaçtır. Bireysel yanıt farkının nedenleri; yaş, seks, diyet, diğer ilaçlarla etkileşim gibi kısmen kontrol edilebilen sebeplerin yanında, ilaç metabolizmasında görevli enzim ve hedef moleküllerdeki çeşitli genetik polimorfizmlerdir. Bu nedenle etkin ve güvenilir tedavi için farmakogenetik yaklaşımdan fayda görebilecek temel ilaçlardan biridir. Tromboembolik olayların önlenmesi veya tedavisi için sıklıkla kullanılan varfarinin metabolizmasından sorumlu olan sitokrom P4502C9 izoenzimindeki genetik polimorfizm oldukça sıktır. CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 genotipi varfarine olan hassasiyetin artmasına neden olur ki bu, hastalarda gerekli antikoagülasyon için ortalama varfarin doz ihtiyacının daha düşük olmasına neden olur. Varfarin'e bağlı kanamaların en sık görüldüğü, tedavinin ilk bir ayında, hastaların tedaviye artmış dengesiz cevabına neden olarak hedef INR aralığının çok üzerine çıkılması, kanama sıklığının artışına neden olur. Genetik pleomorfizmi olan hastalarda güvenilir antikoagülasyon sağlamak için daha fazla ek doz ayarlaması ve sabit varfarin dozuna ulaşmak için daha uzun süreye ihtiyaç vardır. Oral antikoagulan tedavi başlanacak hastalara, CYP2C9 genotip taraması yapılarak *2 ve *3 varyantlı yüksek riskli hastaların tespit edilmesi, hekimin ilacı daha düşük dozlarda başlamasına, dikkatli ve sıkı doz ayarlamaları yapmasına imkân sağlayacaktır. Bu sayede güvenilir ve etkin tedavi, zaman zaman ölümcül olabilen kanama komplikasyonlarının azalmasına yardımcı olacaktır. Böylece çağımızın önde gelen mortalite sebeplerinden olan tromboembolik olayların tedavi ve profilaksisinde kullanılan ve alternatif tedavilere göre oldukça ekonomik olan varfarinin, gönül rahatlığı ile kullanılması mümkün olacaktır.

## 6. KAYNAKLAR


1. Fihn SD, McDonell M, Martin D, et al. Risk factors for complications of chronic anticoagulation. Warfarin Optimized Outpatient Follow-up Study Group. A multicentre study. Ann Intern Med 1993; 118: 511-520.
2. Landefeld CS, Beyth RJ. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. Am J Med 1993; 95: 315-328.
3. Levine MN, Hirsh J, Landefeld CS, Raskob G.Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. Chest 1992; 102: 352-363.
4. Van der Meer FJ, Rosendaal FR, Vanderbroucke JP, Briet E. Bleeding complications in oral anticoagulant therapy: an analysis of risk factors. Arch Intern Med 1993; 153: 1557-1562.
5. Palareti G, Leali N, Coccheri S, et al. Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study. Lancet 1996; 348: 423-428.
6. Hirsh J, Fuster V, Ansell J, et al. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. J Am Coll Cardiol 2003; 41: 1633–1652.
7. Douketis JD, Foster GA, Crowther MA, et al. Clinical risk factors and timing of recurrent venous thromboembolism during the initial 3 months of anticoagulant therapy. Arch Intern Med 2000; 160: 3431–3436.
8. Choonara IA, Malia RG, Haynes BP, et al. The relationship between inhibition of vitamin K1 2,3-epoxide reductase and reduction of clotting factor activity with warfarin. Br J Clin Pharmacol 1988; 25: 1-7.
9. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. Nature 2004; 427: 537-541.
10. Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL, et al. 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.

