



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KALP-DAMAR SİSTEMİ HASTALIĞI NEDENİYLE
KUMADİN KULLANAN OLGULARDA CYP2C9 VE
VKORC1 GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nazlı ÜLKER HANÇER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2019

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

**KALP-DAMAR SİSTEMİ HASTALIĞI NEDENİYLE KUMADIN
KULLANAN OLGULARDA CYP2C9 VE VKORC1 GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nazlı ÜLKER HANÇER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin KILINÇ**

**Jüri Üyesi
Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN**

**Jüri Üyesi
Prof. Dr. Aysun ÇETİN**

KAHRAMANMARAŞ-2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Nazlı ÜLKER HANÇER tarafından hazırlanan “Kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan olgularda CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizminin araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 29 / 07 / 2019 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Metin KILINÇ (DANIŞMAN)

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN (ÜYE)

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Prof. Dr. Aysun ÇETİN (ÜYE)

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, EÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet BOŞNAK

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nazlı ÜLKER HANÇER



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2015/3-33YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sürecinde sonsuz sabırla her türlü ilgi ve desteği gösteren, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Metin KILINÇ' a sonsuz teşekkürler ederim.

Eğitimim sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN ve Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ' a, diğer öğretim üyesi hocalarıma ve Prof. Dr. Aysun ÇETİN'e teşekkür ederim.

Tezimin laboratuvar çalışmaları kısmında emeği geçen tüm Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına ve Eda Ganiyusufoğlu' na teşekkür ederim.

Tez çalışmam sürecinde desteğini esirgemeyen ihtiyaç duyduğumda tüm zamanını düşünmeden bana ayıran İlknur KAYNAR KULAKCI ve Eda YILDIZ' a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sürecinde motivasyon kaynağım olan Eda AKDEMİR, Belgin BORAN ve Buket SARI'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, canım aileme ve eşim Bülent Aytaç HANÇER' e de sonsuz teşekkürler ederim.

Bu araştırma, 2015/3-33YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

07-2019

Nazlı ÜLKER HANÇER

KALP-DAMAR SİSTEMİ HASTALIĞI NEDENİYLE KUMADİN KULLANAN OLGULARDA CYP2C9 VE VKORC1 GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Nazlı ÜLKER HANÇER

ÖZET

Kalp-damar sistemi hastalıklarından korunmada ve bu hastalıkların tedavisinde kumadin yaygın olarak kullanılan bir antikoagülandır. Kanama komplikasyonlarının önlenmesinde kumadin dozunun ayarlanması önem taşımaktadır. Kalp-damar sistemi hastalıklarında kullanılan kumadin için uygun doz aralığının belirlenmesinde INR (international normalized ratio) ölçümlerinden yararlanılmaktadır. INR değerinin terapötik doz aralığının dışında olmasının çeşitli komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir.

Kumadin dozu ayarlanmasında çeşitli bireysel faktörlerin etkili olduğu bilinmekle beraber yapılan çeşitli araştırmalarla da CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin kumadin dozu ayarlanmasında etkili olduğu ortaya konmuştur.

Çalışmada kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan olgularda CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda çalışmanın araştırma grubunu Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan 19 birey (13 kadın, 6 erkek) ve kumadin kullanmayan 19 birey (13 kadın, 6 erkek) oluşturmaktadır. Araştırmada 38 bireyden alınan örnekler ile PCR yöntemi esas alınarak CYP2C9*2, CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmleri belirlenmiştir. Elde edilen verilerin analizi SPSS 22.0 programı ile analiz edilerek analiz sonuçları $p < 0,05$ anlamlılık seviyesinde değerlendirilmiştir.

Çalışma bulguları incelendiğinde deney grubu ve kontrol grubunda yer alan bireylerin tamamının CYP2C9*2 varyantını wild tip olarak taşıdıkları, CYP2C9*3 varyantını deney grubu wild tip (% 63,2), heterozigot (% 31,6), homozigot (% 5,2) olarak taşıırken kontrol grubunun wild tip (% 94,7) ve heterozigot (% 5,3) olarak taşıdıkları görülmüştür. VKORC1 varyantını deney grubu wild tip (% 31,6), heterozigot (% 42,1), homozigot (% 26,3) olarak taşıırken kontrol grubu wild tip (% 31,6) ve heterozigot (% 68,4) olarak taşımaktadır. Çalışmada deney grubu ve kontrol grubu CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmleri açısından anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Deney grubu ve kontrol grubu INR değeri ve PT zamanı arasında anlamlı farklılık olduğu sonucuna ulaşılırken deney grubu CYP2C9*3 ve

VKORC1 gen polimorfizmleri ile INR düzeyi, PT zamanı ve kumadin dozu arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Kumadin kullanan bireylerde INR düzeyi ve PT zamanı ile kumadin dozu arasındaki ilişkinin ise anlamlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların kalp-damar sistemi rahatsızlığı ile kumadin kullanan bireylerde kumadin dozu ayarlanmasında fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmanın gerçekleştirildiği konu üzerine gerçekleştirilecek çalışmalarda kumadin kullanan birey sayısının daha fazla tutularak çalışma gerçekleştirilmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: CYP2C9, Gen polimorfizmi, Kalp-damar sistemi hastalığı, Kumadin, VKORC1

Sayfa Adedi: 57

Danışman: Prof. Dr. Metin KILINÇ

INVESTIGATION OF CYP2C9 AND VKORC1 GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS USING COUMADIN DUE TO CARDIOVASCULAR SYSTEM DISEASE

Master Thesis

Nazlı ÜLKER HANÇER

ABSTRACT

Coumadin is a widely used anticoagulant for the prevention and treatment of cardiovascular system diseases. It is important to determine the dose of coumadin to prevent bleeding complications. INR (international normalized ratio) measurements are used to determine the appropriate dose range in cardiovascular system diseases. It is known that because the INR is outside the therapeutic dose range, thromboembolic events and bleeding complications occur.

Although various individual factors are known to be effective in coumadin dose adjustment, various studies have put forward that CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms are also effective in coumadin dose adjustment.

The aim of this study is to investigate CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms in coumadin patients due to the cardiovascular system diseases. For this purpose, the study group consist of 19 individuals (13 females, 6 males) using coumadin for cardiovascular system disease and 19 individuals (13 females, 6 males) non using coumadin who applied to Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Medicine. In this study, CYP2C9*2, CYP2C9*3 and VKORC1 gene polymorphisms were determined by using PCR method and samples taken from 38 individuals. The data were analyzed with SPSS 22.0 program and the results were evaluated at $p < 0,05$ significance level.

When the study findings were examined, it was observed that all individuals in the experimental and control groups carried the CYP2C9*2 variant as wild type, and while CYP2C9*3 variant of the experimental group carried as wild type (% 63,2), heterozygous (% 31,6), homozygous (% 5,2), the control group carried the wild type (% 94,7) and heterozygous (% 5,3). While VKORC1 variant was carried as wild type (% 31,6), heterozygous (% 42,1), homozygous (% 26,3), control group was wild type (% 31,6) and heterozygous (% 68,4). In the study, it was found out that there was a significant difference in terms of CYP2C9*3 and VKORC1 gene polymorphisms in experimental and control groups. It was concluded that there was a significant difference between INR value and PT time in experimental group and control group, but no significant relationship was found between

CYP2C9*3 and VKORC1 gene polymorphisms and INR level PT time in experimental group. It was stated that there was a significant relationship between INR level and PT time and level dose in coumadin users. It is thought that the results obtained from the study may be beneficial in the adjustment of coumadin dose in patients using coumadin with cardiovascular system disorders. In the studies to be carried out on this subject, there is a need to carry out studies by increasing the number of individuals using coumadin.

Keywords: CYP2C9, Gene polymorphism, Cardiovascular system disease, Coumadin, VKORC1

Number of Pages: 57

Advisor: Prof. Dr. Metin KILINÇ



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Önceki Çalışmalar	2
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Pıhtılaşma (Koagülasyon).....	6
2.2. Kalp Damar Sistemi Hastalıkları Epidemiyolojisi	9
2.3. Kalp Damar Sistemi Hastalıkları	10
2.4. Kalp Damar Sistemi Hastalıklarında Risk Faktörleri	10
2.5. Kalp Damar Sistemi Hastalıklarında Tedavi	11
2.6. Antikoagülan İlaçlar	12
2.6.1. Heparin	13
2.6.2. Oral antikoagülanlar	13
2.6.2.1. Varfarin	13
2.7. Sitokrom p450 Enzim Ailesi	16
2.8. VKORC1	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Örneklem	21
3.2. CYP2C9 ve VKORC1 Gen Polimorfizmlerinin Analizi	21
3.2.1. DNA izolasyonu	21
3.2.2. Kandan DNA izolasyonu prosedürü.....	22
3.2.3. DNA izolasyonu için kullanılan malzemeler	22
3.2.4. Kullanılan cihazlar	22
3.2.5. Kullanılan diğer malzemeler	23
3.2.6. Kandan DNA izolasyonu	23
3.2.7. DNA miktarının ve kalitesinin belirlenmesi	24
3.3. Real Time PCR.....	24
3.4. İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	27
4.1. Deney Grubu ve Kontrol Grubunun CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Dağılımları....	27
4.2. Deney Grubu ve Kontrol Grubunun INR Değerleri ve CYP2C9, VKORC1 Genotip Dağılımları ve Gruplar Arasındaki İlişki.....	30

4.3. Deney Grubu ve Kontrol Grubunun PT Zamanı ve CYP2C9, VKORC1 Genotip Dağılımları ve Gruplar Arasındaki İlişki.....	32
4.4. Deney Grubu INR Düzeyi ve PT Zamanı Arasındaki İlişki.....	33
4.5. Deney Grubu INR Düzeyi, INR Düzeyinin Terapötik Aralıkta Tutulması ve PT Zamanı ile Kullanılan Kumadin Dozu Arasındaki İlişki.....	34
4.6. Deney Grubunda Yer Alan Bireylerin CYP2C9*3 ve VKORC1 Polimorfizmi ile Kullanılan Kumadin Dozu Arasındaki İlişki.....	35
5. TARTIŞMA	37
5.1. CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Frekanslarının Literatürde Yer Alan Çalışmalardaki Genotip Frekansları ile Karşılaştırılması.....	37
5.2. Kumadin Kullanan Bireylerde CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Frekanslarının Literatürde Yer Alan Çalışmalardaki CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Frekansları ile Karşılaştırılması.....	39
5.3. Kumadin Kullanan Bireylerde CYP2C9 ve VKORC1 Genotipi ile Kullanılan Kumadin Doz ve INR Düzeyi İlişkisinin Literatürde Yer Alan Çalışmalar ile Karşılaştırılması.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
7. KAYNAKLAR.....	45
8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	52
9. TABLOLAR DİZİNİ	53
10. EKLER DİZİNİ.....	54
11. EKLER.....	55
12. ÖZGEÇMİŞ	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

BAP	: Bilimsel araştırma projeleri
BE	: Buffer elution
BW	: Buffer wash
°C	: Santigrat
CYP	: Sitokrom P450
CYP2C9	: Sitokrom P450 2C9
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DVT	: Derin ven trombozu
E	: Erkek
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
GGCX	: Gama-glutamil karboksilaz
Glu	: Glutamil
INR	: International normalized ratio
K	: Kadın
KDH	: Kalp damar hastalıkları
KKH	: Koroner kalp hastalıkları
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar
mg	: Miligram
MONICA	: Monitoring Trends and determinants in Cardiovascular Diseases
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
Ort	: Ortalama
PCR	: Polimer zincir reaksiyonu
PT	: Protrombin zamanı
RFLP	: Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi
sn	: Saniye
SPSS	: Statistical Package for Social Science
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

VKORC : Vitamin K epoksit redüktaz kompleks
VKORC 1 : Vitamin K epoksit redüktaz kompleks subunit 1
 γ : Gama



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp damar sistemi hastalıklarının birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de başlıca ölüm nedenleri arasında yer aldığı bilinmektedir (1). Genetik yapı, obezite, tansiyon, beslenme alışkanlıkları vb. etkenlerin üzerinde etkili olduğu düşünülen kalp damar sistemi hastalıklarından korunmada ve bu hastalıkların tedavisinde oral antikoagülan olarak varfarin (kumadin) sıklıkla kullanılmaktadır. Varfarin (kumadin), vitamin K antagonisti olup geniş alanda trombozu önlemek için kullanılan bir oral bir antikoagülandır (2).

Varfarin (kumadin) dozu ayarlanması çeşitli faktörlere bağlı olmakla beraber kişiler arasında farklılık gösterdiği bilinmektedir. Varfarin rasemik bir karışım olup S-varfarin metabolizması sitokrom P450 (CYP2C9) enzimi ile gerçekleşirken, R-varfarin metabolizması CYP1A2 ve CYP3A4 ile gerçekleşir (3). Varfarin türevi ilaçlar oral alım sonucunda karaciğerde CYP2C9 ve vitamin K epoksit redüktaz kompleks enzimleri (VKORC) ile inaktif metabolitlerine dönüştürülür (4). Bu nedenle varfarin (kumadin) dozunun ayarlanmasında CYP2C9 ve vitamin K epoksit redüktaz kompleks enzimlerinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Kişilerin varfarin doz gereksinimleri birbirinden farklı olup günlük 40 mg'a kadar varfarin reçete edilmektedir, ilacın hastalardaki doz ayarlaması ve takibi international normalized ratio (INR) ile yapılmaktadır (5). Hastalarda oluşabilecek kanama komplikasyonlarını önleyebilmek adına international normalized ratio (INR) değerinin belirli aralıkta tutulmasının önemli olduğu düşünülmektedir.

İnsan Genom Projesi'nde ortaya çıkan bulgular insan genetik varyasyonunun hastalık yatkınlığı ve kişilerin yapılan tedavilere değişik yanıtlar verdiğini ortaya koymakta ve bu da insanlar arasında var olan genetik farklılıkların kullanılan ilaçlara verilen tepkiyi etkileyebileceği, bu durumda ilaçlara yapılacak müdahalenin hastalık yatkınlığının incelenmesinden daha etkili olacağı sonucu ortaya çıkmış, bu durum ise araştırmacıları bu alanda geniş çaplı akademik çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir (6). Bu nedenle kalp-damar sistemi rahatsızlığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerde doz ayarlanmasında genetik yatkınlığında incelenmesinin etkili olabileceği düşünülmektedir.

Varfarinin (kumadinin) kalp-damar sisteminde pıhtı oluşumunu ya da var olan pıhtının daha da artmasını önlemek amacıyla kullanılan bir antikoagülan olduğu düşünüldüğünde varfarin (kumadin) dozunun ayarlanması oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Varfarin (kumadin) dozunun ayarlanması international normalized ratio

(INR) yapılmakta ve doz ayarlanmasında kişilerin genetik yapılarının da önemli olduğu bilinmektedir. CYP2C9 ve VKORC1 in varfarin metabolizması üzerinde etkili olduğu düşünüldüğünde kişilerin günlük olarak aldıkları kumadin dozu ve bu genlerin polimorfizminin ilişkisinin incelenmesinin kumadin kullanan kişilerin sağlığının korunması üzerinde etkili olacağı düşünülmektedir. Çalışmamızda bu nedenler göz önünde bulundurularak kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan olgularda CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Önceki Çalışmalar

Sullivan-Klose ve ark. (1996), “The Role of the CYP2C9-Leu359 Allelic Variant in the Tolbutamide Polymorphism” başlıklı çalışmalarında tolbutamid polimorfizminde CYP2C9-Leu 359 allelik varyantının rolünü araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmada CYP2C9'un Leu359 allelik varyantının görülme sıklığının, tolbutamid'in zayıf metabolizerlerinin oluşumunu açıklayabileceği sonucuna ulaşmışlardır (7).

Aithal ve ark. (1999), “Association of Polymorphisms in the Cytochrome P450 CYP2C9 with Warfarin Dose Requirement and Risk of Bleeding Complications” başlıklı çalışmalarında CYP2C9 polimorfizminin in vivo varfarin dozu gereksinimine etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar çalışma CYP2C9 varyant alelleri ve düşük varfarin dozu gereksinimi arasında güçlü bir ilişki olduğu sonucuna ulaşmışlardır (8).

Higashi ve ark. (2002), “Association Between CYP2C9 Genetic Variants and Anticoagulation-Related Outcomes During Warfarin Therapy” başlıklı çalışmalarında varfarin tedavisi sırasında CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 varyantlarının antikoagülasyon ve kanama olayları ile ilişkili olup olmadığını belirlemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar çalışmada CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 polimorfizmlerinin, hastalarda aşırı pıhtılaşma ve kanama olayları riski ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır (9).

