

**T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKUT ST-SEGMENT YÜKSELMELİ MİYOKARD  
İNFARKTÜSÜ TANISI İLE İZLENEN HASTALARDA CYP2C19  
GEN MUTASYON ANALİZİNİN KLOPİDOGREL DİRENCİ İLE  
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Elnur İSAYEV**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Cemil GÜRGÜN**

**İZMİR**

**2011**

## ÖNSÖZ

*Kardiyoloji uzmanlık eğitimim süresince kişisel ve mesleki gelişimime katkıda bulunan başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İnan Soydan olmak üzere tüm değerli hocalarıma;*

*Tezim süresince beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, tez sorumlusu hocam Prof. Dr. Cemil Gürgün'e;*

*Tezimin yürütülmesinde bilgi ve deneyimlerini esirgmeden benimle paylaşan, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Sayın Prof. Dr. Afiğ Berdeli'ye ve Moleküler Genetik laboratuvarı çalışanlarına;*

*Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığımız, yardım taleplerimi hiç geri çevirmeyen, destek, hoşgörü ve dostluklarını esirgemeyen değerli asistan arkadaşlarıma;*

*Uzmanlık eğitimim boyunca bir ekip olarak çalışmanın güzelliğini yaşatan, nezaketlerinden ve yardımlarından dolayı kardiyoloji klinği bütün hemşirine ve personel arkadaşlarına, büyük özveride bulunan Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı çalışanları Sultan Hanım, Özge Hanım ve Murat Bey'e;*

*Tezimin istatistikî analizinde bana yardımcı olan Doç. Dr. Timur Köse'ye;*

*Beni bugünlere binbir zorluklar ve fedakarlıklarla yetiştiren, maddî ve manevî desteklerini hiç eksik etmeyen sevgili Ata'ma ve Ana'ma;*

*Ve sadece tezim süresince değil, yaşamımın her anında varlıklarını yanımda hissetmekten büyük mutluluk duyduğum biricik eşim Dr. Günel Gafarlı'ya ve sevgili kızım Aylin'e;*

*sonsuz teşekkürlerimle...*

*Dr. Elnur İSAYEV*

*İzmir - 2011*

## İÇİNDEKİLER

Giriş ve Genel Bilgiler .....	1
Gereç ve Yöntem .....	27
Bulgular.....	32
Tartışma .....	52
Özet .....	55
Abstract (İngilizce Özet).....	56
Kaynaklar .....	57

## KISALTMALAR DİZİNİ

AKS	:	Akut koroner sendrom
PKG	:	Perkütan koroner girişim
ADP	:	Adenozin difosfat
GP	:	Glikoprotein
CYP	:	Sitokrom
Mİ	:	Miyokard infarktüsü
KBÜ	:	Koroner bakım ünitesi
KAH	:	Koroner arter hastalığı
STEMİ	:	ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü
NSTEMİ	:	ST segment yükselmelisiz miyokard infarktüsü
EKG	:	Elektrokardiyogram
EKO	:	Ekokardiyografi
CK	:	Kreatin kinaz
CK-MB	:	Kreatin kinaz miyokardiyal band
LBBB	:	Sol dal bloğu
RBBB	:	Sağ dal bloğu
KABC	:	Koroner arter by-pass cerrahisi
SK	:	Streptokinaz
tPA	:	Doku plazminojen aktivatörü (Alteplaz)
TNK	:	Tenekteplaz
PAI	:	Plazminojen aktivatör inhibitörü
SVO	:	Serebrovasküler olay
HT	:	Hipertansiyon
HLP	:	Hiperlipidemi
DM	:	Diyabetes mellitus
LTA	:	Turbidimetrik agregometri
VASP	:	Vasodilatatör uyarımlı fosfoprotein
TNP	:	Tek nükleotid polimorfizimi
TEG	:	Tromboelastografi
AA	:	Araşidonik asit
PFA	:	Trombosit fonksiyon analizörü
MEA	:	İmpedans agregometri

PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
SGOT	:	Serum glutamik-oksaloasetik transaminaz
SGPT	:	Serum glutamik-pürivik transaminaz
ALP	:	Alkalen fosfataz
GGT	:	Gama glutamil transpeptidaz
LDL	:	Düşük dansiteli lipoprotein
HDL	:	Yüksek dansiteli lipoprotein
CRP	:	C reaktif protein
TSH	:	Tiroid stimüle edici hormon
VKİ	:	Vücut kitle indeksi
VYA	:	Vücut yüzey alanı
LVEF	:	Sol ventrilül ejeksiyon fraksiyonu
RVEF	:	Sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
PPI	:	Proton pompa inhibitörü
ACE-İ	:	Anjiyotensin çevirici enzim inhibitörü
ARB	:	Angiyotensin reseptör blokeri
FMF	:	Ailesel akdeniz ateşi

# **1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER**

## **1.1. AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSÜ**

### **1.1.1. Epidemiyoloji**

Akut miyokard infarktüsü (Mİ) dünyada ölümün önde gelen nedenlerindedir. Amerika Birleşik Devletlerinde koroner arter hastalığına bağlı yıllık ölüm 800 000 üzerindedir (1). Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl bir milyondan fazla kişide akut Mİ görülmektedir. TEKHARF çalışmasının verilerine göre Türkiye’de yıllık toplam mortalite binde 10.5 civarındadır. Ölümlerin %40 civarından koroner arter haslatlığı sorumlu tutulmaktadır (2). Son 30 yıl içinde koroner bakım ünitelerinin (KBÜ) çoğalması, fibrinolitik tedavi ve kateterle reperfüzyonun gelişmesi nedeniyle sıklık ve mortalitede azalma gözlenmesine rağmen, akut Mİ’de hastaneye başvurmadan önce ölenler dahil edildiğinde toplam mortalite oranı %30’dan fazladır. Primer perkütan koroner girişimlerin (PKG) mortaliteyi düşürücü etkisine rağmen akut Mİ hastalarının büyük bir kısmı bu tedaviye uygun değildir. Hastaların çoğu akut Mİ için 24 saat doğrudan PKG uygulanabilecek hastanelere ulaşamamaktadır. Akut Mİ’nin insidans ve mortalitesinin yüksek olduğu ileri yaş nüfus oranının artması ve bu hastaların fibrinolitik tedaviye uygunluğunun düşük olması nedeni ile, ileriki yıllarda da ölümün önde gelen nedeni olarak kalabilir. Batı tarzı diyet ve yaşam stiline global bir yönelmeden doğan obezite ve diyabet insidansındaki artış da gelecekte koroner arter hastalığına (KAH) bağlı gelişebilecek olayları arttıracaktır (3).

### **1.1.2. Patofizyoloji**

Aterosklerozun akut koroner sendrom (AKS) gibi yaşamı tehdit eden belirtileri genellikle, kan akımında ani ve önemli azalmaya neden olan vazokonstriksiyonun eşlik ettiği ya da etmediği, rüptüre veya erode aterosklerotik plak üzerine yerleşen akut tromboz ile hızlanır (4-6). Ender olgularda, AKS’nin etyolojisi arterit, travma, diseksiyon, tromboembolizm, konjenital anomali, kokain alışkanlığı veya kardiyak kateterizasyon komplikasyonlarının da olduğu gibi aterosklerotik değildir.

### **1.1.2.1. Akut koroner sendrom başlangıcı**

Üç temel fizyopatolojik mekanizma, vasküler inflamasyon ile erken AKS gelişimini birbirine bağlar. Aterosklerotik plak içindeki inflamasyon, monosit toplanması, makrofaj aktivasyonu ve serbest radikallerin salınımı ile görülür. Bunun sonucu, metalloproteinaz aktivasyonu ve plakların destabilizasyonudur. İkincisi, paradoksal vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu, trombin-endotelin-1 salınımı ve sempatik uyarım ile tetiklenen endotel disfonksiyonu ile bağlantılıdır. Üçüncüsü, trombojenite nitrik oksit, prostasiklin, protein C/S ve doku plazminojen aktivatörünün endojen konsantrasyonları ile doku faktörü ve endotel kökenli apoptotik mikropartikülleri içeren plak bileşenlerinin protrombotik uyarısı arasındaki dengesizlikten doğar (7). Koroner aterosklerotik plakta ince ve inflamasyonlu fibröz kılıfın aniden rüptürü kendiliğinden meydana gelebilir, fakat tetikleme de rol oynayabilir ve böylece AKS'nin gelişigüzel olmayan başlangıcını açıklamaya yardımcı olur (8). İleri koroner aterosklerozlu bireylerde egzersiz stres testinin AKS'yi nadiren tetiklediği gerçeği, plak rüptüründe plağın hassaslığının fizyolojik streslerden veya diğer potansiyel tetikleyicilerden daha önemli rol oynadığını düşündürür. AKS'den sonra, takip eden 3-6 ay boyunca tekrarlayan iskemik olay riski yüksektir. Bu "yeni" olayların birçoğu muhtemelen orjinal sorumlu lezyonun yeniden aktivasyonu sonucu oluşur (retromboz) fakat postmortem ve klinik gözlemler, akut koroner sendromlu hastaların çoğunlukla koroner arterlerinde yaygın hastalık aktivitesini gösteren birçok rüptüre ve/veya "aktif" plak bulunduğunu gösterir (9). Takip eden iskemik olaylarda, sorumlu olmayan aktif lezyonların (hassas plaklar) rolü bilinmemektedir.

### **1.1.2.2. Trombotik yanıt**

Dünya çapında yapılan bir araştırmada 1460 koroner trombusun belirlendiği 18 otopsi çalışması gösterilmiştir. Çalışmalarda altta yatan aterosklerotik plak yüzeyinin detaylı değerlendirilmesi yapılmıştır (10). Dünya çapında klinik tablodan (miyokard infarktüsü, ani ölüm vb.) bağımsız ölümcül trombotik olayların yaklaşık %76'sından plak rüptürünün sorumlu olduğu saptanmıştır. Koroner trombozun nedeni olarak plak rüptürü kadınlara göre (%59) erkeklerde (%81) daha yaygın görülmektedir. Birçok çalışma diyabette (çoğunlukla tip 2), sigara kullanımında ve hiperlipidemide belirli bir tromboz tipinin daha çok görüldüğünü bildirmiştir, fakat

cinsiyet ve menopoz dışında hiçbir risk faktörü belirli bir plak tipi veya tromboz mekanizması ile sürekli ilişkilendirilememiştir (10).

Plak gelişimi sırasında çoğunlukla plak yüzeyinde rüptür meydana gelir (11). Rüptür bölgesinde, en çok yeniden kapatıcı küçük mural trombüs oluşur, nadiren büyük ve yaşamı tehdit eden lümen trombozu gelişir. Plak rüptürüne verilen trombotik yanıtın (veya erode plağın üstünde oluşan tromboz miktarının) başlıca üç belirleyicisi vardır: lokal trombojenik substrat, lokal akım bozuklukları ve sistemik trombotik eğilimdir.

**Lokal trombojenik substrat:** Devam eden inflamasyon, özellikle makrofaj infiltrasyonu ve aktivasyonu ve lipid akümüasyonu sadece plağı destabilize etmez aynı zamanda rüptürü kolaylaştırır. Plak rüptüründen sonra, bu plak bileşenleri kan akımına maruz kaldığında aynı zamanda son derece trombojenik görünürler (12). Aktive olmuş makrofajlar doku faktörünü eksprese eder ve lipidden zengin ateromatöz çekirdek, büyük miktarda muhtemelen ölü makrofaj kaynaklı aktif doku faktörü içerir (13,14). Akut koroner sendromlardan sorumlu lezyonlar, kararlı anginadan sorumlu plaklardan daha fazla doku faktörü içerir (15). Lipidden zengin çekirdek içindeki okside lipidler de trombosit agregasyonunu doğrudan artırabilir.

**Lokal akım bozuklukları:** Venöz trombozun aksine, hızlı akım ve yüksek kayma kuvveleri, muhtemelen aşınmaya bağlı trombosit aktivasyonu yoluyla arteriyel tromboza neden olurlar (16). Kan hızının ve aşındırıcı kuvvetlerin en yüksek olduğu şiddetli stenozda, trombositler zengin trombüs gerçekten de oluşabilir. Maruz kalan yüzeydeki düzensizlikler de trombosit aracılı trombüs oluşumunu artırır.

**Sistemik trombotik eğilim:** Koroner tromboz riski taşıyan hastalarda antitrombositler ajanların ve antikoagülanların koruyucu etkisi ile belgelendiği gibi, plak rüptürünün sonucu açısından trombositlerin durumu (aktivasyonu), koagülasyon ve fibrinoliz çok önemlidir. Doku faktörü muhtemelen hem lokal (sorumlu lezyona makrofajlar ile eksprese edilir) hem de sistemik olarak (periferik kanda aktive olmuş lökositler ile eksprese edilir) önemli protrombotik rol oynar (13,15,17).

**Trombositler, fibrin ve trombotik yük:** Koroner trombozda, ilk akım obstrüksiyonu genellikle trombosit agregasyonu nedeniyle olur, fakat ilk ve kırılğan trombüsün stabilizasyonu için fibrin önemlidir. Dolayısıyla, stabil ve kalıcı koroner trombüsün gelişiminde hem trombositler hem de fibrin rol oynar. Trombositler zengin trombüs (makroskopik olarak beyaz), plak bozulma bölgesinde - genellikle ST segment yükselmeli miyokard infarktüsünde (STEMİ) olduğu gibi - lümeni



tamamen tıka, tıkanmanın proksimalindeki ve distalindeki kan durgunlaşacaktır ve pıhtılaşarak ikincil gelişen venöz tip stagnasyon trombozuna (makroskopik olarak kırmızı) neden olabilir. Stagnasyon trombozu, özellikle tıkalı ven greftlerinde toplam trombotik yüke anlamlı derecede katkıda bulunabilir ve böylece rekanalizasyonu engeller. Klinik gözlemler, tıkalı bir veni sadece intravenöz trombolitik tedavi ile hızla rekanalize etmenin gerçekten de çok zor oluğunu gösterir (18).