11. Stubbins MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH, Wolf CR. Genetic analysis of the human cytochrome P450 CYP2C9 locus. Pharmacogenetics 1996; 6: 429-439.
12. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired S-warfarin metabolism catalyzed by R144C allelic variant of CYP2C9. Pharmacogenetics 1994; 4: 39-42.
13. Steward DJ, Haining RL, Henne KR, et al. Genetic association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9*3. Pharmacogenetics 1997; 7: 361-367.
14. Haining RL, Hunter AP, Veronese ME, Trager WF, Rettie AE. Allelic variants of human cytochrome P4502C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization, substrate stereoselectivity, and prochiral selectivity of the wild-type and I359L mutant forms. Arch Biochem Biophys 1996; 333: 447-458.
15. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the CYP2C9*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH: cytochrome P450 oxidoreductase. Pharmacogenetics 1997; 7: 203-210.
16. 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: 717-719.
17. Ogg MS, Brennan P, Meade T, Humphries SE. CYP2C9*3 allelic variant and bleeding complications. Lancet 1999; 354: 1124.
18. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. Blood 2000; 96: 1816-1819.
19. Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, et al. Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. Thromb Haemost 2000; 84: 775-778.
20. Freeman BD, Zehnbauer BA, McGrath S, Borecki I, Buchman TG. Cytochrome P450 polymorphisms are associated with reduced warfarin dose. Surgery 2000; 128: 281-285.
21. Furuya H, Fernandez-Salguero P, Gregory W,et al. Genetic polymorphism of CYP2C9 and its effect on warfarin maintenance dose requirement in patients undergoing anticoagulation therapy. Pharmacogenetics 1995; 5: 389-392.

22. Takahashi H, Kashima T, Nomizo Y, et al. Metabolism of warfarin enantiomers in Japanese patients with heart disease having different CYP2C9and CYP2C19 genotypes. Clin Pharmacol Ther 1998; 63: 519-528.
23. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. JAMA 2002; 287: 1690-1698.
24. Scordo MG, Pengo V, Spina E, Dahl ML, Gusella M,Padrini R. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance. Clin Pharmacol Ther 2002; 72: 702-710.
25. Little JW, Falace DA, Miller CS, Rhodus NL (eds). Dental Management of the Medically Compromised Patient, Missouri: Mosby Inc., 6th ed., 2002:617.
26. Cawson RA, Spector RG, Skelly AM. Basic Pharmacology and Clinical Drug Use in Dentistry. 6th Ed., Edinburgh: Churchill Livingstone Inc., 1995.
27. Solakoğlu (Aydın) Z. Hemostaz ve Kan Pıhtılaşması. Tıbbi Fizyoloji, Guyton & Hall, Çeviri, 10.Baskı, İstanbul: Nobel Kitap Kitabevleri 2003; 281-286.
28. Ramazanoglu A. XVIII. Turk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi Koagulasyon ve Monitorizasyonu 2004: 17.
29. Roberts HR, Monroe MM, Escobar MA. Current Concepts of Hemostasis. Anesthesiology 2004; 100: 772-830.
30. Tughan U. XVIII. Turk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi Travmada inflamasyon ve Koagülasyon 2004; 216-219.
31. Özalp Dural E. *Farmakoloji.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2002; 353- 365.
32. Linhardt RJ, Günay NS. Production and chemical processing of low molecular weight heparins. SeminThromb Hemost 1999; 25(3): 5-16.
33. Weitz J. Low-molecular weight heparins. N Eng J Med 1997; 337(10): 688-699.
34. Hirsh J, Raschke R. Heparin and low-molecularweight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic therapy. Chest 2004; 126:188.
35. Weitz J, Hudoba M, Massel D et al. Clot-bound thrombin is protected from inhibition by heparinantithrombin III but is suspectible to inactivation by antithrombin III-dependent inhibitors. J Clin Invest 1990; 86:385-391.