Bodin ve ark. (2005), “Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and Vitamin K Epoxide Reductase (VKORC1) Genotypes as Determinants of Acenocoumarol Sensitivity” başlıklı çalışmalarında tek bir oral dozdan sonra, asenokumol' e yanıt değişkenliğine, sitokrom P450C9 veya vitamin K epoksit redüktaz' a ilişkin genetik faktörlerin katkısını araştırmayı amaçlamışlardır. Araştırmacılar çalışmada bu polimorfizmlerin, asenocoumarol ile

antikoagülasyonun başlatılmasından önce incelenmesinin oluşabilecek riskleri öngörmeyi sağlayacağı ve daha güvenli ve daha kişiselleştirilmiş bir antikoagülan tedavi sağlayacağı sonucuna ulaşmışlardır (10).

Carlquist ve ark. (2006), “Genotypes of the Cytochrome P450 Isoform, CYP2C9, and the Vitamin K Epoxide Reductase Complex Subunit 1 Conjointly Determine Stable Warfarin Dose: A Prospective Study” başlıklı çalışmalarında varfarin metabolizmasında *CYP2C9* ve K vitamini epoksit redüktaz kompleksi alt-birimi 1-VKORC1 etkili olan genlerin doz ayarlanmasındaki önemini belirlemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar çalışmada *CYP2C9* ve *VKORC1* gen polimorfizminin incelenmesinin varfarin başlangıç dozu ayarlanması üzerinde etkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır (11).

Takahashi ve ark. (2006), “Different Contributions of Polymorphisms in *VKORC1* and *CYP2C9* to Intra- and Inter-Population Differences in Maintenance Dose of Warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans” başlıklı çalışmalarında antikoagülasyon aktivitesi için ihtiyaç duyulan varfarin dozunun çeşitli popülasyonlar arasındaki farklılıklarının farmodinamik ve farmokinetik açıdan *VKORC1* ve *CYP2C9* genetik değişkenliği de dahil ederek değerlendirmeyi amaçlayan araştırmacılar çalışmada *VKORC1* hem de *CYP2C9* polimorfizimleri, üç popülasyonda varfarin dozlarında toplumlar arası farklılığa katkıda bulunacağı sonucuna ulaşmışlardır (12).

Yıldırım (2006), “Kalp Kapağı Replasmanı Sonrasında Antikoagülan Tedavide *CYP2C9* Gen Polimorfizminin Rolü” başlıklı çalışmada kalp kapak replasmanından sonra coumadin kullanan bireylerde *CYP2C9* gen polimorfizmlerinin rolünü araştırmayı amaçlayan araştırmacı çalışmada *CYP2C9** 2 ve *CYP2C9** 3 heterozigot hastaların wild tip genotipi olan hastalara göre daha az coumadin dozuna ihtiyaç duyduklarını saptamış, antikoagülan tedaviden önce *CYP2C9* genotiplemesinin yapılmasının coumadin tedavisi için doz ayarlanmasında yararlı olacağı sonucuna ulaşmıştır (13).

Atlı (2008), “Varfarin Kullanan Olgularda *CYP2C9* ve *VKORC1* Genlerinde Tek Nükleotid Polimorfizminin (SNP) İncelenmesi” başlıklı çalışmada varfarin kullanan olgularda *CYP2C9**2, *CYP2C9**3 ve *VKORC1* gen polimorfizmlerinin varfarin kullanan olgularda bireylerarası varfarin doz değişkenliği üzerine etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Araştırmacı çalışmada varfarin kullanan olgularda ortalama günlük varfarin dozu ile

CYP2C9 ve VKORC1 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna ulaşmıştır (14).

Teichert ve ark. (2009), “Genotypes Associated with Reduced Activity of *VKORC1* and *CYP2C9* and Their Modification of Acenocoumarol Anticoagulation During the Initial Treatment Period” başlıklı çalışmalarında tedavinin ilk 6 haftası boyunca asenokumarol ile antikoagülasyon üzerinde K vitamini epoksit redüktaz kompleksi alt ünite 1 (*VKORC1*) ve sitokrom P450 2C9 (*CYP2C9*) aktivitesinin azalmasıyla ilişkili genotiplerin etkisini incelemeyi amaçlayan araştırmacılar çalışmada *VKORC1* ve *CYP2C9* genlerinin varyant alelleri olan hastalarda, asenokumarol ile yapılan başlangıç standart doz rejiminin, antikoagülasyon riskini arttırdığı sonucuna varmışlardır (15).

Aomori ve ark. (2011), “Influence of *CYP2C9* and Vitamin K Oxide Reductase Complex (*VKORC1*) Polymorphisms on Time to Determine the Warfarin Maintenance Dose” başlıklı çalışmalarında değerlendirme P450 (*CYP*) 2C9 ve vitamin K oksit redüktaz kompleks alt birimi 1 (*VKORC1*) polimorfizmlerinin bireyler için varfarin dozunu belirlemedeki zaman üzerinde etkisini araştırmayı ve antikoagülan tedavide bu etkilerin doz belirlenmesi üzerindeki avantajlarını belirlemeyi amaçlayan araştırmacılar çalışmada varfarin idame dozunu belirlemek için geçen sürenin genotiplere bağlı olduğu ve genotip bazlı dozlamının antikoagülan tedaviyi geliştirebileceği sonucuna ulaşmışlardır (16).

Yıldırım (2011), “Erzurum Bölgesinde *CYP2C9* Gen Polimorfizmi ve Varfarin Doz Gereksinimi” başlıklı çalışmada Erzurum Bölgesi’nde yaşayan ve varfarin kullanan hastalarda görülen kanama komplikasyonu ile *CYP2C9* polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlamış ve araştırmacı çalışmada oral antikoagülan tedavisi başlanacak hastalarda *CYP2C9* genotip taraması yapılarak *2 ve *3 varyantlı yüksek riskli hastaların tespit edilmesi bu sayede hastalara daha düşük dozlarda varfarin başlanması onlar için sıkı doz ayarlanmasına imkân sağlayacağı sonucuna ulaşmıştır (5).

Taşkın (2012), “*CYP2C9* ve *VKORC1* Genetik Polimorfizminin Türk Toplumundaki Warfarin Kullanan Çocuklarda Doz Gereksinimlerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı çalışmada *CYP2C9* ve *VKORC1* genetik polimorfizminin Türk toplumundaki pediatrik yaş grubunda sıklıklarını saptamayı, warfarin doz ayarlamasında genetik polimorfizmin göz önünde bulundurulmasını ve bu grupta oluşabilecek komplikasyonların en aza indirilmesini sağlamayı amaçlayan araştırmacı hem terapötik doza daha çabuk ulaşılması hem de kanama

komplikasyonlarının azaltılması açısından, tedavi başlangıcında CYP2C9 ve VKORC1 genetik polimorfizmleri göz önünde bulundurularak warfarin doz ayarlaması yapılmasının yararlı olacağı sonucuna ulaşmıştır (17).

Akgül (2016), “Study on the Polymorphism of The Cytochrome P450C9 Enzyme in Turkish Population (Sitokrom P450 2C9 (CYP2C9) Enziminin Türk Populasyonundaki Genetik Polimorfizminin Araştırılması)” başlıklı çalışmada klinikte kullanılan bazı ilaçların metabolizmasında görev alan CYP2C9 enziminin Türk popülasyonundaki tek nükleotid polimorfizm frekansını saptamayı ve araştırmada çalışılan genotipleme işlemi rutin olarak kullanılmak üzere F. Toksikoloji laboratuvarında kurmayı amaçlamıştır. Araştırmacı çalışmada CYP2C9 enzimi ile metabolize edilen ilaçlar için reçete edilen dozun genel itibariyle ideal olduğu ancak çalışmaya katılan gönüllü sayısının azlığı ve çok etnik unsurluluk durumlarının çalışma sonuçlarına etkisinin göz önünde tutulması gerektiği sonucuna ulaşmıştır (18).

Öztabağ (2017), “CYP2C9 ve VKORC1 Polimorfizmlerinin Derin Ven Trombozlu (DVT) Hastalarda Warfarin (Kumadin) Dozlamındaki Etkisi” başlıklı çalışmada derin ven trombozu (DVT) tanısı almış hastalarda CYP2C9 ve VKORC1 genlerinin etkisini Türk toplumunda ortaya koymayı amaçlayan araştırmacı çalışmada beyaz ırkta ve Türk popülasyonunda yapılan çalışmaların kendi çalışma sonuçları ile uyum gösterdiği, Japon ve Çin popülasyonlarında yapılan çalışmalar ile ise büyük farklılıklar gösterdiği sonucuna ulaşmıştır. Araştırmacı Türk popülasyonu üzerinde yapılan çalışmanın kişiye özgü tıp adına warfarin dozu ayarlanması üzerinde etkili olacağı fikrine varmıştır (19).

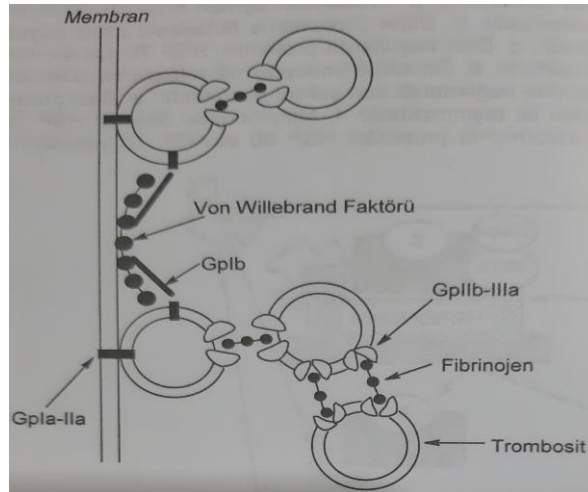
Warfarin (kumadin) kullanan olgularda CYP2C9 ve VKORC1 polimorfizmlerinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirilmiş olan çalışmalar incelendiğinde CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin warfarin metabolizması üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Bu bilgiler ışığında bu çalışmada; kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan kişilerde CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizminin incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pıhtılaşma (Koagülasyon)

Dokulara oksijen ve besin taşıyarak dokularda yer alan metabolik atıkları uzaklaştırmada görevli vücut sıvısı kandır (20). Kanın bazı nedenlerden ötürü kardiyovasküler sistemin dışına çıkması nedeniyle kanama gerçekleşir kanamanın durdurulmasında vücutta var olan pıhtılaşma mekanizması devreye girerek kanın durdurulmasını sağlar bu sayede insan sağlığının herhangi bir tehdit altına girmesi önlenmiş olur (21).

Pıhtılaşma çeşitli nedenlerle damarlarda meydana gelen kanamanın durdurulabilmesi için damar dışı ve içerisinde oluşur, pıhtılaşma mekanizmasında damarlarda oluşan çeşitli hasarlar nedeniyle dolaşan kanın dışarıya çıkmasını önleyen ve kanamayı durduran mekanizmadır (19). Pıhtılaşma sürecinde gerçekleşen olayların tamamının yer aldığı hemostaz mekanizmasının primer hemostaz fazında Şekil 2. 1.' de görüldüğü şekilde trombosit tıkaçı meydana gelmekte ve bu esnada trombositler, glikoprotein Ia-IIa aracılığıyla kollagen fibrillere bağlanmaktadır (22).



Şekil 2. 1. Trombositlerin adezyon ve agregasyonu (22).

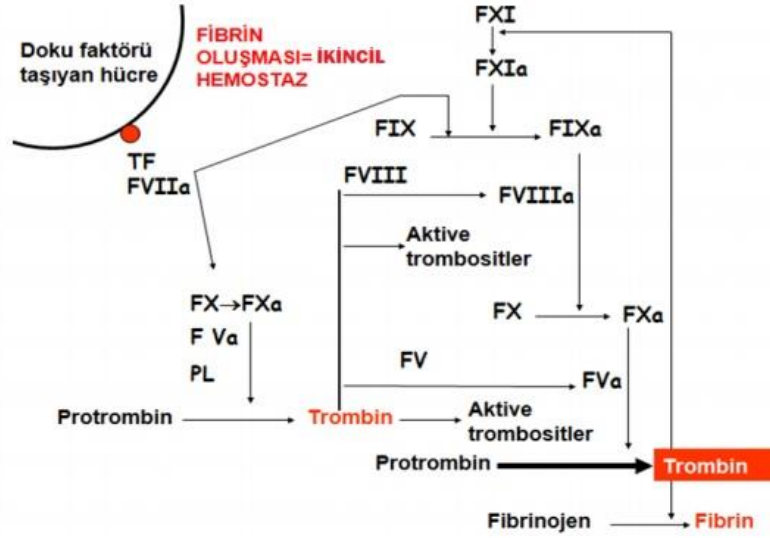
Pıhtılaşma çeşitli faktörlerin aktive olması ile gerçekleşmektedir. Pıhtılaşmada yer alan faktörlere Tablo 2. 1.' de yer verilmiştir.

Tablo 2. 1. Kandaki pıhtılaşma faktörleri ve sinonimleri (23).

PIHTILAŞMA FAKTÖRLERİ	EŞANLAMLILARI
Fibrinojen	Faktör I
Protrombin	Faktör II
Doku Tromboplastini	Faktör III, Doku Faktörü
Kalsiyum	Faktör IV
Faktör V	Proakselerin, Labil faktör Ac globülin; Ac-G
Faktör VII	Serum protrombin konversiyon akseleratörü, Prokonvertin;SPCA; stabil faktör
Faktör VIII	Antihemofilik faktör;AHF; antihemofilik globülin AHG; Antihemofilik Faktör A
Faktör IX	Plazma tromboplastin komponenti; PTC; Christmas faktör; antihemofilik faktör B
Faktör X	Stuart faktörü; Stuart Prower faktör
Faktör XI	Plazma tromboplastin antesedan; PTA; antihemofilik faktör C
Faktör XII	Hageman faktörü
Faktör XIII	Fibrin stabilize eden faktör
Trombositler	

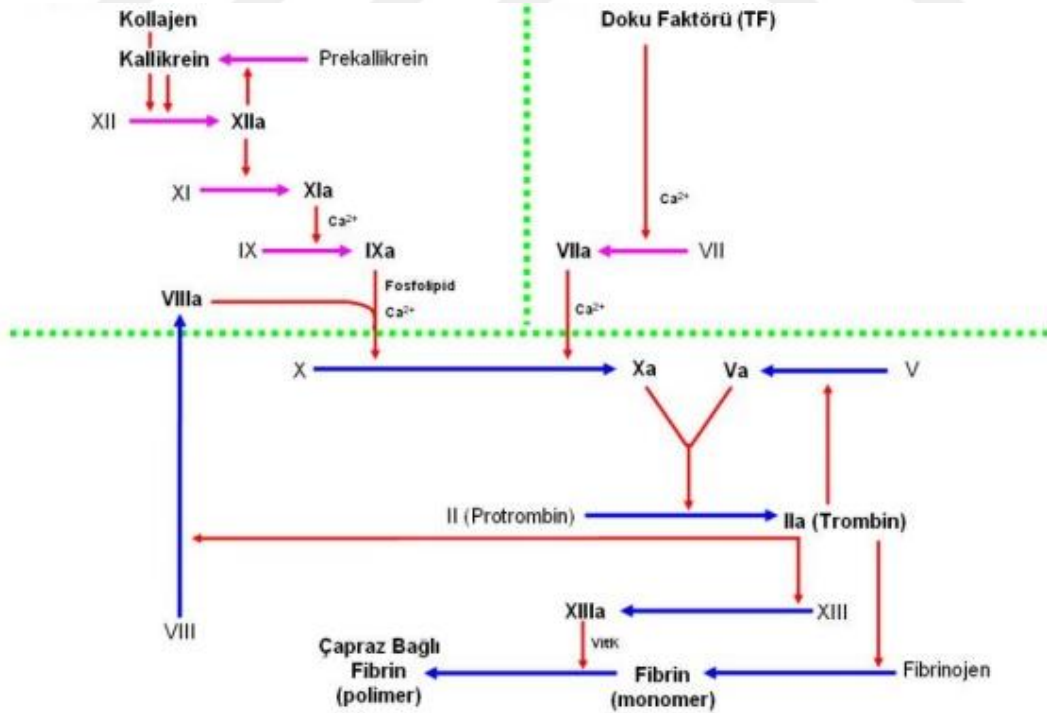
Sekonder hemostaz fazında pıhtılaşma faktörleri ardışık bir şekilde aktive olmasıyla fibrin pıhtısı oluşumu sağlanmış olur ve pıhtılaşma kaskadı burada yer alan tüm faktörlerin birbirini aktive etmesi ile ilerler (24).