### **1.1.3. Tanımlama**

2007 yılında yayınlanan bir uzlaşma raporunda (19) akut Mİ tanımı kardiyak biyobelirteçlerde %99 dilimin üst referans değerinden en az bir birim daha fazla yükselmesi sonrasında ve/veya azalmasının saptanmasıyla birlikte iskemi kanıtının olması olarak tanımlanmıştır. İskemi; iskemik semptomlar, elektrokardiyogramda (EKG) patolojik Q dalgalarının gelişmesi veya görüntüleme yöntemleri ile infarktın kanıtlanması olarak tanımlanmıştır. Bu tanımda miyokard iskemisi kanıtının olduğu ani kardiyak ölüm (yeni ST yükselmesi, sol dal bloğu veya koroner trombus), PKG sonrası biyobelirteçlerin 3 katından fazla veya koroner arter bypass greftleme sonrası biyobelirteçlerin 5 katından fazla yükselmesi olarak kabul edilmiştir. Kanıtlanmış stent trombozu da bu tanımlamada kullanılmıştır. Yerleşmiş Mİ ise aşağıdaki kriterlerden herhangi birini sağlayan durum olarak tanımlanmıştır: seri EKG'lerde yeni patolojik Q dalgasının gelişmesi, görüntüleme yöntemleriyle Mİ'nin kanıtlanması, iyileşmiş veya iyileşmekte olan Mİ'nin patolojik bulguları (3).

### **1.1.4. Klinik tanı**

Kardiyak kökenli olduğundan şüphelenilen göğüs ağrısı hikayesi olan her hastaya görüldüğü ilk dakika içinde bir EKG çekilmeli ve reperfüzyon tedavisine uygunluk açısından hızlıca değerlendirilmelidir. Eğer EKG'de akut ST-segment elevasyonu veya yeni gelişen sol dal bloğu varsa, fibrinoliz veya doğrudan PKG ile acil reperfüzyon tedavisi gereklidir. Bu değerlendirme periyodu sırasında, hedefe yönelik tıbbi öykü alınmalı ve fizik inceleme yapılmalıdır. Eğer hastanın öyküsü kardiyak iskemi ile uyumlu ise ve EKG reperfüzyon tedavisi için gerekli kriterleri karşılamıyorsa hastada kararsız anjina veya NSTEMI olabilir.

#### **1.1.4.1. Belirti ve bulgular**

Klasik belirtiler ciddi, ezici hasta tarafından sıkıştırıcı veya baskı hissi şeklinde tarif edilen ve sıklıkla sol kola yansıyan ve kötü sonun yaklaştığı hissi ile birlikte olan substernal göğüs ağrısıdır. Bu rahatsızlık hissi anjina pektoris benzerdir ancak tipik olarak çok daha ciddidir, daha uzun sürelidir (sıklıkla 20 dakikadan daha uzun) ve nitrogliserin veya istirahatle geçmez. Ağrı şiddetinin zirveye ulaşması pulmoner emboli veya aort disseksiyonundaki gibi ani olmaz. Göğüsteki rahatsızlık hissi boyun, çene, sırt, omuz, sağ kol ve epigastrik bölgeye yansıyabilir. Göğüs ağrısı olmaksızın bu bölgelerden herhangi birinde ağrı olması mümkündür. Epigastriyuma lokalize olmuş göğüs ağrısı genelde hazımsızlık ile karıştırılır. Akut Mİ, özellikle postoperatif dönemdeki hastalarda, yaşlılarda ve diabetes mellitus hastalarında göğüs ağrısı olmadan da görülebilir. Eğer göğüs ağrısı sırta yayılıyor ve yırtılma veya bıçak saplanır tarzda tarif ediliyorsa aort disseksiyonundan şüphelenilmelidir. İlişkili semptomlar terleme, nefes darlığı, yorgunluk, baş dönmesi, çarpıntı, akut bilinç bulanıklığı, hazımsızlık, bulantı veya kusma olabilir. Gastrointestinal semptomlar özellikle inferior infarktüste sıktır.

#### **1.1.4.2. Fizik muayene**

Genelde fizik muayene akut Mİ tanısına ek katkı sağlamaz. Ancak akut Mİ taklit edebilecek diğer tanıları ekarte etmek, risk sınıflaması yapmak, gelişen kalp yetmezliğinin tanısını koymak ve akut Mİ sonucu gelişebilecek mekanik komplikasyonları takip etmek amacıyla bazal muayene olması için fizik muayene yapılması çok önemlidir. Tedavi kararı vermeye, hasta ve ailesine bilgi vermeye yardımcı olan risk sınıflaması, hastanın yaşına, kalp hızına, kan basıncına ve pulmoner ödem ve üçüncü kalp sesi (S3) olup olmasına bağlı olarak yapılır. Mitral yetmezlik ve ventriküler septal defekt gibi mekanik komplikasyonlar yeni bir sistolik üfürüm ile tanınabilir. Bu komplikasyonların erken tanınması, bazal ve hastanede yattığı sürece yapılan muayene bulgularının iyi dökümanite edilmiş olmasına dayanır.

#### **1.1.5. Laboratuvar incelemesi**

*Kreatin kinaz:* ST segment elevasyonu olan bir hastada akut Mİ tanısı için yükselmiş kreatin kinaz (CK) seviyesi nadiren faydalıdır. Çünkü genelde tespit edilebilir CK yüksekliklerine 4 - 6 saat içinde ulaşılmaktadır, bu nedenle normal

seviyeler yeni gelişmiş tam bir tıkanıklık anlamına gelebilir. CK ve CK-MB (miyokardiyal band) seviyeleri yaygın ST elevasyonuna yol açan perikardit ve miyokardit varlığında da yükselebilir. CK seviyeleri tanıdan ziyade akut Mİ'nin boyutunu ve zamanını belirlemede faydalıdır. CK seviyeleri 24 saat içinde zirve yapar ama zirve CK seviyelerinin başarılı reperfüzyon yapılan hastalarda daha erken olduğu düşünülmektedir. CK yüksekliğinin yanlış pozitif sonuçları iskelet kası hastalıkları veya travma (rabdomiyoliz gibi) benzeri birçok durumda görülebilir.

**Troponinler:** Troponin T ve troponin I testleri, yüksek duyarlılıkları, yatak başı hızlı uygulanabilme ve yorumlanabilme özellikleri ve neredeyse tüm dünyada yaygın kullanımı olması nedeniyle kararsız anjina ve NSTEMİ tanı ve tedavi yönetiminde oldukça yararlıdır. Ancak, oklüzyon ve tespit edilebilir serum seviyelerinin gelişmesi arasında geçen zaman (3 ile 6 saat) akut STEMİ tamsındaki yararlılığını kısıtlamaktadır. Veriler, akut Mİ'den 72 saat sonra ölçülen tek bir troponin T konsantrasyonunun, reperfüzyondan bağımsız olarak Mİ genişliğini tahmin edeceğini göstermiştir (20). İskemik kalp hastalığı olmadan, konjestif kalp yetmezliği (KKY), aort diseksiyonu, hipertrofik kardiyomiyopati, pulmoner emboli, akut nörolojik hastalık, kardiyak kontüzyon veya ilaç toksisitesi ile de troponin yükselmesi gözlenebilir.

### **1.1.6. Tamsal testler**

#### **1.1.6.1. Elektrokardiyogram**

Akut Mİ'nin kesin elektrokardiyografik tanısı için, iki veya daha fazla komşu derivasyonda 1 mm veya daha fazla ST elevasyonu ve karşı derivasyonlarda resiprokal ST depresyonu gerekir. V2 ve V3 derivasyonlarında erkekte 2 mm, kadında 1.5 mm ST yükselmesi kesin tanı için gereklidir. ST segment elevasyonu infarkt-ilişkili arter ve ölüm riski ile bağlantılı olarak alt gruplara ayrılabilir.

Akut Mİ belirtilerinin başlanması ile beraber yeni gelişen LBBB proksimal sol anterior inen koroner arteri içeren geniş, ön duvar akut Mİ'yi gösterir ve akut STEMİ gibi yönetilmelidir. Sağ dal bloğu (RBBB) V1 - V3 derivasyonlarındaki ST elevasyonunun yorumlanmasını zorlaştırır. V1 - V3 veya V4'de RBBB olan hastada normal sekonder T dalgası değişiklikleri (QRS kompleksi sonundaki defleksiyonunun tersi, gibi) QRS ile aynı polariteye sahip T dalgalarıyla yer değiştirdiyse (psödonormalizasyon gibi) anterior akut Mİ tanısı koymak mümkündür. RBBB varlığı diğer derivasyonlardaki ST elevasyonunu gizlemez.

### **1.1.6.2. Ekokardiyografi**

Ekokardiyografi ne kadar süredir olduğu bilinmeyen LBBB değerlendirmesinde duvar hareket bozukluğu olmaması durumunda devam eden belirtilerin akut Mİ'ye bağlı olmadığını göstermek açısından faydalıdır.

### **1.1.7. Risk sınıflaması**

Akut Mİ hastasında ölüm riskini tahmin etmek mümkündür ve yararlıdır. Bu tahmin tedavi kararında, önerilerin yapılmasında, hasta ve ailesine danışmanlık verilmesinde yardımcı olur. 30 günlük mortalitenin öngörülmesinde %90 üzerinde prognostik bilgi sağlayacak beş basit temel parametre bildirilmiştir: yaş, sistolik kan basıncı, Killip sınıflaması, kalp hızı ve Mİ yerleşimi (21).

### **1.1.8. Tedavi**

#### **1.1.8.1. Oral antiplatelet tedavi**

Gerçek bir aspirin allerjisi (intolerans değil) öyküsü olmayan, akut Mİ olan hastaya en kısa sürede aspirin verilmelidir. Aspirin tedavisi mortalite için streptokinaz kadar yararlı sonuç verir ve kombinasyon aditif yarar sağlar (22). Eğer gerçek aspirin allerjisi mevcutsa klopidogrel monoterapisi en iyi alternatiftir. Yakın zamanda verilen klopidogrel ve aspirin STEMİ'de PKG veya fibrinoliz tedavilerinden bağımsız olarak eklenmesi gerektiğini göstermektedir. CLARİTY-TİMİ 28 çalışması (23) fibrinolitik tedaviyle tedavi edilen ve birçoğunda daha sonra PKG (~%57) yapılan hastalarda öncesinde klopidogrel verilmesinin, kanamayı artırmadan, güvenilir ve etkili olduğunu göstermiştir. Klopidogrel tedavisi ile kardiyovasküler ölüm, re-infarktüs ve revaskülarizasyondan oluşan birleşik sonlanım noktalarında %14.1'den %11.6'ya azalma gözlenmiştir (p=0.03). Daha sonraki COMMİT/CCS-2 (24) adlı büyük randomize çift kör plasebo kontrollü bir çalışmada (n=22,891) majör kanama riskinde artış olmadan, tüm nedenlere bağlı ölümlerde belirgin bir azalma saptanmıştır. Toplam 300 mg oral yükleme dozu verildikten sonra günde 75 mg ile devam edilir. KABC planlanan hastalarda, acil revaskülarizasyon gerekmedikçe, cerrahi öncesi en az 5-7 gün beklenilmesi önerilir.

#### **1.1.8.2. Fibrinolitik tedavi**

Erken fibrinolitik tedavinin hayat kurtarabilme özelliği 1986'daki GİSSİ I çalışmasından (25) başlayarak açık bir şekilde ortaya konulmuştur. Toplanmış veriler mortalitede göreceli azalmanın %18, net azalmanın %2 civarında olduğunu gösterir.

Normal sol ventrikül fonksiyonlarının korunması daha belirgin uzun dönem kazanç ile sonuçlanabilir.

**Alteplaz (tPA):** The Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries (GUSTO I) çalışması akselere alteplaz kullanımının, subkütan veya intravenöz heparinle beraber streptokinaz (SK) kullanımına kıyasla 30 günlük mortaliteyi anlamlı şekilde %15 oranında azalttığını göstermiştir (26). Bu mortalite azalması SK ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek olan 90. dakika TIMI (Thrombolysis in Myocardial Infarction) 3 akımı ile orantılıdır (%54 ve %31,  $p<0.0001$ ). Alteplaz, pıhtıya bağlı fibrin için rölatif bir seçicilik gösterdiğinden fibrin-spesifik ajan olarak kabul edilir.

**Retep plaz:** Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanım onayı alan üçüncü kuşak fibrinolitik ilaçların ilkidir ve daha az fibrin-spesifik olan bir alteplaz mutantıdır. Retep plaz alteplazdan daha uzun süreli yarı ömre sahiptir ve çift bolüs olarak uygulanabilir. Gusto III çalışması (27) reteplaz ile mortalite yararının alteplaza göre farklı olmadığını göstermiştir ancak kullanımının kolay olması uygulama zamanını azaltmak açısından faydalıdır.

**Tenekteplaz (TNK):** Diğer bir üçüncü kuşak fibrinolitik, yüksek fibrin spesifikliğı, plazminojen aktivatör inhibitörüne (PAI-1) karşı artmış direncinin olması ve azalmış plazma klerensi ile karakterizedir. Bu özellikleri tek bir bolüs şeklinde uygulanmasına izin verir The Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic (ASSENT 2) çalışması 30 günlük mortalite açısından TNK ve tPA arasında farklılık bulmamıştır (28). Ancak, TNK ile anlamlı derecede az serebral olmayan kanama görülmüş ve semptomların başlanmasından 4 saat sonra tedavi edilen hastalarda mortalitede iyileşme görülmüştür.