36. Hull RD, Raskob GE, Hirsh J, et al. Continuous intravenous heparin compared with intermittent subcutaneous heparin in the initial treatment of proximal vein thrombosis. N Engl J Med 1986; 315: 1109-1114.
37. Antman EM, Beasley JW, Califf RM, et al. ACC/AHA guidelins for the management of patients with unstable angina and non-ST segment elevation myokard infarction: a report of the American College of Cardiology. American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of patients with unstable angina. J Am Coll cardiol 2000; 36: 970-1062.
38. Ryan TJ, Antman EM, Brooks NH, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction: a report of the ACC/ AHA Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction) J Am Coll Cardiol 1999; 34: 890-911.
39. EPILOG Investigators. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade and low-dose heparin during percutaneous coronary revascularization. N Eng J Med 1997; 336: 1689-1696.
40. Gacar N, Komsuoğlu B, Utkan T. *Kalp– Damar Hastalıkları Farmakolojisi*.1. Baskı, Kocaeli: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2005; 223- 254.
41. Warkentin TE, Greinacher A. heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and thrombolytic Therapy. Chest 2004; 126: 311-337.
42. Fareed J, Jeske W, Hoppensteadt D, et al. Are the available low-molecular-weight heparin preparations the same? Semin Thromb Hemost 1996; 22: 1:77-91.
43. European Pharmacopeia Commision. Pharmeuropea 1991; 3: 161-165.
44. Dolovich LR, Ginsberg JS, Douketis JD, et al. A meta-analysis comparing low molecular-weight heparins with unfractionated heparin in the treatment of venous thrombooembolism: Examining some unanswered questions regarding location of treatment, product type, and dosing frequency. Arch Intern Med 2000; 160:181-188.
45. Montalescot G, Polle V, Collet JP, et al. Low molecular weight heparin after mechanical heart valve replacement. Circulation 2000; 101:1083-1086.
46. Kessler CM, Esparraguera IM, Jacobs Hm, et al. Monitoring the anticoagulant effects of a low molecular weight heparin preparation. Am J Clin Pathol 1995; 103: 642-648.

47. Fareed J, Bick R. Differentiation of low molecular weight heparins: Practical implications. Clin Appl Thrombosis/Hemostasis 2004; 10(4): 299-300.
48. Boneu B, deMoerloose P. How and when to monitor a patient treated with low molecular weight heparin. Semin thromb Hemost 2001; 27: 519-522.
49. Kwon PH, Laskin DM. Clinician's manual of Oral and Maxillofacial Surgery, 2nd.Ed.,Illinois: Quintessence Publishing Co.1997; 111-114.
50. Sarıoğlu T, Erek E, Yalçınbaş YK, Salihoğlu E. İstanbul Kalp Cerrahisi Vakfı Oral Antikoagülasyon Tedavisi Hasta Kılavuzu. İstanbul: Eczacıbaşı İlaç Paz 1995.
51. Martındale: The complete drug reference. Thirty fifth edition, edited by Sean C Sweetman. Cardiovascular Drugs; Warfarin Sodium 2007; 1281-1288.
52. Majerus PW, Broze GJ, Miletrich JP, Tollefsen DM. Anticoagulant, Thrombolytic and Antiplatelet Drugs. New York: Goodwin and Gillman 1995; 1341-1359.
53. Hirsh J, Dalen JE, Anderson D, et al. Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. Chest 1998; 114: 445-469.
54. Takahashi H, Echizen H, Pharmacogenetics of warfarin elimination and its clinical implications. Clin. Pharmacokinet 2001; 40: 587-603.
55. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA, Cytochrome P4502C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in vitro and human data. Pharmacogenetics 2002; 12: 251-263.
56. Mahmut Töbü. Antikoagülan tedavi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erişkin Hematoloji Bilim Dalı Türk Hematoloji Derneği Temel Hemostaz Tromboz Kursu (2006).
57. Atrial Fibrillation Investigators. Risk factors for stroke and efficacy of antithrombotic therapy in atrial fibrillation. Analysis of pooled data from five randomized controlled trials. Arch Intern Med 1994; 154: 1449-57.
58. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Bleeding during antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation. Arch Intern Med 1996; 156: 409-416.
59. Jones M, McEwan P, Morgan CL, Peters JR, Goodfellow J, Currie CJ. Evaluation of the pattern of treatment, level of anticoagulation control, and outcome of treatment with warfarin in patients with non-valvar atrial fibrillation: a record linkage study in a large British population. Heart 2005; 91: 472-477.