Sekonder hemostaz fazında gerçekleşen reaksiyonların yer aldığı sekonder hemostaz mekanizmasına Şekil 2. 2.' de yer verilmiştir. Primer hemostaz süreci damar hasarı oluşan bölgede trombosit tıkaçı oluşması ile gerçekleşirken sekonder hemostaz fazı koagülasyon sisteminin aktifleştirilmesi sonucu fibrin pıhtısı oluşumu gerçekleşir (25).



Şekil 2. 2. Sekonder hemostaz mekanizması (26).

Hemostaz mekanizmasının tüm fazlarında pıhtılaşma faktörlerin aktifleşmesini gösteren pıhtılaşma kaskadına Şekil 2. 3.' te yer verilmiştir.



Şekil 2. 3. Pıhtılaşma kaskadı (27).

Şekil 2. 3.' te yer verildiği üzere pıhtılaşmanın başlamasında ekstrinsek yolda kanın zedelenme sonucu damar içi veya damar dışına çıkması nedeniyle mekanizma devreye girer. Ekstresek yolda ilk olarak doku tromboplastini serbestlenir ilerleyen aşamada X. Faktör aktive olur doku glikoprotein kompleksi faktör VII ile enzim görevi üstelenerek X. Faktörün oluşmasını sağlar, faktör X serbestlenen fosfolipid ile bir araya gelerek protrombini aktive edecek faktör V i oluşturur bu aşamada faktör V'in oluşumu ile pıhtılaşma başlamış olur (23). Pıhtılaşmada intrinsek yol Hageman faktör (faktör XII) aktivasyonu ile, ekstrinsek yol ise doku faktörleri ile başlar, sonuçta her iki yol da faktör X'u aktive ederek ortak yoldan stabil pıhtı oluşumunu sağlar. (28).

Pıhtılaşma mekanizmasında meydana gelebilecek bozukluklar zaman zaman bazı hastalıklara yol açabilmektedir.

Pıhtılaşma bozukluklarının neden olduğu bu hastalıkların başında hemofili, von willebrand hastalığı, aşırı kan pıhtılaşması, pulmonel embolizm, derin ven trombozu ve kalp damar sistemi hastalıkları, dissemine intravasküler koagülasyon (DIC), konjenital protein C veya S eksikliği, faktör V leiden trombofilisi gibi hastalıklar gelmektedir (29).

2.2. Kalp Damar Sistemi Hastalıkları Epidemiyolojisi

Genetik faktörler, değişen çevre şartları, sigara kullanımındaki artış ve beslenme alışkanlıkları nedeniyle tüm dünyada Kalp Damar Hastalıkları (KDH) sayısı ve buna bağlı ölüm oranları artmış durumda olduğu bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre her yıl 17.7 milyon insan kardiyovasküler hastalıklara yakalanmakta ve yaklaşık %31'i bu nedenlerle yaşamını yitirmektedir ve kardiyovasküler hastalıkların (KVH) devam eden küreselleşme süreci boyunca artmaya devam edeceği düşünülmektedir (30). Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) 2016 yılı ölüm nedenleri verileri incelendiğinde dolaşım sistemi hastalıklarının %39,8 oranıyla ilk sırada yer aldığı görülmektedir. Yine aynı istatistikte dolaşım sistemi kaynaklı ölümlerin ise %40,5' ini iskemik kalp hastalıklarının, %23,6'sını serebro-vasküler hastalıklar ve %22,3' ünü diğer kalp hastalıklarının oluşturduğu görülmektedir (31). Bu nedenle kalp-damar sistemi hastalıklarının ve tedavisinin incelenmesinin, hastalıkların ve olası ölümlerin önlenmesinde önem taşıdığı görülmektedir.

Kalp damar hastalıkları diğer bir deyişle kardiyovasküler hastalıklar, kişilerin dolaşım sisteminde işlev yapan damarların veya kalbin işleyiş düzenini olumsuz etkileyen hastalıkların genel tanımı olmakla beraber hastalık türleri karşılaştırıldığında kalp damar

sistemi hastalıkları kronik hastalıkları en fazla kapsayan sağlık problemi olarak düşünülebilir (32).

Dünya Sağlık Örgütü Çalışma Grubu üyeleri tarafından 1900'lü yıllarda gerçekleştirilen MONICA (Monitoring Trends And determinants in Cardiovascular Diseases) adlı projede farklı popülasyonlarda kardiyovasküler hastalık eğilimleri, gerek ölümcül gerekse ölümcül olmayan kalp krizleri için 25-64 yaş arasındaki kadın ve erkeklerde kardiyovasküler risk faktörleri üzerine araştırmalar yapmışlardır (33). Yurt dışında ve yurt içinde yapılan çalışmalar incelendiğinde kalp damar sistemi hastalıklarının ve buna bağlı ölümlerin artacağı ve bu nedenle çözüm önerilerinin geliştirilmesinin önemli olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

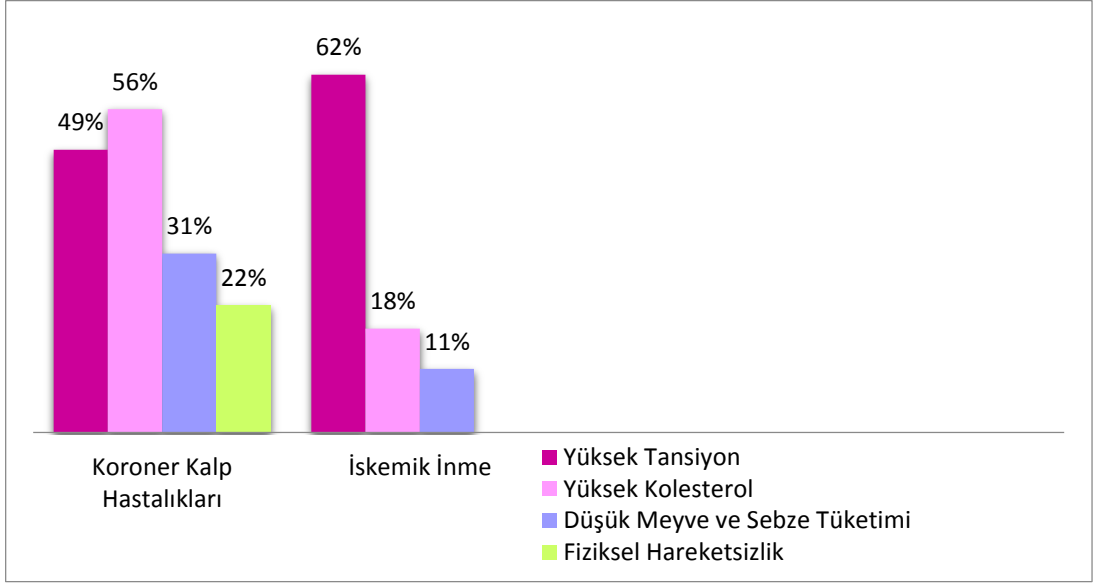
2.3. Kalp Damar Sistemi Hastalıkları

Kalp ve damar hastalıkları; koroner kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, hipertansiyon, periferik arter hastalığı, romatizmal kalp hastalıkları, konjenital kalp hastalıkları, kalp yetmezliği ve kardiyomyopati kapsamakta ve bu hastalıklara ise tütün kullanımı, fiziksel hareketsizlik, obezitenin neden olabileceği düşünülmektedir (34).

Koroner kalp hastalığı (KKH), oksijence zengin olan kanın kalbe aktarılmasını sağlayan arterlerin içerisi plak denen mumsu bir maddenin kaplanması nedeniyle oksijence zengin olan kanın kalbe aktarılmasının engellenmesiyle oluşan hastalıklardır (35). Kalp krizine neden olan koroner arter hastalığı, ateroskleroza bağlı olarak kalbi besleyen arterlerin tıkanması ile oluşurken serebrovasküler hastalıklar beyin damarlarında oluşan tıkanıklık nedeni ile ya da kanama olayı gerçekleşmesi ile oluşur (36).

2.4. Kalp Damar Sistemi Hastalıklarında Risk Faktörleri

Kalp damar sistemi hastalıklarında yüksek tansiyon, kan lipid değerlerindeki anormallikler, tütün kullanımı, fiziksel hareketsizlik, obezite, kişilerin herhangi bir destek almadan yaptığı sağlıksız diyetler ve şeker hastalığı öyküsünün olması risk faktörü olarak kabul edilirken sosyo-ekonomik durumun kötü olması, zihinsel sağlık problemleri, alkol ve bazı ilaç kullanımlarının da çeşitli kalp damar sistemi hastalıklarını tetiklediği bilinmektedir (37). Koroner kalp hastalıkları ve iskemik inme üzerinde etkili olan faktörlere ilişkin verilerin bazılarına Şekil 2. 4.' te yer verilmiştir.



Şekil 2. 4. Kalp damar hastalıklarına etki eden faktörler (37).

Şekil 2. 4' te kalp damar hastalıkları üzerinde etkili olan faktörlerin koroner kalp hastalıkları ve inme olarak iki ayrı başlık olarak değerlendirilmiştir. 2004 yılında yayımlanan bu atlasta yer alan veriler Şekil 2. 4.' te incelendiğinde koroner kalp hastalıkları üzerinde etkili faktörlerin başında %56 oranla yüksek kolesterolün geldiği ve %49 oranla yüksek tansiyon hastalığının bu sıralamayı izlediği görülmektedir. Fiziksel hareketsizlik ve düşük meyve sebze tüketiminde koroner kalp hastalıkları üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Yine aynı araştırmada yer alan bilgiler incelendiğinde inme üzerinde %62 oranla yüksek tansiyon varlığının ve %18 oranla da yüksek kolesterolün etkili olduğu görülmektedir.

2.5. Kalp Damar Sistemi Hastalıklarında Tedavi

Kalp damar sistemi hastalıkları temel olarak incelendiğinde hastalık türüne göre tedavinin belirlenmesi gerektiği düşünülmektedir. Kalp damar sistemi hastalıklarından kalp kapağı problemlerinde ilaç tedavisi ve kalp kapağı ameliyatı, aritmilerde ilaç tedavisi, pacemaker ve kardiyak defibrilasyon, koroner kalp hastalıklarında ilaç tedavisi, koroner anjiyoplasti, koroner arter bypass greft ameliyatı, serebrovasküler hastalıklarda ise ilaç tedavisi ve karotis endarterektomi tedavi yöntemi olarak uygulanabilmektedir (38).

Kalp damar sistemi hastalıkları için uygulanan tedavi yöntemleri incelendiğinde her hastalık için ilaç tedavisinin uygulanmasının kaçınılmaz olduğu düşünülmektedir. Tablo 2. 2.'

de çeşitli kalp damar sistemi hastalıklarına ve bu hastalıklar için kullanılan ilaçlara yer verilmiştir.

Tablo 2. 2. Kalp damar sistemi hastalıkları tedavisinde kullanılan ilaçlar (39).

Konjestif Kalp Yetmezliğinde Kullanılan İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Kalp Glikozitleri• Amrinon• Diüretikler	<ul style="list-style-type: none">• Alfa Adrenerjik Reseptör Blokörleri• Vazodilatörler
Aritmi Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Kinidin• Prokainamid• Dizopiramid	<ul style="list-style-type: none">• Lidokain• Fenitoin• Propranolol
Bradikardilerin Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Atropin	
Angina Pektoris Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Nitritler• Beta Blokerlar• Kalsiyum• Kanal Blokerleri	
Hipolipidemik İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Niasin• Neomisin	
Antikoagülan İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Heparin• Oral Antikoagülanlar Varfarin (Coumadin) Dikumrol	

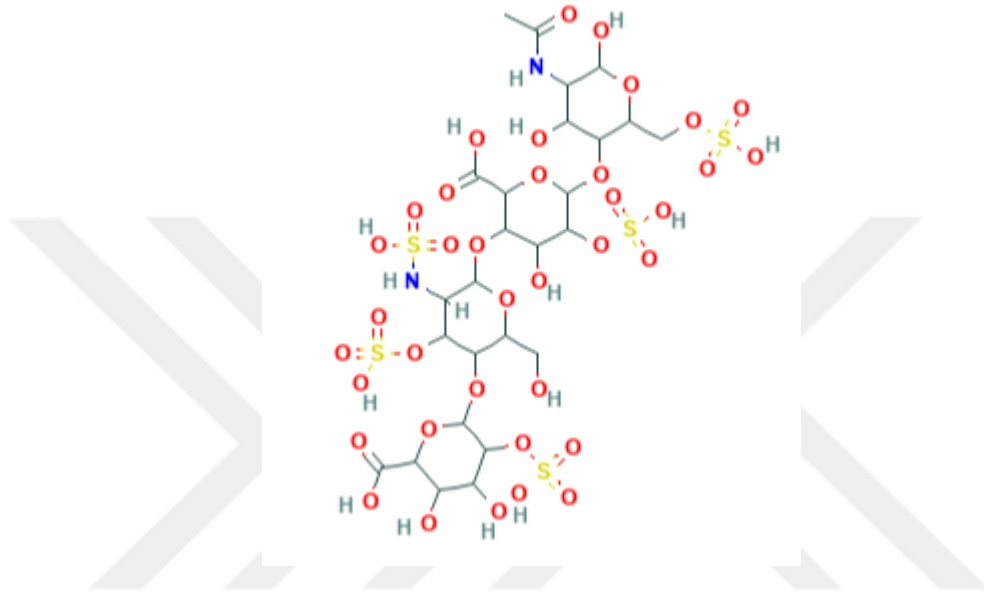
Tablo 2. 2.' de yer verilen kalp damar sistemi hastalıkları nedeniyle kullanılan ilaçlar incelendiğinde oral antikoagülan ilaçlarında bu hastalıkların tedavisinde önemli olduğu görülmektedir.

2.6. Antikoagülan İlaçlar

Antikoagülanlar koroner kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, derin ven trombolizmi ve pulmoner embolizm gibi bir çok klinik uygulama alanına sahiptir (40).

2.6.1. Heparin

Heparin yapısında sülfirik asit grupları olan asidik özelliğe sahip negatif yüklü olan bir polisakkarittir (41). Özellikle akciğer, karaciğer, deri ve intestinal mukozada mast hücreleri tarafından sentezlenmekte olan heparin glukozamin, iduronik asit ve glukoronattan oluşan bir polisakkarittir (22).



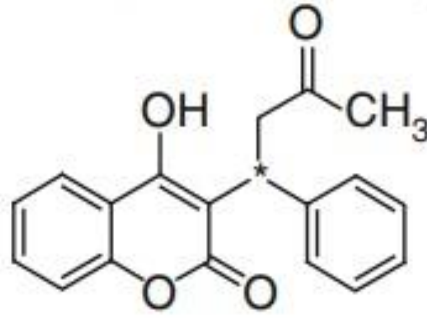
Şekil 2. 5. Heparinin yapısı (42).

Yapısı Şekil 2. 5.' te verilen asidik yapıda bir glikozaminoglikan olan heparin antitrombotik bir ajandır ve kullanım esnasında doz ayarlanması oldukça önemlidir, ilaç plazma inhibitörü olan antitrombin III'ün etkisini katalizleyerek etki eder (43). Doğal bir antikoagülan olan heparin protrombinin trombine ve fibrinojenin fibrine dönüşmesini engelleyerek etki göstermektedir (22).

2.6.2. Oral antikoagülanlar

2.6.2.1. Varfarin

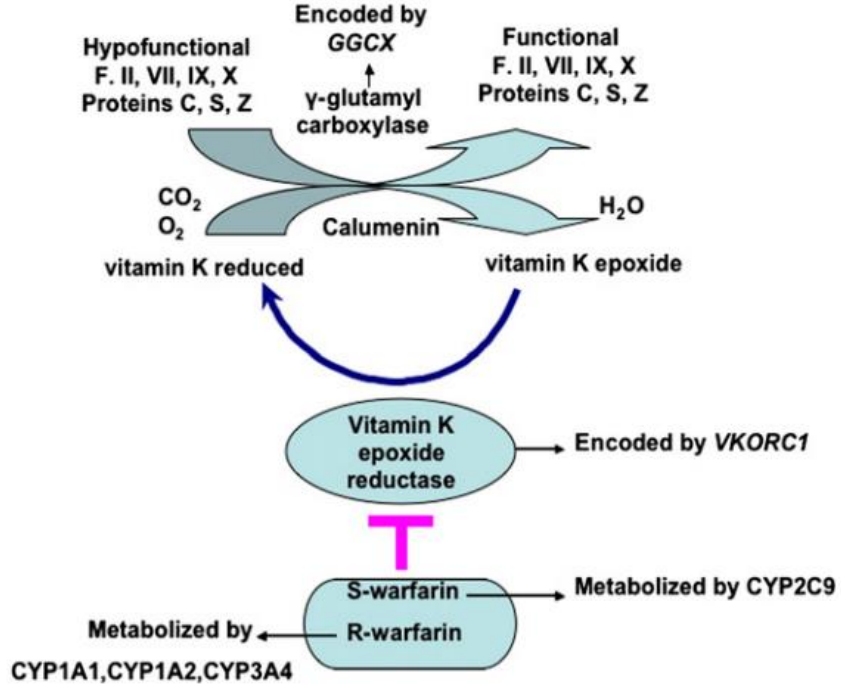
Varfarin venöz trombozun önlenmesinde sıklıkla kullanılan bir oral antikoagülandır (44). Şekil 2. 6.' da verilen varfarin genel yapısı incelendiğinde organik yapısında hidroksil grubu ve oksijen gruplarının yer aldığı görülmektedir.