**Streptokinaz (SK):** İlk jenerasyon fibrin spesifik olmayan fibrinolitik ajan olan SK, ikinci veya üçüncü kuşak ajanlar temin edilemediğı veya kısıtlı finans kaynakları nedeniyle kullanılmadığı zamanlarda yeni ajanlara alternatif oluşturur. Antikor gelişmesi ihtimali nedeniyle geçmişte uygulanmış hastalarda SK uygulanmamalıdır. İntraserebral kanama oranı SK'da (%0.5) tPA'dan (%0.7) daha düşük olduğundan bazı kardiyologlar, SVO öyküsü olan veya ciddi hipertansiyonu olanlar gibi yüksek riskli hastaların tedavisinde SK kullanılmasını savunur. SK fibrin spesifik olmayan, dolaşımda olan veya pıhtıya bağlı plazminojeni plazmine yıkma kapasitesi olan bir ajandır. Bu süreç önemli miktarda sistemik fibrinolitik, fibrinolitik ve fibrin yıkım ürünlerinde artış ile sonuçlanır (3).

## 1.2. TROMBOSİT FONKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Normal fizyolojik koşullar altında damar hasarı görüldüğünde, dolaşımdaki trombositlerin görevi kan kaybını engellemektir. Bu süreç trombositlerin subendotele hızlı bir şekilde adezyonu (von Willebrand Faktörün ve kollajenin yardımı) ile başlar, trombosit kümelerinin oluşması ile sürer. Trombosit granüllerinde salgılanan maddeler agregasyonu bir sonraki boyuta taşır ve nihayet zarar gören damar duvarı üzerinde geçici bir trombosit pıhtısı yaratır (primer hemostaz). Aynı anda trombositler pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonunu içeren bir dizi adımla koagülasyon kaskadını desteklerler. Bu da fibrin oluşumunu sağlayan sekonder hemostazdır (29). Sekonder hemostazda ilk olarak daha gevşek bir yapıya sahip fibrin oluşumu söz konusudur. Çapraz bağlı fibrin yapılarının meydana gelmesi ile pıhtı daha dayanıklı hale gelir ve yara iyileşinceye kadar bu yapılanma sürer. Pıhtıya ihtiyaç kalmadığı noktada diğer faktörler devreye girerek fibrinolizisi başlatır ve pıhtıyı uzaklaştırırlar. Arteriyel tromboz, ateroskleroz gibi patolojik koşullarda ise trombositler bu hastalıkların başlamasına katkıda bulunurlar. Trombositlerden vasküler inflamasyona neden olan kemokin ve sitokinler granüllerinden salınırken, vasküler duvar hücrelerinden ise trombositleri aktive eden maddeler salınır. Dokulara giden kan desteği sınırlandığından, bu bölgelerde lokal iskemi görülebilir veya trombositler aterosklerotik lezyon gelişimine katkıda bulunabilir (30). Kardiyovasküler hastalık tanısı konmuş bireylerde trombosit fonksiyon takibi üzerine yapılan çalışmalar, antitrombotik tedaviye cevap vermeyen olguların klinik önemlerine rağmen tartışmalı bilgilere dayanmaktadır (31,32). Hastaların antitrombotik tedaviye cevaplarındaki farklılık 1000’li yılların ortalarında gündeme taşınmıştır (33). Bu tarihten itibaren hastaların klinik takiplerinde direnç çalışmaları hız kazanmış ve uluslararası kardiyovasküler toplantılarında bu konu tartışılmaya başlanmıştır (34,35). Son yıllarda ise, antitrombotik tedavi sonrası tespit edilen artmış trombosit aktivasyonu, perkütan revaskülarizasyon yapılan hastalardaki klopidogrel direnci ve artmış iskemik komplikasyonlar (stent trombozu gibi) arasındaki ilişkiler incelenmeye başlanmıştır (35,36). Klopidogrel tedavisine alınan hasta cevabındaki farklılıklar, farmakodinamik yaklaşımlarla yeni dönem P2Y12 reseptör inhibitörlerinin gelişmesine neden olmuştur (37). Aynı şekilde aspirin tedavisine alınamayan yanıtlara bağlı olarak, hastalardaki kötü klinik sonuçların izlenmesi önemli tartışmalar yaratmıştır (32,38,39). Buradaki en büyük sıkıntı, laboratuvar ortamındaki testlerle, in vivo trombosit fonksiyon testlerinin

örtüşmemesidir (40). Bu derlemede kardiyovasküler hastalıklarda trombosit fonksiyon ve aktivasyonunu ölçmek için kullanılan yöntemler arasındaki farklılıklar tartışılmış, antitrombotik cevaplardaki farklılıklar özetlenmiş ve laboratuvar ortamındaki testlerle antitrombotik tedaviye cevap alınamayan hastalardaki oranların verildiği araştırmalar incelenmiştir.

### **1.2.1. Trombosit fonksiyonunun ölçülmesinde geçerli klinik testler**

Trombositler, kendilerini uyarıcı veya baskılayan çeşitli faktörlere bağlı olarak fonksiyonlarında değişiklikler gösterirler. Artmış trombosit aktivasyonu akut (koroner sendromlar gibi) veya kronik iskemik kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda rol oynar. Kardiyovasküler hastalık patogeneğinde rol oynayan trombositlerin, antitrombotik tedavi ile kontrol edilmesi ve klinik gelişmelerin takibi trombosit fonksiyon testleri ile mümkündür. Bu durumda yapılan testin amacına göre "doğru test" kavramı karşımıza çıkar. Son zamanlarda klinikte ve araştırmalarda antitrombotik tedavileri ve pre-hemostatik etkileri takip amacıyla trombosit fonksiyon testleri kullanıma girmiştir. Son olarak da, transfüzyon tıp biliminde kullanılan trombosit fonksiyon testleri kullanılmaya başlanmıştır. Koroner arter hastalığı olan vakalar içinse, trombosit fonksiyon testleri tahmini klinik sonuçları tespit etmek ve antitrombotik tedaviyi değerlendirmek amacı ile kullanılmaktadır. Örneğin trombotik riski yüksek olan hastalarda aspirin ile tedavi, riskte %25 azalmaya neden olurken, uzun dönemli tedavi ile diğer trombotik patolojilerin oluşma riski de %10-20 dolaylarında olmaktadır (41). Muhtemelen bu hastalar klopidogrel veya doğrudan trombositleri hedef alan farklı ajanlarla uygulanan tedavilere ihtiyaç duyacaklardır. Bu durumda aspirin veya klopidogrel trombositi cevabına karşı klinik "direncini" test edecek standart bir laboratuvar yöntemi olması önem kazanmaktadır.

### **1.2.1. Klinik değerlendirmelerde trombosit fonksiyonlarının kullanımı**

Trombosit fonksiyon testlerinin altın standardı "Light Transmittance Aggregometry" (türbidimetrik, LTA)'dir. Prensibi, çeşitli agonistler varlığında uyarılan trombositin zengin plazmada trombosit-trombosit agregasyonunu takip etmektir. Agonist olarak kullanılan ajanların özelliğine bağlı olarak trombosit agregasyonunun şiddeti değişmektedir. LTA, aspirin, klopidogrel, diğer P2Y<sub>12</sub> inhibitörleri, trombosit glikoprotein IIb/IIIa (GpIIb/IIIa) inhibitörleri gibi

antitrombosit ajanların etkisini takip etmek için yaygın olarak kullanılan bir cihazdır (42). Bu yöntemle trombosit GpIIb/IIIa'nın agregasyonu başarı ile ölçülmesine rağmen, potansiyel dezavantajları arasında, örnek çalışma süresinin sınırlı olması, tekrarlanabilirlik oranında farklılık, büyük örnek hacimlerine gereksinim duyulması, yöntemin oluşan mikro-agregatlara hassas olmayışı, uzun işlem süreci, agregometrenin pahalı olması ve uzman bir kişiye ihtiyaç duyulması sayılabilir. Impedance agregometri ise LTA'ya benzer, ancak LTA'da materyal trombositler zengin plazma (TZP) veya yıkanmış trombositler iken, impedans agregometride kullanılan materyal tam kandır ve ışık geçirgenliği yerine dirence bağlı olarak (impedance) ölçüm yapılmaktadır. Trombositler, bir agonistle uyarıldıklarında, elektrotların çevresinde agregat olurlar ve elektrik direnci artar. Impedans agregometri, organik nitratların disagregatör kapasitesi de dahil olmak üzere pek çok alanda kullanılmaktadır.

### **1.2.1. Trombosit aktivasyon indikatörleri**

Trombosit aktivasyonuna bağlı olarak, trombositlerde şekil değişikliği, agregasyon ve trombosit spesifik ürünlerin granül depolarından salınması gerçekleşir. Örneğin, trombosit faktör-4 (PAF-4) (43) ve beta-tromboglobulin (44) ELISA veya radyoaktif etiketleme ile yapılan immunolojik testlerle kolaylıkla kantite edilebilir. Serum tromboksan B2 ve idrar II-dehidrotromboksan B2 aspirine cevabın tayini için ölçülen trombosit aktivasyon göstergeleridir (45).

### **1.2.1. Reseptör ekspresyonu**

Aktivasyon bağımlı reseptörlerin trombositlerin istirahatteki tespiti veya uyarılmış durumdaki ekspresyonu monoklonal antikorlar kullanılarak akım sitometre ile kantitatif olarak tayin edilebilir. Bu teknik, özellikle farmakolojik etkilerin tayini için uygulanabilir. Bu konuda en çok çalışma trombosit P-selektin ve GpIIb/IIIa reseptör ekspresyonunu içerir (46,47). Trombosit-lökosit agregatlarının ve trombosit aktivasyon bağımlı indikatörlerin akım sitometre ile takibi trombosit aktivasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemle daha çok akut koroner sendrom takibinde P-selektin karşılaştırması yer alır (48,49). Artmış trombosit P-selektin, atrial fibrilasyonlu hastalarda sessiz serebral infarkt için bir risk faktörüdür (50). Ancak dolaşımdaki monosit-trombosit agregatları stabil seyirli koroner arter hastalıklarının, perkütan koroner girişimler sonrası ve akut miyokard infarktüsünün



klirik değerlendirmesinde, in vivo trombosit aktivasyonunda yzey P-selektin değerlerini olęmekten daha hassas bir yntemdir (51). Hatta dolaşımdaki monosit-trombosit agregatları, akut miyokard infarktüsünün erken belirteci olarak kabul edilebilir (52). Kararsız anjina pektorisli hastalarda iskemik semptomların başlamasından sonraki ilk 12 saat içinde plazma CD40L olęülmesi, abciximab tedavisinden büyük yarar sağlayan bir hasta grubu oluşmasına yardımcı olmuştur (53). Akım sitometre ile GpIIb/IIIa reseptörünün aktivasyonuna bağlı değişiklikler araştırılırken (46,54), diğer yandan trombositlerden salınan proteinler (trombospondin) (55) ve fosfotidil serine bağlanan faktör Va, VIIIa ve anneksin V'in analizleri yapılmaktadır (56,57). Reseptör ekspresyonu ve klinik sonuçlar arasındaki ilişki konusunda daha az bilgimiz vardır. Bu konudaki en büyük sıkıntı, kullanılan tekniğin kompleks oluşu, uzman laboratuvar ęalıřanına ihtiyaç duyulması ve pahalı bir yntem olmasıdır.

### 1.2.1. Hücre içi sinyal ileti

Trombosit yzeyindeki P2Y12 reseptörünün, inhibitörler kullanılarak kapatılması ve reseptör aktivitesinin olęülmesi için kullanılan yntemlerden biri vazodilatör uyarımlı fosfoprotein (VASP) testidir (58). Trombosit yzeyindeki adozin difosfat (ADP) uyarımlı iki ayrı reseptör (P2Y1 ve P2Y12) spesifik sinyal yolunu etkiler. Olęülebilir cevaplar:

**a. Reseptör reaktivitesi:** P2Y12 reseptöründen hücre içi sinyal akışı akım sitometre ile olęülür. Vazodilatör uyarımlı fosfoprotein (VASP) fosforilasyonu monoklonal antikorlarla olęülür.

**b. Aktivasyon bağımlı reseptör ekspresyonu:** Aktif GpIIb/IIIa ve P-selektin akım sitometre'de monoklonal antikorlarla olęülür.

Agregasyon, türbidimetrik agregometre (LTA) ile tayin edilir. Fibrinojen kaplı boncuklarla trombosit agregasyonu, "VerifyNow" veya tromboelastografi (TEG) ile trombosit-fibrin pıhtı dayanıklılığının trombosit agregasyonuna katkısı olarak değerlendirilebilir.

Akım sitometresi ve trombosit membran geçirgenliği yntemleri sayesinde bloke olmayan P2Y12 reseptörünü belirlemek kadar, monoklonal antikorlarla fosforillenmiş VASP'ın miktarlarını olęmek de mümkündür (58). P2Y12'nin sinyal yolağındaki özgülüğü ve agregometrik tayine göre yntemin tekrarlanabilir olması avantajları arasında sayılabilir (54).

### 1.2.1. Yatan hasta için uygulanan trombosit fonksiyon testleri

Bu testlerin amacı endotel hasarından sonra dolaşımında meydana gelebilecek trombosit zengin pıhtı oluşumunu ölçmektir. "VerifyNow" yöntemi (Accumetrics), aspirine, P2Y12 veya GpIIb/IIIa inhibitörlerine trombositlerde oluşan cevabın izlenmesi için trombin-reseptör aktive edici peptid (TRAP), adenosin difosfat (ADP) ve araziidonik asit (AA) gibi ajanların kullanıldığı bir yöntemdir (59). Bu teknikte fibrinojen kaplı boncuklar kullanılarak trombosit agregasyonu ölçülür ve genellikle perkütan koroner girişim (PKG) uygulaması yapılacak hastalarda sonuçların önceden değerlendirilebilmesi için tercih edilir. "VerifyNow" yönteminin kullanım kolaylığı olması bir avantajdır, ayrıca sonuçların türbidimetrik agregometre ile korelasyonu sağlanmaktadır.