60. Deitcher S, Rodgers G. Thrombosis and antithrombotic therapy. Wintrobe's Clinical Hematology. Lippincott Williams-Wilkins 2004; 1713-1758.
61. Hoffman Hematology, Basic Priciples and Practice. 4th Edition, Elsevier Churchill Livingstone 2005; 2077.
62. Howitt AJ, Williams AJ, Skinner C. Warfarin induced vasculitis: a dose-related phenomenon in susceptible individuals? Postgrad Med J 1982; 58: 233-234.
63. Tamir A,Wolf R, Brenner S.Leukocytoclastic vasculitis: another coumarin-induced hemorhagic reaction. Acta Derm Venereol 1994; 74: 138-139.
64. Tanay A, Yust I, Brenner S, Koffler M, Abramow AL. Dermal vaskulitis due to coumadinhypersensitivity. Dermatologica 1982; 165: 178-185.
65. Talmadge DB, Spyropoulos AC (2003) antifosfolipid sendromu olan bir hastada warfarin tedavisi ile ilişkili Mor ayak sendromu. Farmakoterapi 23 (5): 674-677.
66. Mordechai M, Simcha B, Amir E, Irena K, Yoseph C. Warfarin metabolism and anticoagulant effect: A Prospective, observational sudy of the Impact of CYP2C9 genetic polymorphism in the presence of drug-disease and drug-drug interactions. Clinical Therapeutics 2007; 29-33.
67. Levine M, Raskob GE, Landefeld S, Kearon C. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. Chest 1998; 114: 511-523.
68. Comp. PC. Coumarin-induced skin necrosis: incidence, mechanism, management and avoidence. Drug Safety 1993; 8: 128-135.
69. Carabello PJ, et al. Long term use of oral anticoagulants and the risk of fracture. Arch Intern Med 1999; 159:1750-56.
70. Chan WS, et al. Anticoagulation of pregnant woman with mechanical heart valves: a systemic review of the literature. Arch ıntern Med 2000; 160: 191-96.
71. Ginsberg JS et al. Use of antithrombotic agents during pregnancy. Chest 2001; 119 (suppl): 122-131.
72. Adler E, et al. Cholestatic hepatic injury related to warfarin exposure. Arch Intern Med 1986; 146: 1837-1839.
73. Weitz JI, Bates SM: New anticoagulants. J Thromb Haemost 2005; 3: 1843-1853.
74. Hirsh J, O'Donnell M, Weitz JI: New anticoagulants. Blood 2005; 105: 453-463.

75. Abraham E, Reinhart K, Opal S et al. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. Jama 2003; 290: 238-247.
76. Stassens P, Bergum PW, Gansemans Y et al. Anticoagulant repertoire of the hookworm Ancylostoma caninum. Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93: 2149-2154.
77. Eisenberg PR, Siegel JE, Abendschein DR, Miletich JP. Importance of factor Xa in determining the procoagulant activity of whole-blood clots. J Clin Invest 1993; 91: 1877-1883.
78. Brufatto N, Nesheim ME. The use of prothrombin(S525C) labeled with fluorescein todirectly study the inhibition of prothrombinase by antithrombin during prothrombin activation. J Biol Chem 2001; 276: 1763-1771.
79. Bates SM, Weitz JI. The status of new anticoagulants. Br J Haematol 2006; 134: 3-19.
80. Heit JA, Colwell CW, Francis CW et al. Comparison of the oral direct thrombin inhibitor ximelagatran with enoxaparin as prophylaxis against venous thromboembolism after total knee replacement: aphase 2 dose-finding study. Arch Intern Med 2001; 161: 2215-2221.
81. Francis CW, Berkowitz SD, Comp PC et al. Comparison of ximelagatran with warfarin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement. N Engl J Med 2003; 349: 1703-1712.
82. Eriksson H, Wahlander K, Gustafsson D et al. A randomized, controlled, dose-guiding study of the oral direct thrombin inhibitor ximelagatran compared with standard therapy for the treatment of acute deep vein thrombosis: THRIVE I. J Thromb Haemost 2003; 1: 41-47.
83. Gustafsson D. Oral direct thrombin inhibitors in clinical development. J Intern Med 2003; 254: 322-334.
84. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. Trends Pharmacol Sci 2004; 25: 193-200.
85. Cengiz Beyan. Vitamin KEpoksit Redüktaz Gen Mutasyonları, XXXIV. Ulusal Hematoloji Kongre Kitapçığı, Ekim 2008; 121-127.