Şekil 2. 6. Varfarin yapısı (45).

Varfarin tedavide oral olarak alındıktan sonra albüminle birleşerek karaciğerde CYP2C9 ve vitamin K epoksit redüktaz (VKORC1) enzimleri ile inaktif metabolitlerine dönüştürülür (4). K vitamini antagonisti olan varfarin vitamin K bağımlı pıhtılaşma faktörlerini (II, VII, IX, X) ve koagülasyon inhibitörü olan protein C ve S yi bloke eder (46). Varfarin karaciğerde bulunan protrombin ve pıhtılaşma faktörü VII, IX ve X düzeyine etki eder ve enzimatik süreçte reaktif noktalara tutunmak için K vitamini ile yarışarak onun etkisini ortadan kaldırmaya çalışır (23).

Varfarinin (C9) asimetric karbonu, diferansiyel olarak metabolize olan iki enantiyomerik form, R-varfarin ve S-varfarin ortaya çıkarmaktadır (8). Rasemik bir karışım olan varfarin için S varfarinin CYP2C9, R varfarinin ise CYP1A1, CYP1A2, CYP3A4 tarafından metabolize edildiği vitamin K epoksit redüktaz mekanizmasının VKORC1 ile kodlandığı Şekil 2. 7.' de görülmektedir.



Şekil 2. 7. Varfarin metabolizması (47).

Oral antikoagülanlar vitamin K bağımlı pıhtılaşma faktörleri üzerinde etkilidir. Şekil 2. 7.' de varfarin metabolizması incelendiğinde; K vitamini, K-bağımlı pıhtılaşma faktörleri, II (protrombin), VII, IX ve X'in translasyon sonrası- γ -glutamil karboksilasyonunu katalizleyen enzim olan γ -glutamilkarboksilaz (GGCX) için gerekli bir kofaktör olduğu görülmektedir. (47).

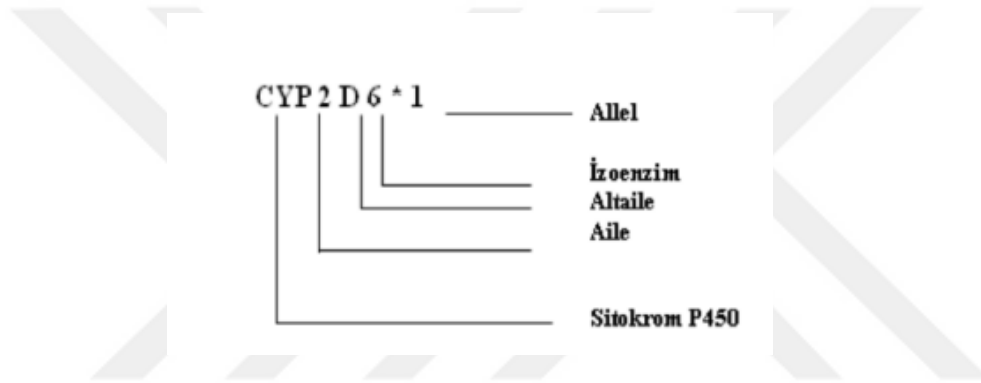
Şekil 2. 7. incelendiğinde varfarin metabolizmasında γ -glutamilkarboksilaz (GGCX) kofaktör olarak metabolizmada rol aldığı, pıhtılaşma faktörü II, VII, IX, X, protein C, S ve Z nin rol aldığı metabolizmada oral antikoagülanlar K vitamini indirgenme reaksiyonunu etkilediği anlaşılmaktadır.

Varfarin doz takibi kalp damar sistemi hastalığı nedeniyle tedavi gören hastalar için oldukça önemli olduğu bilinmektedir ve bireyler için dozun yetersiz kalması ya da bireylerde kanama risklerinin oluşması gibi durumlar ortaya çıkabileceği için takip edilmesi oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Varfarin doz takibi yönteminde international normalized ratio (INR) yönteminin kullanıldığı bilinmektedir.

2.7. Sitokrom p450 Enzim Ailesi

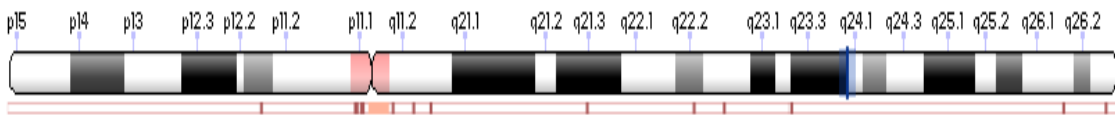
Sitokrom p450 (CYP450) enzimleri hücre zarına bağlıdır ve karbonmonoksit maruziyeti sonucu 450 nm dalga boyundaki ışığı emen pigmente sahiptirler bu nedenle sitokrom p450 olarak isimlendirilmişlerdir, bu enzimler; kolesterol, steroidler, prostasiklinler ve tromboksan A2'nin üretimi için yabancı kimyasalların detoksifikasyonu ve ilaçların metabolizması için gereklidirler (48).

Sitokrom p450 enziminin adlandırılmasında Şekil 2. 8.' de yer verildiği üzere CYP kısaltması ile sitokrom p450 enzimi, daha sonrasında ise sırasıyla aile, alt aile, izoenzim ve varyantın allel numarası verilir. Sitokrom p450 enziminin çok çeşitli izoform ve varyant allele sahip olduğu bilinmektedir.



Şekil 2. 8. Sitokrom p450 enzim adlandırma sistematığı (49).

Yapılan araştırmalarla şu ana kadar insanda belirlenebilmiş en az 12 P450 gen ailesi olduğu ve 50 kadar genin ise saptanmış olduğu bilinmekle beraber sitokrom p450 ailesinin alt gruplarının sayıca fazla olmasına rağmen bunlardan P450 1 (CYP 1), P450 2 (CYP 2), P450 3 (CYP 3) olmak üzere üç tanesinin ilaç metabolizması üzerinde etkili olduğu da bilinmektedir (50). CYP2C9 gen lokasyon bölgesine Şekil 2. 9.' da yer verilmiştir.



Şekil 2. 9. CYP2C9 gen lokasyonu (51).

Şekil 2. 9.' da görüldüğü üzere varfarin metabolizması üzerinde etkili olan sitokrom P450 enzimi 10. kromozomda, kromozom 10q24 üzerinde yer almaktadır. Sitokrom P450 2C9 (CYP2C9), 3 allele sahiptir bunlar ; (CYP2C9*1), CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 olup yapılan araştırmalar ile CYP2C9*3 allelik varyantına sahip kişilerde eliminasyon çok yavaş olması nedeniyle en az varfarin gereksiniminin bu grupta olduğu bilinmektedir (52).

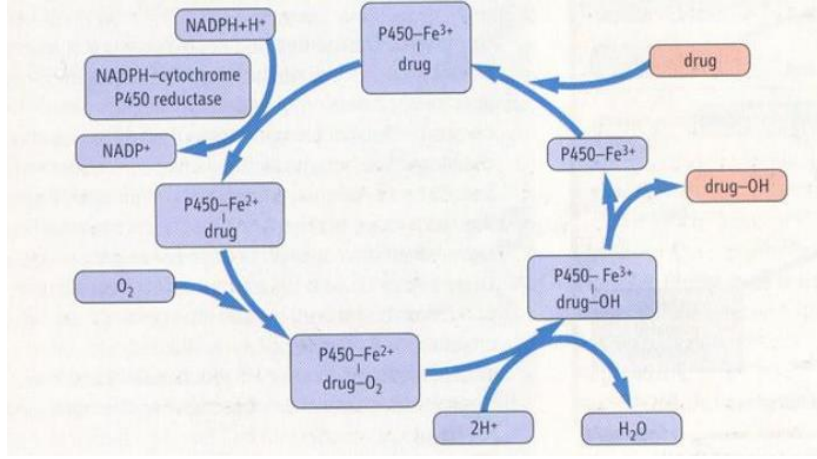
CYP2C9 allellerine ve bu allellere ait metabolizör tiplerine Tablo 2. 3.' te yer verilmiştir.

Tablo 2. 3. CYP2C9 allelleri ve metabolizör tipleri (19).

CYP2C9 Allelleri	Metabolizör Tipleri
1 / 1	Hızlı
*1 / 2	Orta
*1 / 3	Orta
*2 / 2	Yavaş
*2 / 3	Yavaş
*3 / 3	Yavaş

Tablo 2. 3. incelendiğinde CYP2C9 allellerinden *1/*1 yavaş, *1/*2 ve *1/*3 orta, *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 yavaş metabolizör olarak sınıflandırıldığı görülmektedir.

Sitokrom P4502C9 (CYP2C9), farmakolojik olarak daha güçlü S-enantiyomerin inaktif metabolitlere hidroksilasyonu yoluyla rasemik varfarinin antikoagulan etkisini sonlandırmasından büyük ölçüde sorumludur (53). Sitokrom p450 reaksiyon dizini Şekil 2. 10.' da verilmiştir.



Şekil 2. 10. Sitokrom p450 reaksiyon dizini (54).

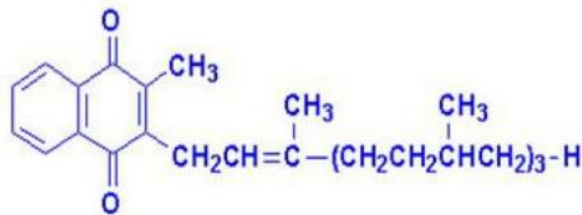
CYP450 enzimleri reaksiyon dizini Şekil 2. 10.' da verilmiştir. CYP450 enzimleri ile katalizlenen temel reaksiyon (55):



Reaksiyonda substrat (S) steroid, yağ asidi olarak görev yapan alkan, alken, aromatik halka gibi organik maddeler olabilir ve oksijenlerden sadece bir tanesi substrata bağlandığı için reaksiyona monooksijenasyon, bu yapıya katılan enzime ise sitokrom P450 monooksijenaz enzimi adı verilmektedir (55).

2.8. VKORC1

1930'larda Henric Dam tarafından keşfedilen K vitamini, glutamat kalıntılarının post-translasyonel karboksilasyonu için kofaktör olarak işlev görür (56).

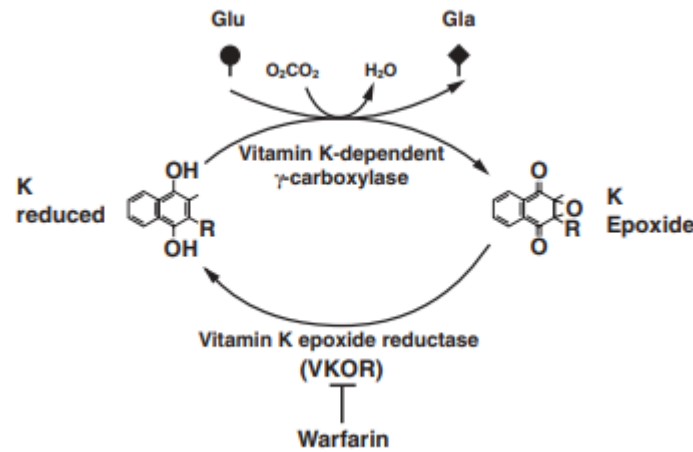


Şekil 2. 11. K vitamini yapısı (57).

Şekil 2. 11.' de yer verildiği üzere K vitamininin genel yapısının 2-metil, 1,4 naftokinon türevi olduğu görülmektedir.

K vitamini karaciğerde, pıhtılaşma için önemli olan faktör V, faktör IX ve faktör X oluşumu için gerekli olup bu vitaminin eksik olması durumunda pıhtılaşmada aksaklıklar yaşanır (23).

Varfarin türevi olan kumadin etkisini pıhtılaşma faktörü faktör II, faktör VII, faktör IX ve faktör X üzerinden göstermekte olup bu faktörlerin pıhtılaşma için aktifleşmesinde glutamik asitin karboksillenmesi gerekir bu aşamada ise K vitamini rol almaktadır (58). K vitamini döngüsüne Şekil 2. 12.' de yer verilmiştir.



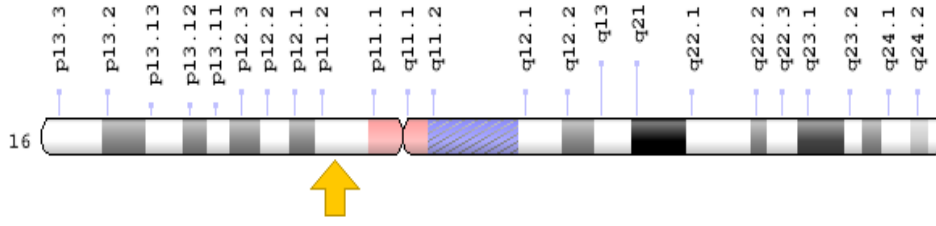
Şekil 2. 12. K vitamini döngüsü (59).

Vitamin K epoksit, K vitamini bağımlı proteinlerin γ karboksilasyonu sırasında üretilir, vitamin K hidrokinon γ glutamil kaboksilaz aracılığı ile karboksilasyon reaksiyonunu başlatır bu işlem esnasında K vitamini glutamil (Glu) kalıntılarında ayrılır bu aşamada CO_2 içeren bir karbanyon üretilir ve eş zamanlı olarak K vitamini, K vitamin epoksit oksitlenir (60). K vitaminin biyolojik aktivitesi için K vitamininin metabolik reaksiyonu sırasıyla (61);

- (i) K vitamini hidrokinonuna indirgemesi,
- (ii) hidrokinonun, protein glutamatın -karboksilasyonu ile birlikte, K vitamini 2,3-epoksit oksidasyonu,
- (iii) epoksitin azaltılmasıyla K vitamininin yenilenmesi şeklinde ilerlemektedir.

VKORC1 geni K vitamini epoksit redüktaz enzimi oluşturmak üzerinde etkilidir, karaciğerde yer alan VKORC1 enzimi kan pıhtılarını oluşturan yoldaki proteinlerin pıhtılaşmasına (aktive etmesine) yardımcı olur (62) .

VKORC1 geni kromozomal bölgesine Şekil 2. 13.' te yer verilmiştir.



Şekil 2. 13. VKORC1 kromozomal (63).

Şekil 2. 13.' te yer verildiği üzere varfarin metabolizması üzerinde etkili VKORC1 16. kromozomda, kromozom 16p11.2 üzerinde yer aldığı görülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklem

Araştırmanın örneklemini Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesine başvuran, kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan ve kullanmayan bireyler oluşturmaktadır. Araştırmanın deney grubunu kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan bireyler oluştururken kontrol grubunu kumadin kullanmayan bireyler oluşturmaktadır. Çalışmanın deney grubunu 6 erkek, 13 kadın olmak üzere 19 kişi, kontrol grubunu ise 6 erkek ve 13 kadın olmak üzere 19 kişi oluşturmaktadır. Kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan ve kullanmayan toplam 38 bireyden alınan kan örnekleri EDTA' lı tüplere alınarak -20 °C' de saklanmıştır.

Araştırma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan 2014/01-01 sayılı karar ile onay alınmış ve araştırma Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2015/3-33YLS karar no ile desteklenmiştir.

3.2. CYP2CP ve VKORC1 Gen Polimorfizmlerinin Analizi

Çalışmada Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran bireylerden alınan örnekler ile çalışılarak izole edilen kandan elde edilen DNA lar CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmi analizleri için kullanılmıştır.

3.2.1. DNA izolasyonu

Araştırma örnekleminde alınan örneklerin analizi için kandan DNA izolasyon kiti kullanılmış ve araştırma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ve Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Üniversite- Sanayi- Kamu İşbirliği Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ÜSKİM) gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Kandan DNA izolasyonu prosedürü

Çalışmada DNA izolasyonu için tam kandan veya sitrat, EDTA, heparin, CPDA ilave edilen kandan DNA izolasyonuna olanak sağlayan ticari olan 740951.50 katalog numaralı MachereyNagel Genomic DNA from blood kit kullanılmıştır. Kullanılan kit genomik DNA'nın tam kan, serum, plazma ve vücut sıvılarından hızlı bir şekilde artılmasına olanak verir. Kit A_{260}/A_{280} ile 200 μ l tam kandan 4 μ g saf genomik DNA izolasyonu sağlamaktadır. Kit ile DNA izolasyonu 70 $^{\circ}$ C' de proteinaz K varlığında çok miktarda kaotropik iyon içeren bir solüsyonda tam kanın inkübasyonu ile gerçekleştirilir.