Tromboelastografi (TEG) ile trombosit fonksiyonlarını haritalama tekniği sayesinde, trombosit-fibrin pıhtısının dayanıklılığına ADP veya AA ile uyarılmış trombosit agregasyonunun katkısı ölçülebilir ve türbidimetrik agregometre ile sonuçlar arası ilişki kurulabilir (60). Tromboelastografide örneklerin hazırlanması "VerifyNow"dan daha karmaşıktır, ancak TEG ile koagülasyon ölçümü sağlanabilmektedir. Trombosit-fibrin ilişkisi, trombin oluşumunun kinetiği, trombosit-fibrin pıhtı oluşum başlangıç zamanı veya trombosit-fibrin pıhtı dayanıklılığının ölçümleri iskemik vakaların tahmininde çok değerlidir. Son yıllarda TEG ölçümleri ve PKG sonrası iskemik vakaların takibinin yapıldığı LTA yöntemlerinin karşılaştırılması yapılmaktadır (61).

Klasik agregometrik yöntemlerle in vivo oluşan fizyolojik olayların tümünü (trombosit adezyonu gibi) takip etmek mümkün değildir. Bu nedenle trombosit fonksiyonlarını ölçebilecek sistemler geliştirilmektedir. "Impact cone-and plate(let)" analizi ile akış şartları altında ekstrasellüler matrikse trombositlerin adezyonunu izlemek mümkün olmaktadır. Analizör, "cone" ve trombosit bölümlerinden oluşmaktadır. İki dakikalık süreç içinde tam kan kullanılarak arteriyel akış şartları yaratılarak, hücre dışı matrikste trombosit adezyon ve agregatlarının oluşumu bir görüntüleme ünitesi ile tespit edilmektedir (62).

Kardiyovasküler hastalıklarda kullanılan trombosit fonksiyon testlerinin hiçbiri standart klinik bakımın bir parçası olmak için önerilecek konumda değildir, çünkü tedavinin parçası olabilmek için gerekli yeterli sayıda büyük klinik vakalarda çalışılmalar bildirilmemiştir (68).

## **1.2.1. Trombosit Agregasyonu Ölçüm Metodları**

### **1.2.7.1. Turbidimetrik (Optik) Agregometri:**

Optik agregometri ile agonistler (ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin vb.) bir manyetik düzenek yardımıyla karıştırılan sitratla antikoagüle edilmiş trombositlerden zengin plazma örneğine eklenince trombositlerde şekil değişikliğini ve takiben agregasyonu indüklerler. Sonuçta, bulanık bir süspansiyon olan trombositlerden zengin plazma agregatları oluştuğunda saydamlaşarak ışık geçirmeye başlar. Agregometre, trombosit süspansiyonunun ışık geçirgenliğindeki değişimi kaydeder. Geçirgenlikteki artış indirekt olarak agregatların oluştuğunu gösterir. Optik agregometri yöntemi; kan örneklerinin hazırlanmasında güçlükler içermesi, tetkik prosedürü bakımından yüksek oranda testi yapan kişiye bağımlı oluşu ve zaman alıcı bir işlem oluşu nedeniyle günlük pratikte zorlukla uygulanabilen bir yöntemdir. Bu nedenlere bağlı olarak yaygın olarak kullanılamamaktadır (69).

### **1.2.7.2. İmpedans Agregometri:**

Bu yöntem 1980 yılında Cardinal ve Flower tarafından bulunmuştur. Bu sistemde trombositlerden zengin plazmanın yerine antikoagüle edilmiş tam kan kullanılır. Işık geçirgenliği yerine iki elektrod arasındaki elektriksel impedans (direnc) değişimi ölçülür. İstirahat halinde trombositler trombojenik değildir. Uyarılan trombositler agregatları oluşup elektrodlara yapıştıkça impedans artar.

### **1.2.7.3. Trombosit Sayım Yöntemi:**

Turbidimetrik ve impedans agregometri yöntemleri ile küçük trombosit agregatlarının oluşumu ölçülemez. Dolayısıyla, agonist eklenmesini takiben trombosit karışımında erken dönemde meydana gelen değişiklikler kaydedilemez. Trombosit sayım yönteminde agonist ile stimülasyonu takiben tek başına duran trombositlerin sayısındaki azalma ölçülür.

### **1.2.7.4. Fibrinojen Bağlanması Tetkik Edilmesi:**

Trombosit agregasyonunun gerçekleşmesini sağlayan temel reaksiyon olan aktif GpIIb/IIIa reseptörü ile fibrinojenin bağlanması 125-I işaretli fibrinojen kullanılarak radyoimmünoassay yöntemi ile tetkik edilebilir. Trombosit agregasyonu sırasında gerçekleşen yoğun granül, alfa granül ve eikozanoid sekresyonları da

ölçülebilmektedir. Böylece trombositlerin agregasyonları, aktivite düzeyleri ve fonksiyonel kapasiteleri konusunda fikir edinilebilir.

### **1.2.1. Otomatik testler**

#### **1.2.1. Platelet Function Analyzer (PFA-100):**

PFA-100 in vitro koşullarda primer hemostazı taklit eden bir sistemdir. Cihaz sodyum sitrat ile antikoagüle edilen 800 µL tam kan örneğini 147 µm çapında bir açıklıktan kollajen ve diğer trombosit aktive ediciler ile kaplı bir membranın içine doğru aspire eder. Trombositler membran ile etkileşime girerler ve bu olay açıklığın tam kapanması ile sonuçlanır. PFA-100 testin başlangıcından bu açıklığın trombosit tıkaç ile kapanması arasında geçen zamanı ölçer. Kapanma zamanı (KZ, closure time=CT) olarak ifade edilen bu süre in vitro trombosit fonksiyonlarını gösterir. Kararlı angina pectorisli hastalarda, platelet function analyzer-100 (PFA-100) ile koroner anjiografideki koroner arter darlığının varlığında ve yokluğunda kanama zamanı öngörülebilir, böylece potansiyel hatalardan sakınılmış olunur. PFA-100 ile akut miyokard enfarktüsünde pıhtılaşma zamanı ölçülerek miyokard hasarının şiddeti tahmin edilebilir (63). PFA-100 şiddetli trombosit defekti veya vWF hastalığı olanları belirlemede de kullanılmaktadır (64). Ayrıca bu yöntem ile trombosit fonksiyonuna sistemik inflamasyonun katkısı ve koroner girişim sırasında GpIIb/IIIa farmakoterapisinin etkileri izlenmektedir (65,66).

#### **1.2.1. Ultegra RPFA:**

Trombosit fonksiyonlarının incelenmesinde kullanılan hızlı basit ve doğru sonuç veren turbidimetrik bir yöntemdir. Optik agregometri ile iyi korelasyon gösterir (59). Tam kanda trombosit GpIIb/IIIa reseptör sayısına bağlı olarak fibrinojen kaplı boncuklarla aglütinasyon takip edilir (67). Trombosit agregasyon ve aktivasyon yorumları ile GpIIb/IIIa'ya fibrinojen bağlanması değerlendirmeleri yapılabilmektedir.

### 1.2.1. Multipl Electrode Aggregometry (MEA) (multiplate analyzer):

Tam kanda (fizyolojik ortam) impedans metodu ile hızlı bir şekilde trombosit fonksiyonlarının ölçüldüğü en güncel yöntemdir.

Multiplate Analyzer, MEA metodu ile ölçüm yapan otomatik bir sistemdir. 5 dakika içinde ölçüm yapılabilmektedir. Ölçüm yapılacak ilacı kanında bulunduran hastadan hirudin içeren tüplere kan alınır. Hirudin iki değerli katyonların konsantrasyonlarını çok düşürmeden koagülasyonu engellediği için sitrata göre üstündür (sitrata trombosit agregasyonu çalışmalarının konvansiyonel antikoagülanıdır). Tek kullanımlık iki çift elektrot içeren test hücreleri kullanılır. 3 ml hirudinli kan dilue edilir ve 3 dakika inkubasyona alınır. Ölçülecek ilacın agonistini içeren kartuş kullanılarak ortama agonist madde verilir. Sensörler tüm işlem boyunca agregasyon olan ve elektrotlara yapışan trombositlerin meydana getirdiği direnç değişimlerini kaydederler. Sensör tellere yapışan trombositler ile artan direnç cihaz tarafından agregasyon birimine (AU) çevrilerek grafik çizilir. Üç parametre ölçülür, çizginin maksimum yüksekliği agregasyonu verirken, çizginin en dik eğimi hızı verir. Bu değerler deneysel çalışmalarda kullanılır. En önemli parametre agregasyon çizgisi altında kalan alandır (AUC). Bu değer trombosit aktivitesini en iyi yansıtan parametredir.

Sibbing ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 600 mg klopidogrel yüklemesi öncesi ve sonrası örnek almışlar ve MEA ile optik agregometri ile çalışmışlardır. Çalışmanın sonucunda MEA ile ölçülen trombosit agregasyonunda klopidogrel tedavisi sonrası ciddi azalma tespit edilmiştir ( $p < 0.0001$ ). Ayrıca MEA ve optik agregometri karşılaştırmasında MEA ile elde edilen sonuçlar optik agregometri sonuçları ile uyumlu bulunmuştur (70). Eritrositlerin trombosit fonksiyonları üzerine düzenleyici etkileri bulunduğu için tam kanın klopidogrel etkilerinin tespitinde daha duyarlı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca PFA-100 vakaların çoğunda klopidogrel etkilerinin değerlendirilmesinde yetersiz kalmıştır (71). Eritrositlerin trombosit fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında MEA sonuçlarının çalışmalarda gold standart olarak kullanılan optik agregometri ile uyumlu olduğu söylenebilir (70).

### 1.3. ANTİTROMBOSİTER TEDAVİ

Trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu, akut koroner sendromlar ve perkütan koroner girişim sırasında ve sonrasında iskemik olayların gelişiminde kilit patofizyolojik rol oynarlar (72). Adenozin difosfat (ADP) birincil agonistler tarafından aktive edilen trombositlerin yoğun granüllerinden salgılanan önemli bir ikincil agonistdir. ADP-P2Y12 reseptör etkileşimi damar duvarı hasarı yerinde istikrarlı trombositlerle zengin trombüs oluşumuna neden olan glikoprotein (GP) IIb/IIIa reseptörlerinin sürekli aktivasyonunda önemli bir rol oynar (73). Bu nedenle aktif metaboliti P2Y12 reseptörünü geri dönüşümsüz inhibe eden klopidogrel koroner arter hastalığının ikincil önlenmesinde, AKS acil tedavisinde antiplatelet tedavisinin köşe taşıdır (74). Koroner arter hastalığı olanlarda aspirin tedavisine klopidogrel eklenmesi ile iskemik komplikasyonlarda önemli azalma olmaktadır (75,76). Klinik çalışmalarda kullanılan ve güncel kılavuzlar tarafından önerilen sabit dozlu "bir boy hepsine uyar" tedavi stratejili klopidogrel tedavisi klopidogrelle yanıtın bireyler arası farmakokinetik değişkenliğini dikkate almamaktadır (75-77). Ayrıca, bazı hastalarda klopidogrelin güçlü antiplatelet etkisi olmasına rağmen tedavi altında yüksek trombosit reaktivitesi ile ilişkili olan stent trombozu dahil iskemik olaylar ile tedavi başarısızlığı yaşanabilmektedir (78).

Bu gözlemler klopidogrelin farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri ile ilişkili araştırmaların yapılmasına neden olmuştur. Klopidogrel tedavisi verilen hastalarda trombosit fonksiyonlarını değerlendiren çalışmalarda gösterilmiştir ki, hedeflerinin (COX-1 enzimi ve GP IIb/IIIa reseptörü) daha homojen bir şekilde ve yüksek düzeyde (%95) inhibisyonunu sağlayan aspirin ve GP IIb/IIIa reseptör blokerleri tedavilerinden farklı olarak klopidogrel yüksek yüklenme dozlarında kullanıldığında bile değişken ve yetersiz P2Y12 inhibisyonu sağlanmaktadır (75,77,79-81). Farklı yanıt değişkenliği yanı sıra, hastaların önemli bir kısmı da klopidogrelle tam yanıtızsızlık (direnc) sergilemektedir (81). Yapılan bir çok çalışma klopidogrel tedavisine yanıtızsızlık ve/veya farklı trombosit reaktivitesi ölçüm testleri ile kanıtlanmış yüksek tedavi altında (ontreatment) trombosit reaktivitesi ile istenmeyen klinik iskemik olaylar arasında ilişki olduğunu göstermiştir (78). Ancak, yüksek trombosit reaktivitesi ve klinik risk ile ilişkili limit değerlerini ölçmek için uygun yöntemler konusunda bir fikir birliğinin olmaması nedeni ile, trombosit reaktivitesinin rutin ölçümü güncel kılavuzlar tarafından klinik pratikte uygulanması tavsiye edilmemektedir (82). Buna ek olarak trombosit fonksiyonu ölçümlerine

dayalı tedavi değişikliklerinin klinik sonuçları iyileştirmesi teorisini destekleyen çok sınırlı veri mevcuttur (78).