86. Brian F Gage, Charles Eby, Paul E. Milligian, Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin. Thromb Haemost 2004; 91: 87-94.
87. Goldstein JA, de Morais SM. Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C9 subfamily. Pharmacogenetics 1994; 4: 285-299.
88. Maurizio Margaglione, Donatella Colaizzo, Giovanna D' Andrea. Genetic modulation of oral anticoagulation with warfari. Thromb Haemost 2000; 84: 775-778.
89. Flockhart DA. Drug interactions: cytochrome P450 drug interaction table. IndianaUniversitySchoolofMedicine.2007.www.medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/clinicalTable.asp [cited 2009 May 5]
90. 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: 717-719.
91. Loebstein R, Yonath H, Peleg D, et al. Interindividual variability in sensitivity to warfarin. Clinical Pharmacology Ther 2001; 70: 159-164.
92. Takanashi K, Tainaka H, KobayashiK, et al. CYP2C9 Ile359 and Leu 359 variants. Pharmacogenetics 2000; 10: 95-104.
93. Wilke RA, Berg RL, Vidaillet HJ, Caldwell MD, Burmester JK, Hillman MA. Impact of age, CYP2C9 genotype and concomitant medication on the rate of rise for prothrombin time during the first 30 days of warfarin therapy. Clin Med Res 2005; 3: 207-213.
94. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. Blood 2000; 96: 1816-1819.
95. Caldwell MD, Berg RL, Zhang KQ, Glurich I, Schmelzer JR, Yale SH, et al. Evaluation of genetic factors for warfarin dose prediction. Clin Med Res 2007; 5: 8-16.
96. Marketos M. The top 200 generic drugs in 2003. Drug Topics 2004; 148: 176.
97. Fuster V, Wayne AR, O'Rourke R. The Heart 2004; 3: 1411.

98. Ngui JS, Chen Q, Shou M, Wang RW, Stearns RA, Baillie TA, Tang W. In Vitro Stimulation of Warfarin Metabolism by Quinidine: Increases in the Formation of 4*- and 10-Hydroxywarfarin. Drug Metab Dispos 2001; 29(6): 877-886.
99. Hirsh J, Dalen JE, Deykın D,, Poller L, Bussey H. Oral anticoagulants:mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. Chest 1995; 108 (4 suppl): 231-246.
100. Hull JH, Morray WJ, Brown HS, Williams BO, Chi SL, Kock GG. Potential anticoagulant drug interactions in ambulatory patients. Clin Pharmacol Ther 1978; 24: 644-649.
101. Kamali F., Wynne H. Pharmacogenetics of Warfarin. Annu Rev Med 2010; 61: 63-75.
102. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T,et al. P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. Pharmacogenetics 1996; 6: 1–42.
103. Ged C, Umbenhauer DR, Bellew TM,et al.Characterization of cDNAs, mRNAs and proteins related to human liver microsomal cytochrome P450 (S)-mephenytoin 4′–hydroxylase. Biochemistry 1988; 27: 6929–6940.
104. John O. Miners, Donald J. Birkett. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. British Journal of Clinical Pharmacology 1998; 45: 525-538.
105. Veenstra DL, Blough DK, Higashi MK, et al. CYP2C9 haplotype structure in EuropeanAmerican warfarin patients and association with clinical outcomes. Clin Pharmacol Ther 2005; 77: 353-364.
106. Atrial Fibrillation Investigators. Risk factors for stroke and efficacy of antithrombotic therapy in atrial fibrillation. Analysis of pooled data from five randomized controlled trials. Arch Intern Med 1994; 154: 1449-1457.
107. Wadelius,M., Pirmohamed,M. Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges. Pharmacogenetics J 2006; 7(2): 99-111.
108. Levine MN, Raskob G, Landefeld S, Kearon C. antikoagülan tedavinin hemorajik komplikasyonlar. Göğüs 2001; Özel Sayı 119:1: 108-121.