3.2.3. DNA izolasyonu için kullanılan malzemeler

DNA izolasyonu için Macherey Nagel NucleoSpin Blood Kit (740951.50 katalog no) kullanılmıştır. DNA izolasyon kit içeriği aşağıda verilmiştir;

- Solüsyon B3 (15 ml)
- Yıkama Solüsyonu BW (30 ml)
- Yıkama Solüsyonu B5 (12 ml)
- Elüsyon Solüsyonu BE (13 ml)
- Proteinaz Solüsyonu PB (1,8 ml)
- Proteinaz K (30 mg)
- Bağlanma Kolonları
- Toplama Tüpleri (Collection Tube) 2 ml

3.2.4. Kullanılan cihazlar

- HETTICH Marka Mikrosantrifüj Cihazı
- HETTICH Marka Santrifüj Cihazı
- BİOSAN Marka Kuru Isı Bloğu
- THERMOFİSHER Marka Real Time PCR
- THERMOFİSHER Marka Nanodrop Spektrofotometre
- SCILOGEX Marka Vorteks Cihazı

3.2.5. Kullanılan diğer malzemeler

- Pipet Seti
- Buzdolabı
- PCR Tüpleri (0,2 µl)
- Ependorf Tüpleri (1,5 ml)
- Nitril Eldiven
- Filtreli Pipet Ucu

3.2.6. Kandan DNA izolasyonu

- Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran hastaların kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınmıştır.
- Çalışmanın temel aşamalarına başlamadan önce 48 ml etanol, 12 ml B5 (yıkama solüsyonu) içerisine eklenir. 30 mg proteinaz K içerisine 1,35 ml proteinaz solüsyonu ilave edilir.
- 2 ml lik ependorf tüpleri içerisine 200 µl kan örneğinden, 25 µl proteinaz K ve 200 µl B3 Buffer ilave edilerek vorteks cihazında 1 dk. işleme tabi tutulur.
- Tüpler kuru ısı bloğunda 70 °C' de inkübasyon için 10-15 dakika bekletilir.
- İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra tüpler içerisine 210 µl etanol karışımı ilave edilir ve vorteks cihazında 1 dk karıştırılır.
- Karışımın tamamı NucleoSpin bağlanma kolonuna transfer edilir.
- 11000 x g de 1 dakika santrifüjlenir.
- Bağlanma kolonu üzerinde filtre kısmında yer alan DNA yıkama işleminin gerçekleştirilmesi amacıyla 2 ml lik başka bir tüpe alınır.
- Karışıma santrifüj sonrasında 500 µl BW (yıkama çözeltisi) eklenir ve 11000 x g de 1 dakika santrifüjlenir.
- Bağlanma kolonu 2 ml lik başka bir tüpe alınır.
- Toplama tüpü içerisine 600 µl B5 eklenir 11000 x g de 1 dakika santrifüjlenir.
- Aynı toplama tüpünün altında kalan sıvılar atılır 11000 x g de 1 dakika santrifüjlenir.

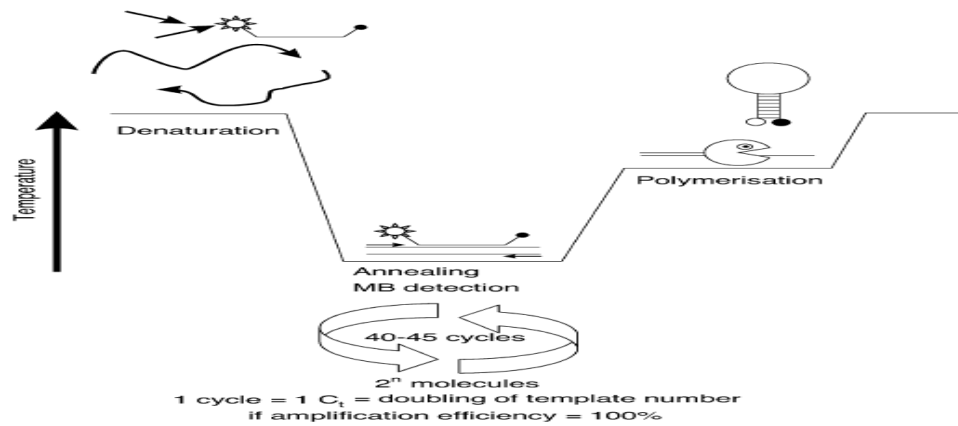
- Aynı toplama tüpü içerisine 70 °C' ye kadar ısıtılan 100 µl BE (elüsyon çözeltisi) eklenir 1 dakika inkübe edilir.
- 11000 x g de santrifüjlenen tüpten filtrelili kısım atılır geri kalan kısım çalışmaların yapılacağı genomik DNA'dır.

3.2.7. DNA miktarının ve kalitesinin belirlenmesi

DNA örneklerinin miktar ve kalitesinin belirlenmesi amacıyla ThermoFisherNanodrop cihazı ile gerekli ölçümler laboratuarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılacak olan DNA 50-100 ng yoğunluğu ve 1,8-2,0 DNA kalitesinin sağlanması amacıyla 260 nm dalga boyunda ölçümler gerçekleştirildi. Ölçüm değerleri üzerinde gerekli analizler yapıldıktan sonra ölçüm sonucu ideal değerlere ulaşılması amacıyla gerekli işlemler gerçekleştirilmiştir. Bu aşama sonucunda kan örnekleri -20 °C' de çalışmanın gerçekleştirilmesi amacıyla muhafaza edilmiştir.

3.3. Real Time PCR

PCR, DNA'nın belirli bölgesinin çoğaltılmasına olanak veren in vitro sentez yöntemidir.



Şekil 3. 1. Real-Time PCR testinin şematik gösterimi (64).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) 3 ana basamaktan oluşur. Bunlar;

- Denatürasyon
- Bağlanma
- Polimerizasyon

Tavlama sıcaklığında MB, tamamlayıcı hedeflerine bağlanır ve floresan değerleri alınır, polimerizasyon sıcaklığında MB Taq polimerazın ampikonu kopyalamasına izin vererek hedeflerinden ayrılır bu şekilde iyi tasarlanmış bir deney, ilk kez floresan tespit edildiğinde % 100'e yakın bir amplifikasyon verimliliğine sahiptir (64).



Şekil 3. 2. Laboratuarda kullanılan real time PCR cihazı

Real time PCR uygulama işlemleri için karışım hazırlanmış ve her SNP bölgesi için primer-probe'e ait karışım kullanılmıştır. Karışım bileşenleri:

- Örnek DNA'sı (4 μ l)
- qPCR Master Mix (4 μ l)
- TaqmanProb Mix (2 μ l)
- Nükleaz İçermeyen Su (10 μ l)
- Toplam (20 μ l)

Çalışmada her kuyucuk için 4 μ l örnek DNA'sı, PromegaGoTaqPCR Master Mix markalı 4 μ l PCR Master Mix, Thermo, Taqman Assay marka 2 μ l TaqmanProbe Mix ve 10

μl nükleaz içermeyen su ilave edilerek 20 μl ' lik karışım elde edilir. Real Time PCR yürütme aşamaları Tablo 3. 1.' de verilmiştir.

Tablo 3. 1. PCR yürütme aşamaları

Aşama	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Polimeraz Aktivasyonu	95 ⁰ C	10 dk.	1
Denatürasyon	95 ⁰ C	10 sn.	40
Bağlanma ve Uzama	60 ⁰ C	1 dk.	40

Tablo 3. 1.' de yer alan PCR yürütme aşamaları incelendiğinde polimeraz aktivasyonu ve denatürasyon aşamalarının 95 ⁰C' de gerçekleştiği bağlanma ve uzama aşamasının ise 60 ⁰C' de gerçekleştiği görülmektedir. PCR yürütme süresi polimerizasyon aşamasında 10 dakika, denatürasyon aşamasında 10 döngü 10 saniye, bağlanma ve uzama aşamasında 40 döngü 1 dakika süre ile gerçekleşmektedir.

3.4. İstatistiksel Analiz

Deney ve kontrol grubu oluşturularak gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen verilerin analizinde yüzde ve frekans hesaplamalarından faydalanılırken istatistiksel analiz kısmı SPSS (Statistical Package for Social Science) 22.0 paket programı ile gerçekleştirilmiş ve analiz sonucu elde edilen veriler $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı kabul edilerek yorumlanmıştır.

4. BULGULAR

Bu başlık altında kalp damar sistemi rahatsızlığı nedeniyle kumadin kullanan ve kullanmayan olgularda CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin ve bu polimorfizmlerin INR düzeyleri, PT zamanı ve kullanılan ilaç dozları ile ilişkisine ilişkin bulgulara yer verilmiştir.

Araştırma grubundan alınan kan örneklerinin tamamı **CYP2C9*2 (rs1799853)**, **CYP2C9*3 (rs1057910)**, ve **VKORC1 (rs9934438)** gen polimorfizmini belirlemek amacıyla çalışılmıştır. Çalışmaya 38 kişi dâhil edilmiştir. Araştırmaya dâhil edilen kişilerden deney ve kontrol grubu oluşturulurken kalp damar sistemi rahatsızlığı ile başvuran olgulardan kumadin kullanan ve kullanmayan bireylerden alınan örnekler üzerinden çalışma gerçekleştirilmiştir.

Deney ve kontrol grubundan alınan örnekler aynı işlemlerden geçirilerek bulgularda sunulmuştur.

Çalışmanın deney grubunu kalp damar sistemi rahatsızlığı nedeniyle kumadin kullanan 6 (%31,6) erkek, 13 (%68,4) kadın oluştururken, kontrol grubunu ise kumadin kullanmayan 6 (%31,6) erkek, 13 (%68,4) kadın oluşturmaktadır.

4.1. Deney Grubu ve Kontrol Grubunun CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Dağılımları

Araştırmaya katılan bireylerden oluşan deney ve kontrol grubuna ilişkin CYP2C9*2 genotipine ilişkin sayı ve yüzde dağılıma Tablo 4. 1.' de yer verilmiştir.

Tablo 4. 1. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin CYP2C9*2 polimorfizmleri

Gruplar		Mutasyon Yok			Heterozigot			Homozigot		
		Sayı	%	Toplam	Sayı	%	Toplam	Sayı	%	Toplam
Deney Grubu	Kadın	13	68,4	%100	-	-	-	-	-	-
	Erkek	6	31,6		-	-	-	-	-	-
Kontrol Grubu	Kadın	13	68,4	%100	-	-	-	-	-	-
	Erkek	6	31,6		-	-	-	-	-	-

Tablo 4. 1. incelendiğinde deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerin ve kontrol grubunda yer alan ve kumadin kullanmayan bireylerin CYP2C9*2 allelinde mutasyon olmadığı görülmektedir.

Deney ve kontrol grubuna ilişkin CYP2C9*3 genotipine ilişkin sayı ve yüzde dağılıma Tablo 4. 2.' de yer verilmiştir.

Tablo 4. 2. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin CYP2C9*3 polimorfizmleri

Gruplar		Wild Tip			Heterozigot			Homozigot		
		Sayı	%	Toplam	Sayı	%	Toplam	Sayı	%	Toplam
Deney Grubu	Kadın	9	69,2	%63,2	3	23,1	%31,6	1	7,7	%5,2
	Erkek	3	50		3	50		-	-	
Kontrol Grubu	Kadın	13	100	%94,7	-	-	%5,3	-	-	-
	Erkek	5	83,3		1	16,7		-	-	

Tablo 4. 2. incelendiğinde deney grubunda yer alan kadın bireylerden %69,2' sinde erkek bireylerden ise %50' sinde mutasyon görülmediği deney grubunda yer alan toplam birey sayısı göz önünde bulundurulduğunda ise toplamda bireylerin %63,2' sinde mutasyon olmadığı görülmektedir. Deney grubunda yer alan kadınlardan % 23,1' i, erkeklerin ise % 50' si toplamda ise %31,6 oranında CYP2C9*3 allelini heterozigot olarak taşıdıkları görülmektedir. Deney grubunda yer alan bireylerden %5,2' sinin ise CYP2C9*3 allelini homozigot olarak taşıdıkları görülmektedir.

Tablo 4. 2.' de yer alan kontrol grubuna ait bulgular incelendiğinde kontrol grubunda yer alan kadın bireylerden tamamında erkeklerden ise %83,3' ünde mutasyon olmadığı toplamda ise %94,7 oranında mutasyon olmadığı görülmektedir. Kontrol grubunda yer alan erkek bireylerden %16,7' sinde toplam birey sayısı olarak değerlendirildiğinde kontrol grubunda yer alan bireylerden %5,3' ünün CYP2C9*3 allelini heterozigot olarak taşıdığı görülmektedir.

Deney ve kontrol grubuna ilişkin VKORC1 genotipine ilişkin sayı ve yüzde dağılıma Tablo 4. 3.' te yer verilmiştir.

Tablo 4. 3. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin VKORC1 polimorfizmleri

Gruplar		Wild Tip			Heterozigot			Homozigot		
		Sayı	%	Toplam	Sayı	%	Toplam	Sayı	%	Toplam
Deney Grubu	Kadın	3	23,1	%31,6	6	46,2	%42,1	4	30,7	%26,3
	Erkek	3	50		2	33,3		1	16,7	
Kontrol Grubu	Kadın	4	30,7	%31,6	9	69,3	%68,4	-	-	-
	Erkek	2	33,3		4	66,7		-	-	

Tablo 4. 3. incelendiğinde deney grubunda yer alan kadın bireylerden %23,1' inde erkek bireylerden ise %50' sinde mutasyon görülmediği deney grubunda yer alan toplam birey sayısı göz önünde bulundurulduğunda ise toplamda bireylerin %31,6' sında mutasyon olmadığı görülmektedir. Deney grubunda yer alan kadınların %46,2' sinin, erkeklerin ise %33,3' ünün toplam bireylerin ise %42,1' inin VKORC1 allelini heterozigot olarak taşıdığı görülmektedir. Deney grubunda yer alan kadın bireylerin %30,7' sinde, erkek bireylerin ise %16,7' sinde toplamda ise %26,3 oranında VKORC1 allelini homozigot olarak taşıdığı görülmektedir.

Tablo 4. 3. incelendiğinde kontrol grubunda yer alan kadın bireylerden %30,7' sinde erkek bireylerden ise %33,3' ünde mutasyon görülmediği kontrol grubunda yer alan toplam birey sayısı göz önünde bulundurulduğunda ise toplamda bireylerin %31,6' sında mutasyon olmadığı görülmektedir. Kontrol grubunda yer alan kadınlardan %69,3' ünde, erkeklerin ise %66,7' sinde toplamda ise % 68,4 oranında VKORC1 allelini heterozigot olarak taşıdığı görülmektedir.

Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin CYP2C9*2 polimorfizmleri arasında bir fark olmaması nedeniyle bu gen polimorfizminin istatistiksel olarak değerlendirilmesi yapılmamıştır. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin CYP2C9*3 gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığının tespit edilmesi için gerçekleştirilen istatistiksel değerlendirmeye Tablo 4. 4.' te yer verilmiştir.

Tablo 4. 4. Deney grubu ve kontrol grubu CYP2C9*3 gen polimorfizmleri arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Wild Tip</i>	<i>Heterozigot</i>	<i>Homozigot</i>	<i>p</i>
<i>Gruplar</i>					
<i>Deney Grubu</i>	19	12	6	1	0,042
<i>Kontrol Grubu</i>	19	18	1	-	
<i>Toplam</i>	38				

Tablo 4. 4. incelendiğinde deney grubu ve kontrol grubunun CYP2C9*3 genotip dağılımları anlamlı şekilde farklılık gösterdiği görülmektedir ($p < 0,05$).

Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin VKORC1 gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığının tespit edilmesi için gerçekleştirilen istatistiksel değerlendirmeye Tablo 4. 5.' te yer verilmiştir.

Tablo 4. 5. Deney grubu ve kontrol grubu VKORC1 gen polimorfizmleri arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Wild Tip</i>	<i>Heterozigot</i>	<i>Homozigot</i>	<i>p</i>
<i>Gruplar</i>					
<i>Deney Grubu</i>	19	6	8	5	0,048
<i>Kontrol Grubu</i>	19	6	13	0	
<i>Toplam</i>	38				

Tablo 4. 5. incelendiğinde deney grubu ve kontrol grubunun VKORC1 genotip dağılımlarının anlamlı şekilde farklılık gösterdiği görülmektedir ($p < 0,05$).