### 1.3.1. Klopidoğrel metabolizması

Klopidoğrel antitrombositer etki oluşturmak için karaciğerde aktif bir metabolite dönüşüm gerektiren bir ön ilaçtır. Emilmiş klopidoğrelin büyük kısmı (%85-90 kadarı) karboksilaz tarafından inaktif karboksilik asit metabolitine (SR26334) kadar hidrolize uğrar, kalan %10-15 kısmı hepatik sitokrom (CYP) P450 izoenzimi tarafından iki aşamalı olarak metabolize edilir. İlk aşamada klopidoğrelin tiofen halkası 2-okso-klopidoğrele oksitlenir ki bu molekül de sonradan karboksilik asit ve tiol gruplarına sahip son derece dayanıksız aktif metabolite (R-130964) hidrolize olur (83-85). Yapılan son çalışmalar göstermiştir ki, CYP2C19, CYP1A2 ve CYP2B6 izoenzimleri ilk metabolik aşamadan, CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6 ve CYP3A4 izoenzimleri ise metabolizmanın ikinci aşamasından sorumluluk taşırlar (83,84).

Son derece dayanıksız aktif metabolit R-130964 hepatik sirkülasyondan geçişi sırasında kovalentli olarak spesifik ve geri dönüşümsüz trombosit P2Y12 reseptörüne bağlanır ki bu da trombositin tüm ömrü boyunca ADP ile indüklenen trombosit aktivasyonuna-agregasyonun inhibisyonuna neden olur (86). Bu metabolik aktivasyon şeması klopidoğrelin tekrarlanan günlük doz tedavisi sonrası ve ilacın kesilmesini takiben trombosit fonksiyonlarının yavaş geri dönüşümünden görüldüğü gibi ADP ile indüklenen trombosit agregasyonunun zamana bağımlı kümülatif inhibisyonu ile ilişkilidir (75,87,88).

Yapılan çalışmalar sonrası bir çok kanıtlar göstermektedir ki değişken ve yetersiz aktif metabolit oluşumu klopidoğrele yanıt değişkenliğinin ve yanıtızlığın birincil açıklamasıdır (80). Klopidoğrel alımı sonrası aktif metabolitin değişken düzeyleri aşağıdaki mekanizmalarla açıklanabilir:

- 1) ABCB1 gen polimorfizminin neden olduğu değişken veya sınırlı bağırsak emilimi (89-91);
- 2) İlaç etkileşiminin ve diğer faktörlerin etkisi sonucu oluşan P450 izoenzim aktiviterinde fonksiyonel değişiklik;
- 3) CYP450 izoenzimlerini kodlayan spesifik genlerde tek nükleotid polimorfizimleri (92,93);

CYP3A4 aktivitesinin rifampin ve sarı kantaron ile ve CYP1A2 aktivitesinin sigara tarafından uyarılması klopidoğrelin oluşturduğu trombosit inhibisyonu

artırdığı gösterilmiştir (94-96). Sigara içiciliğinin klopidogrel antitrombosit etkinliği üzerine etkisi klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir ve bu kısmı de olsa “sigara içicilerinin paradoksu”na açıklık getirmektedir (97,98). Aksine klopidogrel ile CYP bileşimi için rakabet eden etkenler klopidogrel antitrombosit etkinliğini azaltabilir. Klopidogrelle azalmış farmakodinamik yanıt tedaviye CYP2C19 ve CYP3A4 izoenzimleri tarafından metabolize edilen proton pompa inhibitörlerinin, lipofilik statinlerin ve kalsiyum kanal blokerlerinin eklenmesi ile de gözlenmiştir (92,99-102). Bununla beraber klopidogrelle yukarıdaki ajanların eklenmesi ile yapılan bazı laboratuvar araştırmalarında da klopidogrel oluşturduğu trombosit inhibisyonu düzeyinde azalma gösterilmiştir ki klinik olarak iskemik olaylar açısından bu etkileşimlerin sonucu tartışmalıdır.

Yapılan son çalışmalar CYP2C19 izoenzimini kodlayan genlerde olan tek nükleotid polimorfizmlerinin yanı sıra p-glikoprotein taşıyıcı gende tek nükleotid polimorfizmlerinin klopidogrelle yanıtın değişkenliği ve klinik sonuçlar üzerinde etkisini değerlendirmiştir (93,103). Çoksaylı bağımsız araştırmalar suboptimal klopidogrel aktif metabolit üretimi ile ilgili genetik polimorfizm varlığı (farmakokinetik ölçüm), trombosit fonksiyon testleri ile ölçülen klopidogrelle yanıtın azalması (farmakodinamik ölçüm) ve advers klinik sonuçlar arasında ilişkinin olduğunu göstermiştir. Ama hiçbir çalışmada aynı hasta popülasyonunda bu parametrelerin hepsi ilişkilendirilememiştir. Ayrıca gösterilmiştir ki bu prosese diğer genetik belirleyiciler de eklenebilir ve klopidogrelle yanıtın değişkenliğinde CYP2C19\*2 alleleine bağlı fonksiyon kaybı toplam değişkenliğin ~%12 sorumlu tutulabilir (104). Şu anda, klopidogrelle zayıf yanıtla ilişkili faktörlerin klopidogrel antitrombosit etkisini azalmasında ve klinik sonuçların kötüleşmesindeki rolünün boyutları belirsizdir.

Zayıf klopidogrel metabolizmasına sahip hastalarda (2 adet CYP2C19 fonksiyon kaybı alleli olan) klopidogrel kullanımı sonrası etkinliğin azalması ve CYP2C19 fonksiyon farklılıklarını tanımlamak için mevcut genetik testlerin farklılıkları 2010 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından özel öneri olarak kabul edilmiş ve yayınlanmıştır. Öneride sağlık çalışanlarına kullanmakta oldukları antitrombositar tedavinin tekrar gözden geçirilmesi ve klopidogrel direnci saptanmış hastalarda farklı antitrombosit ilaç tedavisine geçilmesi veya alternatif doz şemalarının kullanılması vurgulanmıştır (105). Bu kılavuz 40 sağlıklı zayıf klopidogrel metabolizması saptanmış birey üzerinde yapılan ve azalmış aktif



metabolit üretimi ve yüksek trombosit agregasyonunun saptanması ile sonuçlanan çalışmanın verilerine dayanmaktadır. Bununla beraber fonksiyon kaybı olan allelin klopidogrelle olan farmakodinamik yanıtı etkileyerek klinik riskin artırdığı düşünülmektedir. Ama şu ana kadar hiçbir araştırma fonksiyon kaybı olan genetik polimorfizm, suboptimal klopidogrel aktif metabolit üretimi (farmakokinetik ölçüm), zayıflamış klopidogrelle yanıt (farmakodinamik ölçüm) ve advers klinik sonuçlar arasında olan ilişkiyi kanıtlayabilmiş değil. Öneri sadece 2 adet fonksiyon kaybı alleli bulunan hastalara şamil edilmektedir. Heterozigot bireylerle ilişkili herhangi bir veri bulunmamaktadır. Simon ve ark.nın (89) yapmış olduğu bir çalışmada, iskemik risk homozigot bireylerle sınırlanmaktadır. Stent implantasyonu ile tedavi edilmiş hastaları kapsayan diğer araştırmalarda iskemik risk ile fonksiyon kaybı olan alleller arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir (104,106-109). Mevcut durum CHARISMA (Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk, Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance) Genomics altçalışma (110) sonuçlarının açıklanması ile daha karıştı. Araştırma sonuçlarına göre klopidogrel tedavisi sonrası birleştirilmiş kardiyovasküler ölüm, miyokard infarktüsü ve inme sonlanma noktalarında sonuçlar zayıf metabolizmalı bireylerde (\*2/\*2) doğal tip taşıyıcılara (wt/wt) göre daha kötü olarak saptanmıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak CHARISMA çalışmasında düşük riskli hasta popülasyonu çalışmaya dahil edilmiştir ve stentli hastalar araştırılmamıştır. CHARISMA Genomics araştırmasında araştırmacılar 2 önemli sonuca dikkat çekmişler: 1) plasebo grubunda olan zayıf metabolizmalı hastalarda da artmış yüksek risk saptanmıştır; ama 2) zayıf metabolizma grubunda çok az sayıda birincil iskemik olay gözlemlenmiştir (plasebo grubu, n=5 (%8,77) ve klopidogrel grubu, n=8 (%13,79)). CHARISMA Genomics (110) araştırması hem klopidogrel grubunda hem de plasebo grubunda genotiplemenin klinik sonuçlara etkisinin değerlendirildiği tek araştırmadır.

Diğer taraftan genotipe dayalı olarak değiştirilmiş tedavinin etkinlik ve güvenilirliği tamamen araştırılmamış bir konudur. Ne genotipleme ne de trombosit fonksiyon testleri ayrı ayrı klopidogrel tedavisi alan hastanın global riskini belirleyememektedir. Sonuç olarak trombosit fonksiyon testleri ile ilişkilendirilmiş CYP2C19 gen testi alternatif antitrombositer tedavi için yüksek bireysel risk taşıyan hastaların belirlenmesi için daha etkin bir yol olarak gösterilmektedir. Bu açıdan spesifik bireysel antitrombositer tedavi algoritmalarının oluşturulması stratejisini destekleyen geniş çaplı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca klopidogrele olan değişken farmakodinamik yanıt mekanizmalarına ek olarak artmış vücut kitle indeksi (VKİ), diabetes mellitus (DM) ve akut koroner sendromlar (AKS) da klopidogrele olan antitrombositler yanıtın azalması ile ilişkili bulunmuştur (111-113). Bazı çalışmalar aynı hasta popülasyonunda hem klopidogrele hem de aspirine olan direncin varlığını göstermiştir (114,115). 600 mg klopidogrel yükleme dozuna zayıf yanıt veren hasta popülasyonunda normal ve yüksek yanıtlı hasta popülasyonları ile kıyaslandığında zayıf ADP kaynaklı agregasyon inhibisyonu ile beraber kollajen ve trombin kaynaklı agregasyon inhibisyonu düzeylerinde de anlamlı düzeyde azalmış yanıt gözlemlenmiştir (116). Tüm bu bilgilere dayanarak özel "zayıf-yanıtlı" veya global yüksek trombosit reaktiviteli fenotipin olduğunu söyleyebilmek mümkündür. Bu tip fenotipi olan hastalarda agonistlere güçlü tepki gösteren trombositler mevcut olacaktır ki bu da hastaların klinik olarak tedavi sonuçlarını negatif yönde etkileyecektir.

## 1.4. CYP450 ENZİMİ VE CYP2C19 GENİ

### 1.4.1. CYP450 ( Sitokrom P450 Monooksijenaz) enzim sistemleri

CYP450 (Sitokrom P450 monooksijenaz) enzim sistemleri, matür eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında tüm memeli hücre tiplerinde ve prokaryotlarda bulunan hem-protein ailesidir. Bu enzimler, yapısal olarak çeşitli farklı bileşiklerin oksidasyonunu katalize eder. Endojen sentezlenen birçok bileşik, CYP450 enzimlerinin substratı olarak görev yapar. Bu bileşikler: prostaglandin ve lökotrienler dahil yağ asitleri, steroidler, eksojen yiyecek katkı maddeleri, ilaçlar olup ayrıca besinlerle, enjeksiyonla, havadan inhalasyonla ya da deriden absorpsiyonla vücuda giren endüstriyel maddelerdir. Sitokrom P450 enzimleri, ilaç biyotransformasyonu ve metabolizması için en önemli sistemlerden biridir. Bu sistem indüksiyon veya inhibisyon gibi sayısız mekanizmalarla değişime uğrayabilir ve bireyler arasında oldukça farklı formları ortaya çıkabilir. CYP450 enzimleri, 400–530 aminoasitten oluşan proteinlerdir. Baz dizilimi benzerliklerine göre P450 sistemi 40 farklı aile içinde sınıflandırılır. CYP450 sisteminin organizmada çok önemli etkileri vardır:

Bunlar; a) terapötik maddeleri inaktive veya aktive etme b) kimyasal maddeleri oldukça yüksek derecede reaktif moleküllere dönüştürme ve istenmeyen hücre hasarı, hücre ölümü veya mutasyon gibi olaylara neden olma c) steroid hormon sentezindeki bazı adımlara katılma ve d) yağ asidi ve türevlerinin metabolizmasıdır (117,118).

CYP450 sistemi katalitik fonksiyonları bilinmeden önce spektral özellikleri ile tanımlanan proteinlerden oluşmuştur. Bu gruptaki proteinlerin benzersiz bir absorbans spektrumu vardır. Genellikle mikrozom olarak adlandırılan endoplazmik retikulum veziküllerinden hazırlanan süspansiyondan karbondioksit gazı geçirildikten sonra sodyum dithionate gibi indirgeyici bir ajan eklenince spesifik bir absorbans spektrumu elde edilir. Bu işlem sırasında indirgenmiş hem proteinine CO bağlanır ve 450 nm'de pik yapan absorbans spektrumu elde edilir. Bu enzimlere P450 adı, 450 nm'de absorbans gösterdiği için verilmiştir. Spesifik CYP450 formları, 446 ile 452 nm arasında maksimum absorbans veren dalga boylarına sahiptir. Karaciğerde bir çok CYP450 enzimleri bulunmakta ve CYP450 enzimleri baz dizilimi benzerliklerini kontrol eden gen ailelerine veya substrat spesifikliğine göre sınıflandırılmaktadırlar. Buradaki substrat (S), bir steroid, yağ asidi, ilaç yada oksijen bağlama yeri olarak görev yapan alkan, alken, aromatik halka veya heterosiklik halka ekleri olan diğer kimyasal maddeler olabilir. Substrata iki oksijen atomundan sadece

biri katıldığı için bu reaksiyona monooksijenasyon reaksiyonu ve bu enzimlere de sitokrom P450 monooksijenaz enzimleri adı verilmektedir (117).

Sitokrom P450 enzimleri hepatositlerde en yüksek derişimde bulunmakla birlikte, başka dokularda da görülebirlirler. Tiplerine göre hücrenin mitokondrisinde veya endoplazmik retikulumunda bulunabilirler (118,119).