109.Beyth RJ, Quinn L, Landefeld CS. Bir Çok bileşenli müdahale warfarin alan yaşlı hastalarda majör kanama komplikasyonları önlemek için: randomize, kontrollü çalışma. Med Ann Intern 2000; 133: 687-695.

110.McMahan DA, Smith DM, Carey MA, Zhou XH. Hastalar için önemli kanama riski warfarin tedavisi. Med J Gen Stajyer 1998; 13: 311-316.

111.Sconce E.A., Khan T.I.,Wynne H.A., Avery P., Markhouse L.et al.The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polimorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposol for a new dosing regimen. Blood 2005; 106: 2329-2333.

112.Sanderdon S, Emery J,Higgins J.CYP2C9 gene variants, drug dose and bleeding risk in warfarintreated patients: aHuGEnet systematic review and meta-analysis. Genet. Med 2005; 7: 97-104.

113.Joffe HV, Xu R, Johnson FB, et al. Warfarin dosing and cytochrome P450 2C9 polymorphisms. Thromb. Haemost 2004; 91: 1123-1128.

114.Yuan HY, Chen JJ, Lee MT, et al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with intervidual and interethnic differences in warfarin sensitivity. Hum. Mol. Genet 2005; 14: 1745-1751.

115.Ngow H A, Wan Khairina W M N, Teh L K, Lee W L, Harun R, Ismail R, Salleh M Z. CYP2C9 polymorphism: prevalence in healthy and warfarin-treated Malay and Chinese in Malaysia. Singapore Med J 2009; 50: 490-493.

116.Loebstein R, Dvoskin I, Halkin H, Vecsler M, Lubetsky A,Rechavi G, Amariglio N et al. Acoding VKORC1Asp36Tyr polymorphism predisposes to warfarin resistance. Blood 2007 109: 2477-2480.

117.Aynacioglu A S, Brockmöller J, Bauer S, Sachse C, Güzelbey P,Öngen Z, Nacak M, Ivar Roots I. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. Br J Clin Pharmacol 1999; 48: 409-415.

118.Mark J, Rieder Ph D, Alexander P. Reiner, M.D., M.P.H. et al. Effect of VKORC1 Haplotypes on Transcriptional Regulation and Warfarin Dose. N Engl J Med 2005; 352: 2285-2293.

119. Jacob Ablin, Shaltiel Cabili, Ayala Lagziel, Hava Peretz. Warfarin Therapy in a Patient Homozygous fort pense he CYP2C9*3 Allele. IMAJ 2002; 4: 139-141.
120. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, Kim RB, Roden DM, Stein CM. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. N Engl J Med 2008; 358: 999-1008.
121. Herman, D. Peternel, P. Stegnar, M. Breskvar, K. & Dolzan, V. The influence of sequence variations in factor VII, gamma-glutamyl carboxylase and vitamin K epoxide reductase complex genes on warfarin dose requirement. Thromb. Haemost 2006; 95: 782–787.
122. Sconce, E.A.Daly, A.K, Khan, T.I.Wynne, H.A, Kamali, F. APOE genotype makes a small contribution to warfarin dose requirements. Pharmacogenetics & Genomics 2006; 16: 609-611.
123. Vecsler, M. et al. Combined genetic profiles of components and regulators of the vitamin K-dependent gamma-carboxylation system affect individual sensitivity to warfarin. Thromb. Haemost 2006; 95: 205-211.
124. Wadelius M, Chen L, Downes K, Ghori J, Hunt S, et al. Common *VKORC1* and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. Pharmacogenomics J 2005; 5: 262–270.
125. Wadelius M, Chen L, Eriksson N, Bumpstead S, Ghori J, et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. Hum Genet 2007; 121: 23–34.
126. Berkarda B, Arda O, Tasyurekli M, Derman U. Mitochondrial-lytic action of warfarin in lymphocytes. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 1992; 30(8): 277-279.