4.2. Deney Grubu ve Kontrol Grubunun INR Değerleri ve CYP2C9, VKORC1 Genotip Dağılımları ve Gruplar Arasındaki İlişki

Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin INR düzeylerinin arasındaki ilişki Tablo 4. 6.' da verilmiştir.

Tablo 4. 6. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin INR düzeyleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmesi

<i>Gruplar</i>	<i>N</i>	<i>Ort. (SS)</i>	<i>t</i>	<i>sd</i>	<i>p</i>
<i>Deney Grubu</i>	19	2,88 (0,98)	8,547	18,033	0,001
<i>Kontrol Grubu</i>	19	0,96 (0,03)			

Tablo 4. 6. incelendiğinde deney ve kontrol grubu arasındaki INR değerlerinde anlamlı farklılık olduğu ($p < 0,05$) ve deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerin INR değerinin kontrol grubunda yer alan bireylerin INR değerinde daha yüksek olduğu görülmektedir.

Araştırmaya katılan bireylerden oluşan deney ve kontrol grubuna ilişkin CYP2C9*2 genotipine ilişkin deney ve kontrol grubunda mutasyon görülmediği için INR değeri ile mutasyon arasındaki ilişki değerlendirilememiştir.

Deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerde incelenen CYP2C9*3 genotipi ve INR düzeyi arasındaki ilişkisi Tablo 4. 7.' de verilmiştir.

Tablo 4. 7. Deney Grubu CYP2C9*3 genotipi ve INR düzeyi arasındaki istatistiksel ilişki

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama INR Düzeyi</i>	<i>%95 Güven Aralığı</i>		<i>Min.</i>	<i>Max.</i>	<i>p</i>
			<i>Alt Değer</i>	<i>st Değer</i>			
<i>Wild Tip</i>	12	3,03	2,28	3,74	1,17	5,49	0,701
<i>Heterozigot</i>	6	2,74	2,06	3,41	2,14	3,92	
<i>Homozigot</i>	1	2,22	-	-	2,22	2,22	

Tablo 4. 7. incelendiğinde deney grubunda yer alan ve kumadin kullanan bireylerin CYP2C9*3 polimorfizmleri ve INR düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p > 0,05$) görülmektedir.

Deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerde incelenen VKORC1 genotipi ve INR düzeyi arasındaki ilişkisi Tablo 4. 8.' de verilmiştir.

Tablo 4. 8. Deney grubu VKORC1 genotip ve INR düzeyi arasındaki istatistiksel ilişki

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama INR Düzeyi</i>	<i>%95 Güven Aralığı</i>		<i>Min.</i>	<i>Max.</i>	<i>p</i>
			<i>Alt Değer</i>	<i>Üst Değer</i>			
<i>Wild Tip</i>	6	2,97	1,63	4,31	2,05	5,49	0,912
<i>Heterozigot</i>	8	2,92	2,24	3,60	2,17	4,51	
<i>Homozigot</i>	5	2,71	1,42	4,01	1,17	3,92	

Tablo 4. 8. incelendiğinde deney grubunda yer alan ve kumadin kullanan bireylerin VKORC1 polimorfizmleri ve INR düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir.

4.3. Deney Grubu ve Kontrol Grubunun PT Zamanı ve CYP2C9, VKORC1 Genotip Dağılımları ve Gruplar Arasındaki İlişki

Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin PT zamanı arasındaki ilişki Tablo 4. 9.' da verilmiştir.

Tablo 4. 9. Deney ve kontrol grubu PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişki

<i>Gruplar</i>	<i>N</i>	<i>Ort. (SS)</i>	<i>t</i>	<i>sd</i>	<i>p</i>
<i>Deney Grubu</i>	19	36,742 (13,46)	8,179	18,027	0,001
<i>Kontrol Grubu</i>	19	11,479 (0,37)			

Tablo 4. 9. incelendiğinde deney grubu ve kontrol grubu PT zamanları incelendiğinde iki grubun PT zamanları arasında anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$) görülmektedir. Deney ve kontrol grubunun PT zamanı arasındaki farklılık incelendiğinde kumadin kullanan bireylerden oluşan deney grubunun PT zamanının kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir.

Deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerin CYP2C9*3 polimorfizmi ve PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişkiye Tablo 4. 10.' da yer verilmiştir.

Tablo 4. 10. Deney grubu CYP2C9*3 polimorfizmleri ve PT Zamanı Arasındaki İlişki

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama PT Zamanı</i>	<i>%95 Güven Aralığı</i>		<i>Min.</i>	<i>Max.</i>	<i>p</i>
			<i>Alt Değer</i>	<i>Üst Değer</i>			
<i>Wild Tip</i>	12	38,62	28,54	48,70	14,20	73,40	0,669
<i>Heterozigot</i>	6	34,57	26,01	43,12	26,90	49,10	
<i>Homozigot</i>	1	27,30	-	-	27,30	27,30	

Tablo 4. 10. incelendiğinde deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerde CYP2C9*3 polimorfizmi ile PT zamanı arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir.

Deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerin VKORC1 polimorfizmi ve PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişkiye Tablo 4. 11.' de yer verilmiştir.

Tablo 4. 11. Deney grubu VKORC1 polimorfizmleri ve PT zamanı arasındaki ilişki

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama PT Zamanı</i>	<i>%95 Güven Aralığı</i>		<i>Min.</i>	<i>Max.</i>	<i>p</i>
			<i>Alt Değer</i>	<i>Üst Değer</i>			
<i>Wild Tip</i>	6	38,17	19,52	56,82	25,80	73,40	0,906
<i>Heterozigot</i>	8	37,11	27,53	46,70	27,30	59,60	
<i>Homozigot</i>	5	34,44	17,77	51,11	14,20	49,10	

Tablo 4. 11. incelendiğinde deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerde VKORC1 polimorfizmi ile PT zamanı arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir.

4.4. Deney Grubu INR Düzeyi ve PT Zamanı Arasındaki İlişki

Deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerin INR düzeyi ve PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişkiye Tablo 4. 12.' de yer verilmiştir.

Tablo 4. 12. Deney grubu INR düzeyi ve PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişki

<i>INR Düzeyi / PT Zamanı</i>	<i>N</i>	<i>Ort PT Zamanı</i>	<i>p</i>
<i><1.0</i>	-	-	
<i>1.0 - <2.0</i>	1	14,20	
<i>2.0- <3.0</i>	12	30,97	0,000
<i>3.0- <4.0</i>	4	44,83	
<i>≥4.0</i>	2	66,50	

Tablo 4. 12. incelendiğinde deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerin INR Düzeyleri ve PT zamanları arasında anlamlı bir farklılık olduğu ($p<0,05$) görülmektedir. Kumadin kullanan olgularda INR düzeyi arttıkça PT zamanının arttığı görülmektedir.

4.5. Deney Grubu INR Düzeyi, INR Düzeyinin Terapötik Aralıkta Tutulması ve PT Zamanı ile Kullanılan Kumadin Dozu Arasındaki İlişki

Deney grubunda yer alan ve kumadin kullanan bireylerin INR düzeyi ve günlük kullandıkları kumadin dozları arasındaki ilişki Tablo 4. 13.' te verilmiştir.

Tablo 4. 13. Deney grubu INR düzeyi ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki

<i>INR Düzeyi</i>	<i>R</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>Doz</i>	0,835	6,262	0,000

Tablo 4. 13. incelendiğinde deney grubunda yer alan bireylerin INR düzeyleri ve günlük olarak aldıkları kumadin dozları arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir.

Deney grubunda yer alan bireylerin INR düzeyini terapötik aralıkta tutmak için kumadin dozunun etkisi Tablo 4. 14.' te verilmiştir.

Tablo 4. 14. INR düzeyinin terapötik aralıkta tutulması ile kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki

<i>INR Düzeyi</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama Doz</i>	<i>p</i>
<i>Terapötik Aralıkta Olan Bireyler</i>	12	6,67	0,001
<i>Terapötik Aralıkta Olmayan Bireyler</i>	7	14,29	

Tablo 4. 14. incelendiğinde INR düzeyinin terapötik aralıkta tutulması üzerinde ilaç dozunun etkili olduğu ($p<0,05$) görülmektedir. İlaç dozunun artması INR düzeyinin terapötik aralık dışına çıkılması üzerinde etkilidir.

Deney grubunda yer alan ve kumadin kullanan bireylerin PT zamanı ve günlük kullandıkları kumadin dozları arasındaki ilişki Tablo 4. 15.' te verilmiştir.

Tablo 4. 15. Deney grubu PT zamanı ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki

<i>PT Zamanı</i>	<i>R</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>Doz(mg)</i>	0,837	6,305	0,000

Tablo 4. 14. incelendiğinde deney grubunda yer alan bireylerin PT zamanları ve günlük olarak aldıkları kumadin dozları arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir.

4.6. Deney Grubunda Yer Alan Bireylerin CYP2C9*3 ve VKORC1 Polimorfizmi ile Kullanılan Kumadin Dozu Arasındaki İlişki

Deney grubunda yer alan ve kumadin kullanan bireylerin CYP2C9*3 polimorfizmleri ve günlük kullandıkları kumadin dozları arasındaki ilişki Tablo 4. 16.' da verilmiştir.

Tablo 4. 16. Deney grubu CYP2C9*3 genotip ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama Doz(mg)</i>	<i>%95 Güven Aralığı</i>		<i>Min.</i>	<i>Max.</i>	<i>p</i>
			<i>Alt Değer</i>	<i>Üst Değer</i>			
<i>Wild Tip</i>	12	9,17	4,13	14,20	5	30	0,746
<i>Heterozigot</i>	6	9,17	3,03	15,30	5	20	
<i>Homozigot</i>	1	15,00	-	-	15	15	

Tablo 4. 16. incelendiğinde deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerde CYP2C9*3 polimorfizmi ile günlük alınana kumadin dozu arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir.

Deney grubunda yer alan ve kumadin kullanan bireylerin VKORC1 polimorfizmleri ve günlük kullandıkları kumadin dozları arasındaki ilişki Tablo 4. 17.' de verilmiştir.

Tablo 4. 17. Deney grubu VKORC1 gen polimorfizmi ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki

<i>Genotip</i>	<i>N</i>	<i>Ortalama Doz(mg)</i>	<i>%95 Güven Aralığı</i>		<i>Min.</i>	<i>Max.</i>	<i>p</i>
			<i>Alt Değer</i>	<i>Üst Değer</i>			
<i>Wild Tip</i>	6	10,00	0,49	20,49	5	30	0,937
<i>Heterozigot</i>	8	8,75	3,88	13,62	5	20	
<i>Homozigot</i>	5	10,00	2,40	17,60	5	20	

Deney grubunda yer alan kumadin kullanan bireylerde VKORC1 polimorfizmi ile günlük alınana kumadin dozu arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p>0,05$) Tablo 4. 17. incelendiğinde görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Kumarin türevi bir antikoagülan olan kumadin kalp damar sistemine bağılı olan rahatsızlıklarda sıklıkla kullanılan ilaç olduğı bilinmektedir. Tromboembolik hastalıkların tedavisinde kullanılan dar bir terapötik indekse sahip olmakla beraber doz gereksinimi bireyler arasında farklılık gösterdiği ve sitokrom P450' nin (CYP2C9) 2C9 izoformunda tek nükleotid polimorfizmi ve K vitamini epoksit redüktaz (VKOR) polimorfizmlerinin kumadin dozaj gereksinimlerindeki değışkenliğe önemli katkılar yaptığı bilinmektedir (65).

Çalışmada kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan 19 bireyde ve sağlıklı 19 bireyde CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda çalışmaya katılan kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan ve kullanmayan tüm bireylerde CYP2C9*2, CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmleri incelenmiştir.

5.1. CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Frekanslarının Literatürde Yer Alan Çalışmalardaki Genotip Frekansları ile Karşılaştırılması

Yıldırım (2006) yılında gerçekleştirdiğı çalışmada kalp kapağı replasmanı sonrasında coumadin kullanan hastalarda CYP2C9 gen polimorfizminin rolünü saptamayı amaçlamış ve kalp kapağı replasmanı yapılan 74 hastadan DNA'lar elde ederek CYP2C9*2, CYP2C9*3 alelleri LightCycler-CYP2C9 mutasyon belirleme kiti kullanılarak LightCycler cihazında real time PCR yöntemi ile gen polimorfizmlerini belirlemiş ve 74 bireyle gerçekleştirdiğı çalışmada CYP2C9*2 gen polimorfizmi dağılımını wild %74,3, heterozigot %25,7 ve homozigot %0 ve CYP2C9*3 gen polimorfizmi dağılımını wild %65,9, heterozigot %35,1 ve homozigot %0 olarak saptamıştır (13).

Yıldırım (13) tarafından gerçekleştirilen çalışmada çalışmamızda belirlenen CYP2C9*3 gen polimorfizmi dağılımı wild %63,2, heterozigot %31,6 ve homozigot %5,2 ile CYP2C9*3 gen polimorfizmi dağılımı homozigot oranı dışında benzerlik gösterirken çalışmamızda farklı olarak CYP2C9*3 polimorfizminde %5,2 oranında homozigot dağılım görülmektedir

Atlı (2008) yılında gerçekleştirdiğı çalışmada 234 varfarin kullanan olguda bireylerarası varfarin doz değışkenliğinin belirlenmesi ve 200 sağlıklı bireyinde çalışmaya

dâhil edilmesiyle, Türk populasyonu genotip dağılımının belirlenmesi amacıyla CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemini kullanılarak incelemiştir (14). Atlı araştırmasını gerçekleştirdiği 434 bireyde VKORC1 genotip dağılımları G/G için %27,6, G/A için %48,4 ve A/A için %24 olarak tespit ederken CYP2C9 geni polimorfizmi için CYP2C9 genotip varyant frekansları, *1*1 frekansı %59,4, *1*2 frekansı %19,8, *1*3 frekansı %13,8, *2*2 frekansı %3,7, *2*3 frekansı %2,8 ve *3*3 frekansı ise %0,5 olarak belirlemiştir (14).

Atlı (14) tarafından yapılan çalışmaya göre çalışmamızda CYP2C9 genotip varyant frekansları, *1*1 frekansı %100, *2*2 frekansı %63,2, *2*3 frekansı %31,6, *3*/3 frekansı %5,2 ve VKORC1 geni polimorfizmi genotip dağılımları G/G için %31,6, G/A için %42,1 ve A/A için %26,3 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda VKORC1 genotip dağılımları Atlı (14) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Yıldırım (2011) tarafından yapılan çalışmada Erzurum Bölgesi'deki varfarin kullanmakta olan hastalarda görülen kanama komplikasyonu ile CYP2C9 polimorfizmi arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmış, 80 hasta ile gerçekleştirilen çalışmada görülen hastaların genotip incelemeleri yapılarak; CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 varyantlarını taşıma şekilleri (homozigot, heterozigot ve wild tip) tespit edilmiştir (5). Yıldırım (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmada CYP2C9*2 genotipleri; wild %78,8, heterozigot %17,5, homozigot %3,8 ve CYP2C9*3 genotipleri; wild %72,5, heterozigot %25, homozigot %2,5 olarak tespit edilmiştir (5).

Yıldırım (5) tarafından gerçekleştirilen çalışmada çalışmamızda belirlenen CYP2C9*3 genotip dağılımı wild %63,2, heterozigot %31,6 ve homozigot %5,2 dağılım ile benzerlik gösterirken konulan CYP2C9*2 genotip dağılımı ise çalışmamızla (wild %100) benzerlik göstermemektedir.

Taşkın (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada CYP2C9 ve VKORC1 genetik polimorfizminin Türk toplumundaki varfarin kullanan çocuklarda doz gereksinimlerine etkisini araştırmayı amaçlamış, 58 çocuk hasta ve 149 varfarin tedavisi almayan sağlıklı gönüllü bireyle gerçekleştirilen çalışmada CYP2C9*2, CYP2C9*3 ve VKORC1 genetik polimorfizmleri belirlenmeye çalışılmıştır (17). Araştırmacı çalışmasında hem varfarin kullanan hasta grubunda, hem de sağlıklı gönüllü kontrol grubunda CYP2C9*2 gen bölgesinde homozigot mutant olguya rastlamamış varfarin kullanan hasta grubunda 45 (%77,6) olgu homozigot normal, 13 (%22,4) olgu heterozigot, kontrol grubunda ise 122 (%81,9) olgu homozigot normal, 27 (%18,1) olgu heterozigot olarak saptamıştır (17). Taşkın (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışma CYP2C9*3 genetik polimorfizmi açısından incelendiğinde varfarin kullanan olgularda 31 (%53,4) olgu homozigot normal, 25 (%43,1)

olgu heterozigot, 2 (%3,4) olgu da mutant, kontrol grubunda ise 116 (%77,9) olgu homozigot normalken, 31 (%20,8) olgu heterozigot, 2 (%1,3) olgunun da mutant olarak belirlenirken VKORC1 gen polimorfizmi warfarin kullanan hasta grubunda 11 (%19,0) olgu homozigot normal, 36 (%62,1) olgu heterozigot, 11 (%19,0) olgu da mutant ve kontrol grubunda ise 44 (%29,5) olgu homozigot normal, 73 (%49,0) olgu heterozigot, 32 (%21,5) olgunun da mutant olarak belirlenmiştir (17).