Spesifik CYP enzimlerini kodlayan genlerin izole edilmesiyle bu enzimlerin aminoasit dizilimleri belirlenebilmiştir. Bu bilgi kullanılarak, farklı enzimler aminoasit dizilimine göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmada enzimler hem yapı hem fonksiyonel olarak birbirlerine yakın enzimlerdir. CYP enzimleri ilk numaradan itibaren ailelere ayrılmıştır. Bu ailedeki bütün enzimler aminoasit dizilimi yönünden en az %40 benzerlik gösterenler aynı aile içine alınmaktadır. Alfabetik harfler ile alt grup ailelere ayrılmaktadır. Aynı alt aile grubunda ise aminoasit dizilim homolojisi en az %55 olmaktadır. En son numara ise enzimi kodlayan genin numarasıdır (118,120).

#### **Örnek:**

CYP	+	numara	+	harf	+	numara
		(aile)		(alt aile)		(gen)
CYP		2		C		19

Sitokrom P450 enzimleri içerdikleri aminoasit benzerliklerine göre sınıflandırılırlar. En önemli CYP450 izoenzimleri CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 ve CYP2C19'dur (120,121).

#### **1.4.2. CYP2C19 Gen ailesi**

Bu enzim ilaç metabolizmasında önemli rol oynayan ve genetik polimorfizm gösteren enzimlerden biridir. Başta karaciğer hepatositleri olmak üzere akciğerler, gastrointestinal kanal mukozası ve lümeni, böbrekler, cilt, santral sinir sistemi, plazma, eritrositler, ağız mukozası, diş etleri ve plasenta gibi yapılarda bulunur (122,123).

Bu enzimdeki polimorfizm ilk kez S-mefenitoinin hidroksilasyonunda bireyler arasında farklılıkların saptanmasıyla tanımlanmıştır (124).

Daha sonra yapılan çalışmalar CYP2C19 enziminin S-mefenitoin'in yanı sıra omeprazol, diazepam, klopidogrel, mefobarbital, imipramin ve sitalopram gibi klinikte sık kullanılan pek çok ilacın ve bazı ksenobiyotiklerin metabolizmasına da aracılık ettiğini göstermiştir (125-131)(*Tablo-1*).

**Tablo - 1. CYP2C19 enziminin metabolizmasına katıldığı ilaçlar, indükleyicileri ve inhibitörleri (132).**

Metabolizmasına katıldığı ilaçlar		İnhibitörler	İndükleyiciler
Amitriptilin	Nilutamid	Amiodaron	Deksametazon
Diazepam	Nelfinavir	Antifungaller	Fenobarbital
Diklofenak	Primidon	Felbamat	Rifampin
Heksobarbital	Progesteron	Fluvoksamin	
İmipramin	Proguanil	Simetidin	
İndometazin	Propranolol	Fluoksetin	
Klopidogrel	Pantoprozol	Moklobemid	
Klomipramin	Omeprazol	Pravastavin	
Mefenitoin	Siklofosfamid	Sertralin	
S-Mefenitoin	Sitalopram	Tiklopidin	
Lansoprozol	Teniposid	Azole	
Mefobarbital	Tolbutamin	Fluvastatin	
Moklobemid	Varfarin	Lovastatin	
		Omeprazol	

CYP2C19 enzimini kodlayan CYP2C19 geni 1473 baz çifti uzunluğundadır ve 10. kromozomda lokalize olmuştur (10q24.1-10q24.3) (122,133-135).

CYP2C19 enziminin özelliklerini belirlemek için yapılan çalışmalarda CYP2C19 genindeki mutasyonların enzimin katalitik aktivitesinin azalmasına ya da yokluğuna neden oldukları belirlenmiştir. CYP2C19 polimorfizminin araştırılması amacıyla yapılan ilk çalışmalarda enzim yetersizliği ile metabolizma kusurlarından iki mutant allelin sorumlu olduğu deMorais ve arkadaşları (124) tarafından saptanmıştır. CYP2C19'un şimdiye kadar belirlenen 28 mutant alleli gösterilmiştir. Normal aktiviteli allel CYP2C19\*1 (wild tip)'tir. Aktivite azlığına ya da yokluğuna neden olan mutant alleller ise CYP2C19\*2 (m1), CYP2C19\*3 (m2), CYP2C19\*4

(m3), CYP2C19\*5 (m4), CYP2C19\*6 (m5), CYP2C19\*7 (m6) ve CYP2C19\*8 (m7)'dir (136-140).

CYP2C19 yavaş metabolizörlerinin oranı toplumlar arasında da farklılık göstermektedir. Bu enzim bakımından Beyaz ırkta yavaş metabolizör sıklığı %2-5 iken, Doğu popülasyonunda bu sıklık %11-23 arasında değişmektedir. Tablo 2'de değişik toplumlardaki CYP2C19 yavaş metabolizör oranları gösterilmiştir.

**Tablo - 2. Farklı toplumlarda CYP2C19 yavaş metabolize edici bireylerin sıklığı (141).**

Popülasyon	Yavaş metabolize edici (%)	Kaynak
Türkler	0.99	Aynacıoğlu ve ark. 1999
Türkler	0.94	Başçı ve ark. 1994
Kafkaslar (İsveç)	2.1	An Goldstein ve ark. 1997
Danimarkalılar	3.2	Halling ve ark. 2005
Zenci Amerikalılar	3.6	Edeki ve ark. 1996
Etiyoplalılar	5.2	Pesson ve ark. 1996
Zimbabweli Shonolar	3.9	Masimirembwa ve ark. 1995
Çinliler	11	De Morais ve ark. 1995
Koreliler	16	Roh ve ark. 1996a
Koreliler	12.6	Roh ve ark. 1996b
Çinli-Tayvanlılar	16	Goldstein ve ark. 1996
Çinli Hanlar	20	Xiao ve ark. 1997
Japonlar	23.6	Kimura ve ark. 1998

Türk popülasyonunda CYP2C19 polimorfizmi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Başçı ve ark. (142) S-mefenitoin kullanarak 106 sağlıklı bireyde yaptıkları bir fenotipik çalışmada yavaş metabolizör sıklığını %0.94 bulmuşlardır. Aynacıoğlu ve ark. (143) ise CYP2C19 m1, m2, m3 ve m4 mutasyonlarını 404 Türk bireyinde tayin etmişler ve genotipik olarak yavaş metabolizör sıklığını ~%1 bulmuşlardır. Bu çalışmalarında yavaş metabolizör genotipten sorumlu mutasyonun CYP2C19\*2 (m1) olduğunu, ayrıca bireylerin hiçbirinde m3 ve m4 mutasyonu saptamadıklarını ve CYP2C19\*3 (m2) mutasyonu bakımından homozigot olan bireylerin bulunmadığını da bildirmişlerdir.

## **2. ÇALIŞMANIN AMACI**

Aterosklerotik kalp hastalığı hastalarında uygulanan antitrombositler tedaviye yanıt değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmanın amacı ST segment yükselmeli akut miyokard infarktüsü hastalarında klopidogrel direnci ile CYP2C19 gen mutasyonu arasında ilişkinin değerlendirilmesidir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Kliniğimiz bünyesinde 23 Aralık 2010 tarihinde etik kurul onayı (Karar no:10-11.1/6) alındıktan sonra, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

#### **3.1. Hasta Grubunun Özellikleri**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji kliniğine Ocak 2011 ve Temmuz 2011 tarihleri arasında başvuran 75 akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü hastası çalışmaya dahil edilme açısından randomize edilmiş ve klopidogrel direnci saptanan 30 hasta grubu oluşturulduktan sonra kontrol grubu olarak klopidogrel direnci olmayan 30 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların 52'si erkek, 8'i kadın olmak üzere (gruplarda erkek/kadın dağılımı 26/4 olarak belirlendi) toplam 60 hasta araştırma amacı ve protokolü hakkında ayrıntılı bilgi verilip gönüllü oluru alınarak çalışmaya dahil edildi. Akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsünün tanı kriterleri olarak kardiyak biyobelirteçlerde %99 dilimin üst referans değerinden en az bir birim daha fazla yükselmesi sonrasında ve/veya azalmasının saptanması, elektrokardiyografik olarak iki veya daha fazla komşu derivasyonlarda 1 mm veya daha fazla ST elevasyonu ve karşı derivasyonlarda resiprokal ST depresyonunun saptanması olarak belirlendi (3,19). Sağlıklı ilaç kullanmayan bireylerin ADPtest sonuçlarından elde edilen referans aralığının minimal değerinin %80 yüksek olan sonuçlar klopidogrel etkilerine dirençli kabul edilmiştir. ADPtest protokolü ile belirlenen referans aralık 569-1130 AU\*dk'dir. Aynı değerlendirme ile klopidogrel tedavisi alan hastaların %80'ni 0-500 AU\*dk aralığındadır ve buna uygun olarak klopidogrel direnci için 455 AU\*dk sınır değer kabul edilmiştir.

##### **3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri**

- Akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü olması
- Antitrombositik tedavi olarak 300 mg klopidogrel verilmiş olması
- Bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınmış olması
- Çalışmaya alınmama kriterlerinin olmaması



### 3.1.2. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

- Trombositopeni olması ( $< 100000/\text{mm}^3$ )
- $< 18$  yaş ve  $> 75$  yaş olan olgular
- Antitrombositler (klopidogrel) tedavinin başlanmasından sonraki 24 saat içinde ek doz klopidogrel verilmesi
- Gebe olması
- Ciddi böbrek yetmezliği olması (plasma kreatininin  $>1.8$  mg/dl olması)
- Ciddi karaciğer yetmezliği olması (SGOT ve SGPT referans değerinin 3 katından büyük olması)
- Klopidogrel'e karşı aşırı duyarlılığın olması
- Bilinen edinsel ve kalıtsal koagülasyon defektinin olması

### 3.2. Çalışmanın Yöntemi

Göğüs ağrısı ile hastanemizin acil servisine başvuran hastalar değerlendirilmeye alındı. Anamnez ve fizik muayene ile birlikte 12-lead EKG'leri kayıt edildi. Akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü tanısı alan hastalara acil serviste aspirin (300 mg) çiğnetildi ve klopidogrel yüklemesi (300 mg) yapıldı. Çalışma dışlama kriterlerinden herhangi birini taşımayan olguların detaylı anamnezleri, aile öyküleri ve kullanmakta olduğu medikal tedavileri kaydedildi. Kliniğimizin ekokardiyografi laboratuvarında ilk 24 saatte transtorasik EKO tetkiki yapıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların hikayesi bir doktor tarafından detaylı bir şekilde kaydedildi. Hastada mevcut olan yaş, cinsiyet, diyabetes mellitus (DM), hipertansiyon (HT), hiperlipidemi (HLP), aile hikayesi varlığı, sigara ve alkol kullanımı gibi risk faktörleri hasta takip formuna kayıt edildi. Hastane yatışının ilk gününde vücut kitle indeksi ve vücut yüzey alanını hesaplamak için, hastaların boyu ve kilosu kayıt edildi. Venöz kan örneği ilk 24 saat içinde rutin biyokimyasal ve genetik analiz için alındı.

#### 3.2.1. Elektrokardiyogram

Kliniğimiz bünyesinde, bütün olguların sırt üstü yatar pozisyonda 12 derivasyonlu yüzey elektrokardiyogramı "Nihon Kohden Cardiofax" 9131K model EKG cihazı kullanılarak elde edildi.

### **3.2.2. Transtorasik Ekokardiyografi**

Ekokardiyografik inceleme kliniğimiz laboratuvarında bulunan Hewlett Packard Sonos 7500 cihazı ile 2,5 mHz frekanslı prob kullanılarak yapıldı. Ekokardiyografik değerlendirme hasta sol yan pozisyonda iken parasternal uzun eksen, apikal iki ve dört boşluk görüntülerden Amerikan Ekokardiyografi Cemiyeti standartlarına uygun şekilde yapıldı (144).

### **3.2.3. Agregasyon Ölçümü**

Akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü tanısı ile kliniğimize yatırılan ve klopidoğrel yükleme dozu (300 mg) verilen hastalara günlük 75 mg klopidoğrel idame dozu başlandı. Klopidoğrel etkinliğinin tayini amacı ile hastalardan klopidoğrel verildikten 6 ve 24 saat sonra hirudinli tüple kan alındı. Kan örnekleri 60 dakika içinde Multiplate analyzer trombosit agregometri cihazında çalışıldı. 300 µl ml hirudinli kan 300 µl izotonik solüsyon ile diluye edilerek 3 dakika inkübasyona alındı. İnkübasyon sonunda test hücrelerine agonist olarak 20 µl ADP (6,4 µmol) verildi (ADPtest). Test hücrelerinde 2 çift elektrot ile tüm işlem boyunca agregasyon olan ve elektrotlara yapışan trombositlerin meydana getirdiği direnç değişimleri kaydedildi. Elektrotlara yapışan trombositler ile artan direnç cihaz tarafından agregasyon birimine (AU) çevrilerek agregasyon zaman grafiği çizildi. Trombosit aktivitesini en iyi yansıtan parametre olan agregasyon çizgisi altında kalan alan (AUC) hesaplandı.

### **3.2.4. Genetik Değerlendirme**

#### **3.2.4.1. DNA Eldesi**

EDTA'lı Periferik Kandan Genomik DNA Ekstraksiyonu için tuzsuz yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla PureLink Genomic DNA mini izolasyon Kiti (Invitrogen, Carlsbad, CA,) kullanılmıştır. DNA saflığının ölçülmesi için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 260/280 nm dalga boyunda DNA solüsyonunun absorbans intensitesi ölçülmüştür.