Taşkın (17) tarafından gerçekleştirilen çalışmada çalışmamızda belirlenen CYP2C9*2 gen polimorfizmi dağılımında homozigot mutant olguya rastlanmamış olması benzerlik gösterirken CYP2C9*3 gen polimorfizmi dağılımında ise çalışmamızda belirlenen wild %63,2, heterozigot %31,6 ve homozigot %5,2 genotip dağılımları ile benzerlik görülürken mutasyon yüzdeleri farklılık göstermektedir. Taşkın (17) tarafından ortaya konulan VKORC1 genotip dağılımları ise wild tip %31,6, heterozigot %42,1, homozigot %26,3 sonuçları çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Öztabağ (2017) tarafından yapılan çalışmada DVT tanısı almış 132 olgu aracılığı ile CYP2C9 ve VKORC1 genlerinin etkisini Türk toplumunda ortaya koymayı amaçlamıştır (19). Araştırmacı çalışmada en sık görülen CYP2C9 genotipi %69,8 ile *1/*1 iken en nadir olanları ise %1,5 ile *2/*2 ve *2/*3, VKORC1 genotipleri açısından ise en sık görülen %55,6 ile G/A (C/T heterozigot) genotipi olurken, en nadir görüleni %14,4 ile G/G (C/C homozigot yabancı tip) olduğu sonucuna ulaşmıştır (19).

Öztabağ (19) tarafından gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen VKORC1 genotipleri açısından ise en sık görülen %55,6 ile G/A (C/T heterozigot) genotipi olurken, en nadir görüleni %14,4 ile G/G (C/C homozigot yabancı tip) sonucu ile çalışmamızdan elde edilen sonuçlar benzerlik göstermektedir.

5.2. Kumadin Kullanan Bireylerde CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Frekanslarının Literatürde Yer Alan Çalışmalardaki CYP2C9 ve VKORC1 Genotip Frekansları ile Karşılaştırılması

Hillman ve arkadaşları (2004) tarafından gerçekleştirilen çalışmada warfarin kullanan 453 bireyde CYP2C9 genotipleri incelenmiş ve çalışmada oranı *1/*1 için %65,1, *1/*2 için %19,0, *1/*3 için %12,1, *2/*2 için %1,6, *2/*3 için %1,8 ve *3/*3 için %0,4 olarak tespit edilmiştir (66). Bizim çalışmamızda ise CYP2C9*3 gen polimorfizmi açısından yüzdeler wild %63,2, heterozigot %31,6 ve homozigot %5,2 olarak tespit edilmiştir. Hillmann ve arkadaşları

(66) tarafından gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen CYP2C9 genotip türleri çalışmamızla benzerlik göstermekle beraber yüzde dağılım açısından farklılık göstermektedir.

Yıldırım (2006) tarafından gerçekleştirilen çalışmada kumadin kullanan bireylerde CYP2C9*2 genotip dağılımı wild %74,3, heterozigot %25,7 ve mutant %0 olarak belirlenirken CYP2C9*3 genotip dağılımı wild %65,9, heterozigot %35,1 ve mutant %0 olarak tespit edilmiştir (13). Çalışmamızda kumadin kullanan olgularda CYP2C9*2 genotip dağılımı wild %100 iken CYP2C9*3 genotip dağılımı wild %63,2, heterozigot %31,6 ve homozigot %5,2 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen CYP2C9*2 homozigot genotipi %0 Yıldırım (13) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Kimura ve arkadaşları tarafından (2007) Japon hastalarda günlük warfarin dozunun belirleyicileri olarak K vitamini epoksit redüktaz, γ -glutamil karboksilaz üzerinde yaptıkları çalışmada VKORC1-1639 genotipleri A/A genotip frekansını %85, G/A genotip frekansını ise %15 olarak saptarken ve G/G genotipine ait değer tespit etmemişlerdir (67). Çalışmamızda ise farklı olarak VKORC1 genotipleri A/A genotip frekansını %26,3, G/A genotip frekansını ise %42,1 ve G/G genotip frekansını %31,6 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamız ile Kimura ve arkadaşları (67) tarafından gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen veriler karşılaştırıldığında; VKORC1 genotipleri benzerlik göstermekle beraber yüzde oranları arasında farklılık görülmektedir.

Taşkın tarafından (2012) CYP2C9 ve VKORC1 genetik polimorfizminin Türk toplumundaki warfarin kullanan çocuklarda doz gereksinimlerine etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmada warfarin kullanan olgularda VKORC1 -1639 G>A polimorfizm sıklıkları; G/G için %19,0, G/A için %62,1 ve A/A için %19,0 olarak belirlenmiştir (17). Çalışmamızda bu değerler sırasıyla %31,6, %42,1 ve %26,3 olarak belirlenmiştir. Warfarin kullanan olgularda Taşkın (17) tarafından gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen genotip türleri benzerlik gösterirken yüzdeler arasında farklılıklar görülmektedir.

5.3. Kumadin Kullanan Bireylerde CYP2C9 ve VKORC1 Genotipi ile Kullanılan Kumadin Doz ve INR Düzeyi İlişkisinin Literatürde Yer Alan Çalışmalar ile Karşılaştırılması

Yıldırım tarafından (2006) gerçekleştirilen çalışmada CYP2C9*2 heterozigot ve CYP2C9*3 heterozigot hastaların wild tip genotipi olan hastalara göre daha az coumadin dozuna gereksinim duyduklarını saptamıştır (13). Çalışmamızda ise tarafından CYP2C9*3

wild, heterozigot ve homozigot genotiplerinde günlük kumadin doz alımı ortalama 9.17 mg, 9,17 mg ve 15,00 mg olarak saptanmıştır. Çalışmamızda CYP2C9*3 wild tip genotipi olan hastaların CYP2C9*3 heterozigot hastalar ile eşit doz gereksinimi olduğu ve CYP2C9*3 homozigot genotipe sahip hastaların ise daha fazla doz gereksinimine ihtiyaçları olduğu saptanmıştır.

Özgön tarafından (2007) gerçekleştirilen çalışmada VKORC1 3673 polimorfizminin ortalama haftalık varfarin dozu ile ilişkisi GG genotipi için 43,18 mg/hafta, GA genotipi için 33,78 mg/hafta ve AA genotipi için 25,83 mg/hafta ($p < 0.0001$) olarak saptanmış ve VKORC1 ve CYP2C9 varyantlarını taşıyan kişilerde %40 oranında daha az haftalık varfarin ihtiyacı olduğu belirlenirken çalışmamızda GG ve AA genotipi için günlük doz ihtiyacı 10.00 mg olarak belirlenirken GA genotipi için günlük kumadin dozu 8.75mg olarak tespit edilmiştir (27).

Lindh ve arkadaşları (2009) tarafından gerçekleştirilen sitokrom P450 2C9 (CYP2C9) polimorfizmlerinin warfarin dozu gereksinimleri üzerindeki etkisini ölçmeyi amaçladıkları çalışmada çalışmamızdan farklı olarak CYP2C9 *1/*1 genotipine kıyasla, CYP2C9 *1/*2, CYP2C9 *1/*3, CYP2C9*2/*2, CYP2C9 *1/*3, CYP2C9 *2/*2, CYP2C9 *2/*3 ve CYP2C9 *3/*3 gerekli warfarin dozlarını sırasıyla % 19,6 (% 95 güven aralığı 17,4, 21,9), %33,7 (29,4, 38,1), %36,0 (29,9, 42,0), %56,7 (49,1, 64,3) ve % 78,1 (72,0, 84,3) şeklinde bulmuşlardır (68).

AL-Eitan ve arkadaşları (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada CYP2C9 ve VKORC1 polimorfizmlerinin, tedavinin stabilizasyonu sırasında Ürdün popülasyonunda warfarin duyarlılığı ve üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlayan araştırmacılar çalışma sonucunda CYP2C9 veya VKORC1 polimorfizm taşıyıcısı olmak, taşıyıcı olmayan hastalara kıyasla terapötik INR' ye ulaşmak için gereken dozlarda bir değişiklik ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır (69). Çalışmamızda da kumadin kullanan bireylerde INR değerinin terapötik aralıkta tutulmasında ilaç dozunun etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Yıldırım tarafından (2011) gerçekleştirilen çalışmada CYP2C9*3 homozigot veya heterozigot genotip taşıyan veya bu alleli taşımayan hastalar arasında INR açısından fark bulunamamıştır (5). Çalışmamızda Yıldırım (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmaya benzer olarak CYP2C9*3 homozigot veya heterozigot genotip taşıyan veya bu alleli taşımayan hastalar arasında INR açısından fark bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır çalışmamızın sonucu Yıldırım tarafından (2011) gerçekleştirilen çalışma ile benzerlik göstermektedir (5).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerde ve kumadin kullanmayan sağlıklı bireylerde CYP2C9*2, CYP2C9*3 ve VKORC1 genotipleri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan bireylerin ve kumadin kullanmayan bireylerin CYP2C9*2, CYP2C9*3 ve VKORC1 genotipleri ve INR düzeylerinin farklılık gösterip göstermediği belirlenmeye çalışılmıştır. Kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle kumadin kullanan bireylerde ise CYP2C9*2, CYP2C9*3 ve VKORC1 genotipleri ve bu genotipler ile kumadin kullanan bireylerin INR düzeyleri ve günlük olarak aldıkları kumadin dozlarının genotipler açısından farklılık oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızın bulgularından elde edilen sonuçlara göre;

- CYP2C9*2 gen polimorfizmi dağılımına incelendiğinde kumadin kullanan ve kullanmayan olguların tamamında mutasyon görülmediği belirlenmiştir. CYP2C9*3 gen polimorfizmi dağılımına incelendiğinde kumadin kullanan olguların %63,2' sinde mutasyon görülmezken %31,6' sında heterozigot olduğu ve %5,2' sinde ise homozigot olduğu, kumadin kullanmayan olgularda ise %94,7 mutasyon görülmezken %5,3' ünde heterozigot olduğu görülmektedir. VKORC1 gen polimorfizmi dağılımına incelendiğinde kumadin kullanan olguların %31,6' sında mutasyon görülmezken %42,1' inin heterozigot ve %26,3' ünün homozigot dağılım gösterdiği kumadin kullanmayan olguların ise %31,6' sında mutasyon görülmezken %68,4' ünün heterozigot olduğu görülmektedir. Bulgulardan elde edilen veriler incelendiğinde CYP2C9*3 ve VKORC1 polimorfizmleri ve kumadin kullanma durumu arasında ilişki olduğu kumadin kullanan bireylerde mutasyon görülme oranının daha fazla olduğu ve kalpdamar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan ve kullanmayan bireyler arasında hem CYP2C9*3 hem de VKORC1 gen polimorfizmi arasında anlamlı bir farklılık olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

- Kumadin kullanan ve kullanmayan bireylerin INR düzeyleri arasındaki farklılık incelendiğinde kumadin kullanan bireylerin INR düzeylerinin kumadin kullanmayan bireylere nazaran daha yüksek olduğu ve kumadin kullanma durumunun INR düzeyi üzerinde etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p < 0,05$). Kumadin kullanan bireylerden alınan örnekler üzerinde yapılan inceleme sonucunda CYP2C9*3 ve VKORC1 genotipleri ile INR düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde INR düzeyi ve CYP2C9*3 ve VKORC1 allelleri arasında anlamlı ilişki ($p > 0,05$) olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

- Kumadin kullanan ve kullanmayan bireylerde PT zamanı incelendiğinde kumadin kullanan ve kullanmayan bireylerin PT zamanları arasında anlamlı bir farklılık ($p<0,05$) olduğu kumadin kullanan bireylerin PT zamanının kumadin kullanmayan bireylere göre daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kumadin kullanan olgularda PT zaman ortalaması 36,742 sn iken kumadin kullanmayan bireylerde PT zamanı ortalamasının 11,479 sn olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Bulgulardan elde edilen veriler değerlendirildiğinde kumadin kullanma durumunun PT zamanı üzerinde etkili olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

- Kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerde CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmi ile PT zamanı arasındaki ilişki değerlendirildiğinde kumadin kullanan olguların CYP2C9*3 ve VKORC1 genotipleri ile PT zamanı arasında ilişki olmadığı ($p>0,05$) sonucuna ulaşılmaktadır.

- Kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerin INR düzeyleri ve PT zamanları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde kumadin kullanan bireylerin INR düzeyi ve PT zamanı arasında anlamlı bir ilişki olduğu ($p<0,05$) ve INR düzeyi arttıkça PT zamanının arttığı sonucuna ulaşılmaktadır.

- Kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerin günlük kumadin dozları ve PT zamanı arasındaki ilişki değerlendirildiğinde kumadin kullanan bireylerin günlük aldıkları kumadin dozu ve PT zamanı arasında anlamlı bir ilişki olduğu ($p<0,05$) günlük olarak alınan kumadin dozu arttıkça PT zamanının arttığı sonucuna ulaşılmaktadır.

- Kalp-damar sistemi hastalığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerin günlük kumadin dozları ve CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmleri arasında bir ilişki olmadığı ($p>0,05$) sonucuna ulaşılmaktadır. CYP2C9*3 wild tip genotip ve heterozigot genotipe sahip bireylerde doz alımı (9,17 mg), homozigot genotip taşıyan bireylerde günlük doz alımı (15,00 mg) olarak belirlenmiştir. Homozigot genotipe sahip bireylerde doz alım miktarının daha fazla olması üzerinde bu geni homozigot olarak taşıyan birey sayısının bir kişi olmasının etkili olduğu düşünülmektedir. VKORC1 wild tip genotip ve homozigot genotipe sahip bireylerde doz alımı (10,00 mg), heterozigot genotipe sahip bireylerde günlük doz alımı (8,75 mg) olarak belirlenmiştir. Heterozigot genotipe sahip bireylerin wild tip genotipe sahip bireylere nazaran daha az doz ihtiyacı olduğu sonucuna ulaşılırken homozigot genotip taşıyan bireylerin doz ihtiyacının wild tip genotip taşıyan bireylerin doz ihtiyacına eşit olması üzerinde de günlük alınan doz miktarlarının birbirine yakın olduğu göz önünde bulundurulduğunda birey sayısının az olmasının etkili olabileceği düşünülebilir.

Kumadin doz ayarlanması üzerinde yaş, cinsiyet, farklı ilaç kullanımı gibi etkenlerin önemli olduğu bilinmekle beraber kumadin üzerinde etkili olan gen polimorfizmlerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda kumadin kullanan ve kullanmayan bireylerden elde edilen veriler incelendiğinde kumadin kullanma durumunun CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmleri üzerinde etkili olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Kişilerde oluşabilecek komplikasyonlara karşı INR düzeyinin kontrol altına alınmasının ve bu amaç doğrultusunda kişiye özgü doz ayarlanmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Kişilerden alınan örnekler üzerinde CYP2C9*3 ve VKORC1 gen polimorfizmine ilişkin uzun süreli çalışmaların yapılmasının kişiler için uygun doz ayarlanması üzerinde de etkili olacağı düşünülmektedir. Çalışmadan elde edilen verilerden ulaşılan sonuçlar ışığında aşağıdaki öneriler ortaya çıkmaktadır.

- Kalp damar sistemi rahatsızlığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerde ilaç dozunun belirlenmesi açısından CYP2C9 ve VKORC1 gen polimorfizmlerinin incelenmesi göz önünde bulundurulmalıdır.
- Kalp damar sistemi rahatsızlığı nedeniyle kumadin kullanan bireylerde ilaç dozunun belirlenmesi açısından INR düzeyi göz önünde bulundurulmalıdır.
- Çalışmadan elde edilen sonuçların daha geniş çerçevede yorumlanabilmesi için kumadin kullanan ve kullanmayan birey sayısı artırılarak çalışma sonuçları tekrarlanarak elde edilen sonuçların değerlendirilmesi gelecek çalışmalara ışık tutabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Yılmaz A. Kalp damar hastalığı olan bireylerin diyetlerine eklenen bulunduğu lipoprotein profiline etkisi. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 81s, 2010.
2. Zhang J, Tian L, Huang J, Huang S, Chai T, Shen J. Cytochrome P450 2C9 gene polymorphism and warfarin maintenance dosage in pediatric patients: A systematic review and meta-analysis. *Cardiovascular therapeutics*, 2017; 35(1), 26-32.
3. Caldwell MD, Berg RL, Zhang KQ, Glurich I, Schmelzer JR, Yale SH, ve ark. Evaluation of genetic factors for warfarin dose prediction. *Clinical Medicine & Research*, 2007; 5(1), 8-16.
4. Altunbaş G, Ercan S, Davutoglu V, Al B. Overview of warfarin treatment and answers to questions/Varfarin tedavisine genel bakış ve sorulara cevaplar. *Journal of Academic Emergency Medicine*, 2013; 12(1), 38.
5. Yıldırım R. Erzurum bölgesinde CYP2C9 gen polimorfizmi ve varfarin doz gereksinimi. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Erzurum, 52s, 2011.
6. Goldstein DB. The genetics of human drug response. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2005; 360(1460), 1571-1572.
7. Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM, ve ark. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics*, 1996; 6(4), 341-349.
8. 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. *The Lancet*, 1999; 353(9154), 717-719.
9. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, ve ark. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *Jama*, 2002; 287(13), 1690-1698.

10. Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA, Robert A, Dubert L, Funck-Brentano C, ve ark. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood*, 2005; *106*(1), 135-140.
11. Carlquist JF, Horne BD, Muhlestein JB, Lappé DL, Whiting BM, Kolek MJ, ve ark. Genotypes of the cytochrome P450 isoform, CYP2C9, and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: a prospective study. *Tromboz ve tromboliz Dergisi* , 2006; *22* (3), 191-197.
12. Takahashi H, Wilkinson GR, Nutescu EA, Morita T, Ritchie MD, Scordo MG, ve ark. Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra-and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenetics and genomics*, 2006; *16*(2), 101-110.
13. Yıldırım H. Kalp kapağı replasmanı sonrasında antikoagulan tedavide CYP2C9 gen polimorfizminin rolü. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 75s, 2006.
14. Atlı E. Varfarin kullanan olgularda CYP2C9 ve VKORC1 genlerinde tek nükleotid polimorfizminin (SNP) incelenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 2008.
15. Teichert M, Schaik RHN, Hofman A, Uitterlinden AG, Smet PAGM, Stricker B, ve ark. Genotypes associated with reduced activity of VKORC1 and CYP2C9 and their modification of acenocoumarol anticoagulation during the initial treatment period. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2009; *85*(4), 379-386.
16. Aomori T, Obayashi K, Fujitaa Y, Araki T, Nakamura K, Nakamura T, ve ark. Influence of CYP2C9 and vitamin k oxide reductase complex (VKORC) 1 polymorphisms on time to determine the warfarin maintenance dose. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011; *66*(3), 222-225.
17. Taşkın BD. CYP2C9 ve VKORC1 genetik polimorfizminin türk toplumundaki warfarin kullanan çocuklarda doz gereksinimlerine etkisinin araştırılması. Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 110s, 2012.

18. Akgül SV. Study on the polymorphism of the cytochrome P450C9 enzyme in turkish population. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2016.
19. Öztabağ CK. CYP2C9 ve VKORC1 polimorfizmlerinin derin ven trombozlu (DVT) hastalarda varfarin (kumadin) dozlamındaki etkisi / The influence of CYP2C9 and vkorc1 polymorphisms on warfarin (coumadin) dosing in patients with deep vein thrombosis (DVT). Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bolu, 69s, 2017.
20. Özer M. The effect of polymorphisms in cytochrome P450 2C9, cytochrome P450 4F2, epoxide hydrolase 1 and vitamin K epoxide reductase 1 on warfarin dose in Turkish patients. Yeditepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 96s, 2011.
21. Akyüz S, Atalay T. Kanama ve pıhtılaşma zamanlarının uzamasına neden olan hastalıklar ve bunların diş hekimliği açısından önemi-Diseases producing a prolonged bleeding and clotting time that are important in dentistry. Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry, 1991; 25(4), 215-218.
22. Onat T, Emerk K, Sözmen YS (Ed). İnsan Biyokimyası s. 711, Palme Yayıncılık. Ankara, 2002.
23. Guyton AC. Text of medical physiology/ Tıbbi fizyoloji (Çev: Gökhan N, Çavuşoğlu H) s.776, Merk Yayıncılık, İstanbul, 7. Baskı, Cilt,1, 1986.
24. Turan G. Koagülasyon mekanizmaları ve antikoagülan ilaçlar. Boğaziçi Tıp Dergisi, 2016; 3(2): 71-75
25. Öner N. Çocukluk çağında kalıtsal pıhtılaşma bozuklukları: tek merkez deneyimi. Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Ankara, 2013.
26. Kılıç SÇ. Menorajili adolesan ve genç kadınlarda pıhtılaşma kusurlarının araştırılması. Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Yandal Uzmanlık Tezi, Kocaeli, 2011.
27. Özgön GÖ. Varfarin kullanan hastalarda vitamin K epoksit redüktaz 1 gen polimorfizmleri ve varfarin doz ilişkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 121s, 2007.

28. Atalan N. Hemostaz. Göğüs-Kalp-Damar Anestezi ve Yoğun Bakım Derneği Dergisi, 2013; (3), 109-112.
29. <http://www.kanhastaliklari.org.tr/icerik.php?id=180> Erişim tarihi 29.04.2018
30. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/world-heart-day-2017/en/Erişim tarihi
04.04.2018
31. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24572> Erişim tarihi 10.04.2018
32. Erdoğan, H. Kardiyovasküler rahatsızlıkları olan bireylerde depresyon, anksiyete ve çocukluk çağı travmalarının incelenmesi. Üsküdar Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2017.
33. WHO MONICA Project Principal Investigators. The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. (Prep. H. Tunstall-Pedoe). Journal of clinical epidemiology, 1988; 41(2), 105-114.
34. <https://www.tkd.org.tr/TKDData/Uploads/files/Turkiye-kalp-ve-damar-hastaliklari-onleme-ve-kontrol-programi.pdf> Erişim tarihi:04.04.2018
35. <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/coronary-heart-disease> Erişim tarihi:
08.04.2018
36. Akgöz A. Kardiyovasküler hastalık riski orta düzeyde olan bireylere hemşire liderliğinde yaptırılan fiziksel aktivitenin risk düzeyini düşürmeye etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Antalya, 2017.
37. Mackay, J. and G. Mensah (Ed). The Atlas of Heart Disease and Stroke, World Health Organization, 2004.
38. www.heart.org Erişim Tarihi:11.04.2018
39. Coşgunarslan P. Kardiyovasküler sistem hastalıkları ve tedavisinde kullanılan ilaçların periodontal sağlığa etkisi. Ege Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Bitirme Tezi, İzmir, 2013.

40. Weirthein J, Scolnik D, Milshstein NY, Capua T, Glatstein M. Accidental rivaroxaban intoxication in a boy: some lessons in managing new oral anticoagulants in children. *Pediatric emergency care*, 2018.
41. Çalışkan M. Yeni nesil oral antikoagülanların diş çekimi sonrası kanama üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Çukurova Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Adana, 2017
42. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Heparin> Erişim tarihi: 27.08.2019
43. Hyers TM, Agnelli G, Hull R. D, Morris TA. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. *Chest*, 2001; 119(1), S176.
44. Nural MS, Baydın A, Karataş AD, Elmalı M. Yüksek doz warfarin kullanımını sonucu gelişen yaygın alveoler hemoraji. *Toraks Dergisi*, 2006; 7(1), 68-71.
45. Stehle S, Kirchheiner J, Lazar A, Fuhr U. Pharmacogenetics of oral anticoagulants. *Clinical pharmacokinetics*, 2008; 47(9), 565-594.
46. Alay M, Demir C, Atmaca M, Esen R, Dilek İ. Oral antikoagülan tedavi seyrinde kanama komplikasyonu ile gelen hastaların değerlendirilmesi. *Van Tıp Dergisi*, 2011; 18(1), 9-14.
47. Yin T, Miyata T. Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1—rationale and perspectives. *Thrombosis research*, 2007; 120(1), 1-10.
48. Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am Fam Physician*, 2007; 76, 391-6.
49. İplikçi S. Onkolojik ağrı tedavisinde tramadol etkinliğinin CYP2D6 gen polimorfizmi ile ilişkisi. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2019.
50. Yüksel N. Sitokrom P450 Enzim sistemi ve ilaç etkileşimleri. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 2001; 4(Supp: 1), 5-16.
51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=gene&acc=1559>
52. Yıldırım ZK., Doğan H, Büyükavcı M. Warfarin direncine neden olan vitamin K epoksit redüktaz (VKOR) gen mutasyonu: Bir vaka takdimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2012; 55: 135-137.

53. Steward DJ, Haining RL, Henne KR, Davis G, Rushmore TH, Trager WF, ve ark. Genetic association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9*3. *Pharmacogenetics*, 1997; 7(5), 361-367.
54. <http://slideplayer.biz.tr/slide/3100052/> Erişim tarihi: 03.05.2018
55. Özerol E. Sitokrom P450 monooksijenaz enzim sistemleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 1996; 3(3).
56. Cranenburg EC, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K: the coagulation vitamin that became omnipotent. *Thrombosis and haemostasis*, 2007; 97(01), 120-125
57. <http://slideplayer.biz.tr/slide/3013444/>
58. Eroğlu ES, Altınok Denizbaşı A, Özpolat Ç, Akoğlu H, Ecmel Onur Ö, Akoğlu Ünal E. The investigation of the relation between INR levels and risk of complication in patients with a history of warfarin use. *Marmara Medical Journal*, 2012; 25(3), 138-142.
59. Yanagita M. Gas6, warfarin, and kidney diseases. *Journal of Clinical and Experimental Nephrology*, 2004; 8(4), 304-309.
60. Oldenburg J, Watzka M, Rost S, Müller CR. VKORC1: molecular target of coumarins. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007; 5(s1), 1-6.
61. Lee JJ, Fasco MJ. Metabolism of vitamin K and vitamin K 2, 3-epoxide via interaction with a common disulfide. *Biochemistry*, 1984; 23(10), 2246-2252.
62. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/VKORC1>
63. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/VKORC1#location>
64. Bustin SA. Real-time PCR. *Encyclopedia of diagnostic genomics and proteomics*, 2005; 10(1), 117-1.
65. Kamali F, Pirmohamed M. The future prospects of pharmacogenetics in oral anticoagulation therapy *Br. J. Clin. Pharmacol*, 2006; 61: 6 746–751
66. Hillman MA, Wilke RA, Caldwell MD, Berg RL, Glurich I, Burmester JK. Relative impact of covariates in prescribing warfarin according to CYP2C9 genotype. *Pharmacogenetics and Genomics*, 2004; 14(8), 539-547.

67. Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, ve ark. Genotypes of vitamin K epoxide reductase, γ -glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients. *Thrombosis research*, 2007; 120(2), 181-186.
68. Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements—a systematic review and meta-analysis. *European journal of clinical pharmacology*, 2009; 65(4), 365-375.
69. AL-Eitan LN, Almasri AY, Khasawneh RH. Effects of CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms on warfarin sensitivity and responsiveness during the stabilization phase of therapy. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2019.



8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

ŞEKİLLER

Şekil 2. 1. Trombositlerin adezyon ve agregasyonu	6
Şekil 2. 2. Sekonder hemostaz mekanizması.	8
Şekil 2. 3. Pıhtılaşma kaskadı.....	8
Şekil 2. 4. Kalp damar hastalıklarına etki eden faktörler	11
Şekil 2. 5. Heparinin yapısı	13
Şekil 2. 6. Varfarin yapısı.....	14
Şekil 2. 7. Varfarin metabolizması.....	15
Şekil 2. 8. Sitokrom p450 enzim adlandırma sistemiği.....	16
Şekil 2. 9. CYP2C9 gen lokasyonu	16
Şekil 2. 10. Sitokrom p450 reaksiyon dizini	18
Şekil 2. 11. K vitamini yapısı.....	18
Şekil 2. 12. K vitamini döngüsü	19
Şekil 2. 13. VKORC1 kromozomal.	20
Şekil 3. 1. Real-Time PCR testinin Şematik gösterimi.....	24
Şekil 3. 2. Laboratuarda kullanılan real time PCR cihazı	25

9. TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2. 1. Kandaki pıhtılaşma faktörleri ve sinonimleri.....	7
Tablo 2. 2. Kalp damar sistemi hastalıkları tedavisinde kullanılan ilaçlar.....	12
Tablo 2. 3. CYP2C9 allelleri ve metabolizör tipleri.....	17
Tablo 3. 1. PCR yürütme aşamaları	26
Tablo 4. 1. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin CYP2C9*2 polimorfizmleri.....	27
Tablo 4. 2. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin CYP2C9*3 polimorfizmleri.....	28
Tablo 4. 3. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin VKORC1 polimorfizmleri	29
Tablo 4. 4. Deney grubu ve kontrol grubu CYP2C9*3 gen polimorfizmleri arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi	30
Tablo 4. 5. Deney grubu ve kontrol grubu VKORC1 gen polimorfizmleri arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi	30
Tablo 4. 6. Deney ve kontrol grubunda yer alan bireylerin INR düzeyleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmesi	31
Tablo 4. 7. Deney Grubu CYP2C9*3 genotipi ve INR düzeyi arasındaki istatistiksel ilişki... 31	31
Tablo 4. 8. Deney grubu VKORC1 genotip ve INR düzeyi arasındaki istatistiksel ilişki	32
Tablo 4. 9. Deney ve kontrol grubu PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişki.....	32
Tablo 4. 10. Deney grubu CYP2C9*3 polimorfizmleri ve PT Zamanı Arasındaki İlişki.....	33
Tablo 4. 11. Deney grubu VKORC1 polimorfizmleri ve PT zamanı arasındaki ilişki	33
Tablo 4. 12. Deney grubu INR düzeyi ve PT zamanı arasındaki istatistiksel ilişki	34
Tablo 4. 13. Deney grubu INR düzeyi ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki	34
Tablo 4. 14. INR düzeyinin terapötik aralıkta tutulması ile kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki.....	35
Tablo 4. 15. Deney grubu PT zamanı ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki.....	35
Tablo 4. 16. Deney grubu CYP2C9*3 genotip ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki	36
Tablo 4. 17. Deney grubu VKORC1 gen polimorfizmi ve kumadin dozu arasındaki istatistiksel ilişki.....	36

10. EKLER DİZİNİ

Ek 1. Etik Kurul Karar Formu.....	55
Ek 2. Etik Kurul Karar Formu.....	56



11. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Karar Formu

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	" Kalp - Damar Sistemi Hastalığı nedeniyle Kumadin Kullanan Olgularda CYP2C9 ve VKORC1 Gen Polimorfizminin Araştırılması "			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	01			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Metin KILINÇ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D			
	DESTEKLEYİCİ	Sorumlu Araştırmacı			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Ek 2. Etik Kurul Karar Formu

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	23.01.2014		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Açıklama					
	Belge Adı					
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	HASTA KARTI/GÜNÜKLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2014/01-01	Tarih: 14.04.2014				
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekeçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üyelerin oy çokluğu ile karar verilmiştir.					

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR Başkan	Göz Hastalıkları	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>G. Özdemir</i>
Prof. Dr. Mustafa GÜL Üye	Tıbbi Mikrobiyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M. Gül</i>
Prof. Dr. Metin KILINC Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>M. Kılınç</i>
Prof. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU Üye	Genel Cerrahi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>E. Bulbuloglu</i>
Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE Üye	Noroloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M. Gökçe</i>
Doç. Dr. Perihan ÖZTÜRK Üye	Dermatoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>P. Öztürk</i>
Doç. Dr. Mustafa ÇELİK Üye	Tıbbi Biyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M. Çelik</i>
Doç. Dr. Kamile GÜL Üye	Endokrinoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>K. Gül</i>
Yrd. Doç. Dr. Hamide SAYAR Üye	Patoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>H. Sayar</i>
ŞERH (VARSA)	√								

* :Toplantıda Bulunma

12. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Nazlı ÜLKER HANÇER
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : Üsküdar-31.07.1987
Medeni hali : Evli
Telefon : 0368 3150101
Faks :
e-posta : nazliulker461@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Tıbbi Biyokimya Sinop Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilgisi Eğitimi	2019
Lisans	KTÜ/Fen Edebiyat Fakültesi-Kimya Bölümü KTÜ/Fatih Eğitim Fakültesi- Kimya Öğretmenliği	2012 2011
Lise	Kahramanmaraş Lisesi(Yabancı Dil Ağırlıklı)	2004

İş Denevimi

Yıl	Yer
2014-	Sinop Üniversitesi Boyabat Meslek Yüksekokulu
2013-2014	Kahramanmaraş Uğur Akar Özel Eğitim Merkezi

Yabancı Diller

İngilizce