Elde edilen genomik DNA, 50 ng/mkl olarak 200 mkl volümde çözüldü. Daha sonra bu DNA molekülünün kalitasyonu yapıldı. Bu amaçla 2 mkl (100 ng) DNA molekülü % 1 lik Agaroz (Sigma) jelde elektroforeze tabii tutuldu. Moleküller Biyolojide kullanılan Agarozdan 1 gr tartılarak 100 mkl 1XTBE (10XTBE; Sigma,

Blue View Nucleic Acid Stain) tamponunda magnetik karıştırıcıda boncuklar kullanılarak karıştırılır. Bu karışım Mikrodalğa fırınında eritilir. Magnetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak 60° C kadar soğutularak üzerine 10 mkg/ml konsantrasyonlu Etidyum Bromür (Sigma) solüsyonundan 7 mkl ilave edilir ve karıştırılır. Bu agaroz solüsyonu önceden hazırlanmış elektroforez tankının (Owl, Heidelberg, Germany) taraklar yerleştirilmiş kamerasına dökülür ve sertleşinceye kadar bekletilir. Üzerine 1XTBE tamponu eklendikten sonra taraklar çıkarılır ve 2mkl DNA-1 mkl 1X6 yükleme solüsyonu ve 3 mkl su ile karıştırılarak jele yüklenir. Elektroforez EC 105, (EC Apparatus Corporation, <500mA) güç kaynağı 100 mV, 80mA koşullarında kullanılarak 30-40 dakika arasında uygulandı.

Jeldeki DNA ultraviyole (UV) transluminatöründe (Vilber, Lourmat France) görüntülenir ve baz çift sayısı bilinen standart olarak kullanılan DNA markeri (Hae III, Fermentas) ile karşılıklı olarak görüntülenir

Kontrol edilen bu DNA'dan tüm sekans reaksiyonları yapılmıştır.

### **3.2.4.2. CYP2C19 Gen sekans analizi**

#### **3.2.4.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

CYP2C19 geninin 491 amino asit kodlayan 9 eksonu için spesifik oligonükleotid primerler ile ayrı ayrı PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. P450c19 proteinini kodlayan CYP2C19 geninin cDNA'sını 1473 bp (NCBI Reference Sequence: NM\_000769.1) olmakla tümü ve intron-ekson bağlanma ve 3'UTR bölgelerinden 700 bp olmakla toplam 2173 bp dizisini okumak için 9 PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.4.2.2. PCR Koşulları**

1 ul (100 ng) genomik DNA, Invitrogen Enhancer Buffer (20 mM Tris (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>) 2.5 uL, d NTP mix karışımı 0.5 uL (0.2 mM), forward primer 1 uL (10 pmol/ul), reverse primer 1 ul (10 pmol/ul) (Invitrogen), 1.0 U PlatinumTaq DNA Polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA), deionize su ile 25 uL total volüme tamamlanmıştır. Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems) cihazında gradient programında amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.4.2.3. PCR Ürünlerinin Purifikasyonu

Elde edilen PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezinde kontrol edilerek pozitif PCR fragmanları Exo-SAP enzim karışımı (Amersham Life Science,UK) kullanarak purifiye edilmiştir (5:1 oranında). Saflaştırılmış PCR ürünleri yeniden agaroz jel elektroforezine tabi tutularak jelde görüntülenmiştir. Gerekli görüldüğü takdirde amplifikasyon ürünü Nanodrop Spektrofotometrede kantite edilmiştir.

### 3.2.4.3. DNA Dizi Analizi

Saflaştırılmış PCR ürünleri BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems U.S.A) kiti kullanılarak DNA dizileme öncesi nükleotidlerin floresan işaretlemesi için ikinci PCR analizine (Cycle-Sequencing PCR) alınmıştır. Cycle-Sequencing PCR işleminden sonra elde edilecek olan 2. tur PCR ürünlerinin, BigDyeXT kiti (Applied Biosystems U.S.A) kullanılarak presipitasyonları yapılmıştır. Presipite edilerek yeniden saflaştırılmış PCR ürünleri ABI 3130XL Genetic Analyser otomatik DNA sekans sistemine yüklenerek nükleotid dizileri okunmuştur. DNA dizileme sonucunda nükleotid değişimleri, NCBI Reference Sequence: NM\_000769.1 )

National Institute of Health'in web sayfasındaki ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) RefSeqGene genbank gi|4503218 (NCBI Reference Sequence: NG\_008384.1) ve protein database referans(NP\_000760.1")dizileri ile karşılaştırılmıştır.

Değerlendirme SEQSCAPE 2.0 bilgisayar programı ile yapılmıştır.

### 3.2.5. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz, SPSS 18.0 programı kullanılarak yapıldı. Grup verilerindeki sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma ile ( $\text{ort} \pm \text{SS}$ ) belirtildi. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile verildi. Sürekli değişkenlerin grup karşılaştırmasında *student t testi* kullanıldı. Gerekli görülen durumlarda nonparametrik testler analize dahil edildi (*Mann-Whitney U* ve *Kruskall Wallis*). Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise *ki-kare testi* kullanıldı. Parametrik veya parametrik olmayan sürekli değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde *Spearman (rho)* ve *Pearson (r)* bağıntı analizleri kullanıldı.  $P < 0,05$  değeri tüm analizlerde istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların Karakteristik Özellikleri

Çalışmada akut ST-segment yükselmeli miyokard infarktüsü tanısı ile izlenen ve yapılan trombosit agregometrisi sonucu olarak klopidogrel direnci saptanan 30 hasta ve kontrol grubu olarak klopidogrel direnci saptanmayan 30 hasta karşılaştırıldı. Her iki grup arasında yaş, cinsiyet dağılımı, vücut ağırlığı, VKİ ve VYA, sistolik ve diyastolik kan basınçları açısından anlamlı fark saptanmadı (**Tablo-3**). Eşlik eden hastalıklar açısından gruplar değerlendirildiğinde Hipertansiyon (HT) sıklığının klopidogrel direnci olan hasta grubunda anlamlı olarak daha fazla görülmesine rağmen HT süresinde anlamlı fark izlenmedi; hiperlipidemi (HLP), diyabetes mellitus (DM), sigara kullanımı ve alkol kullanımı görülme sıklığı her iki grupta benzerdi.

**Tablo – 3. Çalışma gruplarının genel özellikleri.**

	<b>Toplam (n=60)</b>	<b>24.saat normal (n=30)</b>	<b>24.saat dirençli (n=30)</b>	<b>p</b>
Yas (yıl)	55 ±9.7	54 ±9.0	56 ±10.3	0.446
Cins (erkek/kadın)	52/8	26/4	26/4	1.000
Boy (mm)	171 ±8.2	170 ±9.6	172 ±6.7	0.358
Kilo (kg)	80 ±12.9	78 ±14.9	81 ±10.7	0.426
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	27.3 ±3.3	27.1 ±3.6	27.4 ±3.0	0.478
VYA (m <sup>2</sup> )	1.9 ±0.1	1.9 ±0.2	1.9 ±0.1	0.217
TA sis (mmHg)	132 ±30	138 ±28	127 ±31	0.194
TA dias (mmHg)	79 ±16	82 ±16	75 ±15	0.182
DM	12	3	9	0.104
DM süre (yıl)	6.8 ±5.8	6.0 ±7.8	7.1 ±5.5	0.727
HT	28	8	20	<b>0.004</b>
HT süre (yıl)	8.8 ±8.4	8.1 ±4.8	9.2 ±9.6	0.709
HLP	20	11	9	0.785
HLP süre (yıl)	5.4 ±5.5	4.1 ±3.6	7.0 ±7.2	0.603
Sigara	49	26	23	0.506
Sigara süre (paket/yıl)	34.3 ±24.7	35.8 ±26.0	32.5 ±23.7	0.658
Alkol	6	2	4	0.671
Alkol süre (yıl)	26.6 ±12.1	25.0 ±7.0	27.5 ±15.0	0.812

Gruplar arasında CK, CK-MB, Kolesterol, Trigliserid, LDL, SGOT, SGPT, ALP, GGT, Kreatinin, Hemaglobin, Hematokrit, CRP, Protein C, Protein S, Antitrombin III, HbA1C, TSH gibi laboratuvar belirteçleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark olmadığı görüldü (**Tablo-4**). Karşılaştırmada trombosit sayısı klopidogrel tedavisine dirençli grupta anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.019).

**Tablo – 4. Çalışma gruplarında kan biyokimyasal belirteçlerin özellikleri.**

	<b>Toplam (n=60)</b>	<b>24.saat normal (n=30)</b>	<b>24.saat dirençli (n=30)</b>	<b>p</b>
Agr 6.saat (AU*dk)	587 ±231	465 ±195	709 ±200	<b>≤0.001</b>
Agr 24.saat (AU*dk)	447 ±214	282 ±108	612 ±159	<b>≤0.001</b>
CK (U/L)	1649 ±1703	1745 ±1654	1556 ±1773	0.371
CKMB (U/L)	158 ±135	182 ±151	133 ±114	0.191
Kolesterol (mg/dl)	189 ±46	187 ±42	192 ±50	0.690
Trigliserid (mg/dl)	176 ±108	146 ±73	205 ±129	0.058
HDL (mg/dl)	41 ±11	44 ±12	37 ±9	0.044
LDL (mg/dl)	114 ±37	113 ±36	116 ±38	0.865
SGOT (U/L)	42 ±64	43 ±82	41 ±37	0.155
SGPT (U/L)	29 ±19	25 ±17	32 ±20	0.202
ALP (U/L)	81 ±23	84 ±19	79 ±25	0.166
GGT (U/L)	33 ±23	31 ±26	35 ±37	0.688
Kreatinin (mg/dl)	0.99 ±0.21	0.97 ±0.19	1.01 ±0.22	0.767
Hb (g/dl)	14.6 ±1.6	15.0 ±1.45	14.3 ±1.77	0.225
Htc (%)	43.6 ±4.8	44.5 ±4.7	42.8 ±4.9	0.284
Trombosit (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	280 ±63	259 ±53	300 ±67	<b>0.019</b>
CRP (mg/dl)	2.3 ±5.3	2.2 ±5.1	2.4 ±5.6	0.703
Prot C (%)	100 ±23	103 ±24	99 ±23	0.505
Prot S (%)	81 ±14	82 ±19	81 ±10	0.599
Antitrombin III (%)	93 ±13	94 ±16	92 ±11	0.414
HbA1C (%)	6.2 ±1.1	6.0 ±0.8	6.3 ±1.3	0.749
TSH (µIU/mL)	1.69 ±1.58	1.92 ±1.88	1.47 ±1.26	0.146

Hastalar ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü tipi açısından değerlendirildiğinde miyokard infarktüslerin hepsi tip 1 olarak belirlendi. 21 hastaya

anteriyor Mİ, 15 hastaya izole inferiyor Mİ, 17 hastaya inferiyor ve sağ Mİ, 2 hastaya inferiyor ve posteriyor Mİ, 4 hastaya inferiyor, sağ ve posteriyor Mİ ve 2 hastaya izole posteriyor Mİ tanısı konuldu. Temel ritim 54 hastada sinüs ritmi, 3 hastada atriyal fibrilasyon ve 3 hastada total atriyoventriküler blok olarak saptandı. Hastaların yatışı sırasında çekilen EKG'leri analiz edildi ve ST segment elevasyonu saptanan derivasyonlarda yükseklik mm olarak değerlendirildi. Ortalama ST segment yüksekliği  $9.5 \pm 7.7$  mm olarak değerlendirildi ve gruplar arasında bu parametre açısından anlamlı farklılık saptanmadı (**Tablo-5**).

Hastaların yatışı sırasında yapılan ekokardiyografi tetkikindeki sol ventrikül ve sağ ventrikül ejeksiyon fonksiyonları açısından anlamlı fark bulunmadı (**Tablo-5**).

Hastaların yatışı sırasında alınan öykü bilgilerine, yaş, kalp hızı, kan basıncı, yatış sırasında Killip hemodinamik sınıflandırma, kan kreatinin düzeyi, kardiyak enzim düzeyleri, ST segment yükselmesi, ani kardiyak ölüm parametreleri kullanılarak GRACE risk skorlaması ile değerlendirildi. Karşılaştırılan gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (sırası ile  $p=0.121$ ,  $p=0.214$ ,  $p=0.176$ ,  $p=0.140$ ). (**Tablo-5**).

**Tablo – 5. Çalışma gruplarının ST segment analizi, EKO bulguları ve GRACE risk sınıflandırması açısından özellikleri.**

	Toplam (n=60)	24.saat normal (n=30)	24.saat dirençli (n=30)	p
ST seg. yüksek.(mm)	$9.5 \pm 7.7$	$9.7 \pm 9.4$	$9.3 \pm 5.8$	0.790
LVEF (%)	$46 \pm 7.5$	$45 \pm 7.4$	$46 \pm 7.8$	0.629
RVEF (%)	$58 \pm 4.2$	$58 \pm 3.8$	$58 \pm 4.7$	0.615
GRACE D-0	$2.79 \pm 3.2$	$2.47 \pm 3.7$	$3.11 \pm 2.5$	0.121
GRACE D-6	$5.71 \pm 4.6$	$4.99 \pm 4.4$	$6.43 \pm 4.8$	0.214
GRACE D/MI-0	$16.93 \pm 5.9$	$16.43 \pm 7.0$	$17.43 \pm 4.7$	0.176
GRACE D/MI-6	$26.57 \pm 8.0$	$25.13 \pm 7.6$	$28.00 \pm 8.2$	0.140

Gruplar kullandıkları medikal tedavi açısından karşılaştırıldığında kullanılan ilaç grupları (antikoagulan, beta bloker, statin, kalsiyum kanal blokerleri, diüretik ve ACE-İ/ARB kullanımı) açısından gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü (*Tablo-6*).

39 hastaya trombolitik tedavi uygulanmış. Uygulanan trombolitik açısından hastalar değerlendirildi. 24 hastaya tPA, 12 hastaya tenekteplaz, 2 hastaya reteplaz, 1 hastaya steptokinaz tedavisi uygulanmıştır. Ortalama trombolitik uygulanma zamanı ağrı başlangıcını takiben  $1.7 \pm 1.3$  saat olarak belirlendi. 7 hastaya primer PKG, 1 hastaya kurtarıcı PKG uygulanmış, 21 hasta tıbbi tedavi ile takip edilmiştir. Toplam 41 hastaya koroner anjiyografi yapılmış ve 25 PKG uygulanmıştır.

**Tablo – 6. Çalışma gruplarında tedavi özellikleri.**

	<b>Toplam (n=60)</b>	<b>24.saat normal (n=30)</b>	<b>24.saat dirençli (n=30)</b>	<b>p</b>
Antikoagulan:	60	30	30	0.706
Enaxaparin	8	5	3	
Heparin	52	25	27	
B-bloker	36	20	16	0.430
Statin:	60	30	30	0.084
Atorvastatin 80 mg	43	18	25	
Atorvastatin 40 mg	17	12	5	
ACE/ARB	41	23	18	0.267
PPİ	60	30	30	1.000
Nitrat	38	19	19	1.000

#### **4.2. Trombosit Agregasyonu Bulguları**

Çalışmaya dahil edilen 60 hastaya Multiplate analyzer cihazı ile 300 mg klopidogrel yüklenme tedavisini takiben 6. ve 24. saatlerde trombosit agregometrisi tetkiki uygulanmıştır. Hastaların ortalama trombosit agregasyonu süresi 6. saatte  $587 \pm 231$  AU\*dk ve 24. saatte  $447 \pm 214$  AU\*dk olarak belirlendi. Klopidogrel tedavisine direnç olan grupta trombosit agregometrisi 6. saatte  $709 \pm 200$  AU\*dk ve 24. saatte  $612 \pm 159$  AU\*dk olarak, klopidogrel tedavisine direnç olmayan grupta ise trombosit agregometrisi 6. saatte  $465 \pm 195$  AU\*dk ve 24. saatte  $282 \pm 108$  AU\*dk olarak saptandı. (*Tablo-4*).



### 4.3. Genetik Değerlendirme Bulguları

Çalışmamıza dahil edilen hastalara klopidogrel yüklenme dozunu takiben 6. ve 24. saatlerde trombosit agregomeresi yapıldı. Gruplar klopidogrel yükleme dozu sonrasında 6. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre dirençli ve normal yanıtli, 24. saatte yapılan teste göre dirençli ve normal yanıtli, hem 6. saat hem de 24. saat yapılan testte dirençli ve normal yanıt saptanmış ve her iki test sonucuna göre en az birinin yorumlanmasında direnç saptanmış olması şeklinde bölündü ve genetik mutasyonlarla ilişkisi açısından değerlendirildi.

6. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 42 dirençli ve 18 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin I ekson analizinde 12 hastada 99C>T TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslama yapıldığında 10 dirençli hastada mutasyon saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0.317)(*Tablo-7*).

**Tablo – 7: 6.saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni I ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 I ekson</i>		Toplam	p
		Normal	99C>T		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	2	18	0,317
	<i>% 6.saat</i>	%88,9	%11,1	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%33,3	%16,7	%30,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	32	10	42	
	<i>% 6.saat</i>	%76,2	%23,8	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%66,7	%83,3	%70,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

6. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 42 dirençli ve 18 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin V ekson analizinde 12 hastada 681G>A TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslama yapıldığında 10 dirençli hastada mutasyon saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0.317) (*Tablo-8*).

**Tablo – 8: 6. saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni V ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 V ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>681G&gt;A</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	2	18	0,317
	<i>% 6.saat</i>	% 88,9	% 11,1	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 33,3	% 16,7	% 30,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	32	10	42	
	<i>% 6.saat</i>	% 76,2	% 23,8	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 66,7	% 83,3	% 70,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6.saat</i>	% 80,0	% 20,0	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 100,0	% 100,0	% 100,0	

6. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 42 dirençli ve 18 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 12 hastada 991A>G TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 10 dirençli hastada 991A>G saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0.662) (*Tablo-9*).

**Tablo – 9: 6.saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni VII ekson (991A>G TNP) analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>991A&gt;G</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	2	18	0.317
	<i>% 6.saat</i>	88,9	11,1	100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	33,3	16,7	30,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	32	10	42	
	<i>% 6.saat</i>	76,2	23,8	100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	66,7	83,3	70,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6.saat</i>	80,0	20,0	100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	100,0	100,0	100,0	

6. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 42 dirençli ve 18 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 8 hastada 990C>T TNP saptandı, 52 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 6 dirençli hastada 990C>T saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=1,000) (*Tablo-10*).

**Tablo – 10: 6.saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni VII ekson (990C>T TNP) analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>990C&gt;T</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	2	18	1,000
	<i>% 6.saat</i>	88,9	11,1	100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	30,8	25,0	30,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	36	6	42	
	<i>% 6.saat</i>	85,7	14,3	100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	69,2	75,0	70,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	52	8	60	
	<i>% 6.saat</i>	86,7	13,3	100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	100,0	100,0	100,0	

24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 30 dirençli ve 30 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin I ekson analizinde 12 hastada 99C>T TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 10 dirençli hastada mutasyon saptandı ve bu veri istatistiki olarak anlamlı bulundu (p=0.021) (*Tablo-11*).

**Tablo – 11: 24. saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni I ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 I ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>99C&gt;T</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	28	2	30	<b><u>0,021</u></b>
	<i>% 24.saat</i>	%93,3	%6,7	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%58,3	%16,7	%50,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	20	10	30	
	<i>% 24.saat</i>	%66,7	%33,3	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%41,7	%83,3	%50,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 30 dirençli ve 30 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin V ekson analizinde 12 hastada 681G>A TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 7 dirençli hastada mutasyon saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0.748)(*Tablo-12*).

**Tablo – 12: 24. saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni V ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 V ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>681G&gt;A</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	25	5	30	0,748
	<i>% 24.saat</i>	%83,3	%16,7	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%52,1	%41,1	%50,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	23	7	30	
	<i>% 24.saat</i>	%76,7	%23,3	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%47,9	%58,3	%50,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 30 dirençli ve 30 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 12 hastada 991A>G TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 10 dirençli hastada 991A>G TNP saptandı ve bu veri istatistiki olarak anlamlı bulundu (p=0.021) (*Tablo-13*).

**Tablo – 13: 24. saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni VII ekson (991A>G TNP) analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>991A&gt;G</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	28	2	30	<b><u>0,021</u></b>
	<i>% 24.saat</i>	%93,3	%6,7	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%58,3	%16,7	%50,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	20	10	30	
	<i>%24.saat</i>	%66,7	%33,3	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%41,7	%83,3	%50,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre değerlendirilen grupta 30 dirençli ve 30 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 8 hastada 990C>T TNP saptandı, 52 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 3 dirençli hastada 990C>T saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0,706) (*Tablo-14*).

**Tablo – 14: 24. saat trombosit agregometrisi sonuçları ile CYP2C19 geni VII ekson (990C>T TNP) analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>990C&gt;T</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	25	5	30	0,706
	<i>% 24.saat</i>	% 83,3	% 16,7	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 48,1	% 62,5	% 50,0	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	27	3	30	
	<i>% 24.saat</i>	% 90,0	% 10,0	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 51,9	% 37,5	% 50,0	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	52	8	60	
	<i>% 24.saat</i>	% 86,7	% 13,3	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 100,0	% 100,0	% 100,0	



6. saatte ve 24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi sonrası hastalar "6.saat + 24.saat direnç yok", "6.saat + 24.saat direnç var", "6.saat direnç var ama 24.saat direnç yok", "6.saat direnç yok ama 24.saat direnç var" şeklinde 4 gruba bölündü. Toplam gruplarda 42 dirençli ve 18 normal yanıtı hasta yer aldı. CYP2C19 geninin I ekson analizinde 12 hastada 99C>T TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında "6.saat + 24.saat direnç var" grubunda 8 dirençli hastada mutasyon saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (*Tablo-15*).

**Tablo – 15: 6.saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre her iki değere göre CYP2C19 geni I ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 I ekson</i>		<b>Toplam</b>
		<b>Normal</b>	<b>99C&gt;T</b>	
<b>6.saat + 24.saat Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	0	16
	<i>% 6.+24.saat</i>	%100,0	%0,0	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%33,3	%0,0	%26,7
<b>6.saat + 24.saat Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	20	8	28
	<i>% 6.+24.saat</i>	%71,4	%28,6	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%41,7	%66,7	%46,7
<b>6.saat Direnç var +24.saat Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	12	2	14
	<i>% 6.+24.saat</i>	%85,7	%14,3	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%25,0	%16,7	%23,3
<b>6.saat Direnç yok +24.saat Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	0	2	2
	<i>% 6.+24.saat</i>	%0,0	%100,0	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%0,0	%16,7	%3,3
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60
	<i>% 6.+24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0

6. saatte ve 24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonuçlarının birlikte değerlendirildiğinde CYP2C19 geninin V ekson analizinde 12 hastada 681G>A TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında “6.saat + 24.saat direnç” var grubunda 7 dirençli hastada mutasyon saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0.678) (*Tablo-16*).

**Tablo – 16: 6.saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre her iki değere göre CYP2C19 geni V ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 V ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>p</b>
		<b>Normal</b>	<b>681G&gt;A</b>		
<b>6.saat + 24.saat Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	14	2	16	0,678
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 87,5	% 12,5	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 29,2	% 16,7	% 26,7	
<b>6.saat + 24.saat Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	21	7	28	
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 75,0	% 25,0	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 43,8	% 58,3	% 46,7	
<b>6.saat Direnç var +24.Saat Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	11	3	14	
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 78,6	% 21,4	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 22,9	% 25,0	% 23,3	
<b>6.saat Direnç yok +24.saat Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	2	0	2	
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 100,0	% 0,0	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 4,2	% 0,0	% 3,3	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 80,0	% 20,0	% 100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	% 100,0	% 100,0	% 100,0	

6. saatte ve 24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonuçlarının birlikte değerlendirildiğinde CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 12 hastada 991A>G TNP saptandı, 42 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında "6.saat + 24.saat direnç" var grubunda 8 dirençli hastada 991A>G TNP saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (*Tablo-17*).

**Tablo – 17: 6.saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre her iki değere göre CYP2C19 geni VII (991A>G TNP) ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>
		<b>Normal</b>	<b>991A&gt;G</b>	
<b>6.saat + 24.saat</b> <b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	0	16
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 100,0	% 0,0	% 100,0
	<i>% Mutasyon</i>	% 33,3	% 0,0	% 26,7
<b>6.saat + 24.saat</b> <b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	20	8	28
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 71,4	% 28,6	% 100,0
	<i>% Mutasyon</i>	% 41,7	% 66,7	% 46,7
<b>6.saat Direnç</b> <b>var +24.Saat</b> <b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	12	2	14
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 85,7	% 14,3	% 100,0
	<i>% Mutasyon</i>	% 25,0	% 16,7	% 23,3
<b>6.saat Direnç</b> <b>yok +24.saat</b> <b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	0	2	2
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 0,0	% 100,0	% 100,0
	<i>% Mutasyon</i>	% 0,0	% 16,7	% 3,3
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60
	<i>% 6.+24.saat</i>	% 80,0	% 20,0	% 100,0
	<i>% Mutasyon</i>	% 100,0	% 100,0	% 100,0

6. saatte ve 24. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonuçlarının birlikte değerlendirildiğinde CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 8 hastada 990C>T TNP saptandı, 52 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında "6.saat + 24.saat direnç" var grubunda 3 dirençli hastada 990C>T saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (*Tablo-18*).

**Tablo – 18: 6.saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre her iki değere göre CYP2C19 geni VII (990C>T TNP) ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>
		<b>Normal</b>	<b>990C&gt;T</b>	
<b>6.saat + 24.saat Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	14	2	16
	<i>% 6.+24.saat</i>	%87,5	%12,5	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%26,9	%25,0	%26,7
<b>6.saat + 24.saat Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	25	3	28
	<i>% 6.+24.saat</i>	%89,3	%10,7	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%48,1	%37,5	%46,7
<b>6.saat Direnç var +24.Saat Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	11	3	14
	<i>% 6.+24.saat</i>	%78,6	%21,4	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%21,2	%37,5	%23,3
<b>6. saat Direnç yok +24.saat Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	2	0	2
	<i>% 6.+24.saat</i>	%100,0	%0,0	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%3,8	%0,0	%3,3
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	52	8	60
	<i>% 6.+24.saat</i>	%86,7	%13,3	%100,0
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0

6.saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre yapılan değerlendirmede direnci olan ve olmayan gruplara 44 dirençli ve 16 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin I ekson analizinde 12 hastada 99C>T TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 12 dirençli hastada mutasyon saptandı ve bu veri istatistiki olarak anlamlı bulundu (p=0.015) (*Tablo-19*).

**Tablo – 19: 6. saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre CYP2C19 geni I ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 I ekson</i>		Toplam	P
		Normal	99C>T		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	0	16	<b><u>0,015</u></b>
	<i>%6 veya 24.saat</i>	%100,0	%0,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%33,3	%0,0	%26,7	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	32	12	44	
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%72,7	%27,3	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%66,7	%100,0	%73,3	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

6.saat ve 24.saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre yapılan değerlendirmede direnci olan ve olmayan gruplara 44 dirençli ve 16 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin V ekson analizinde 12 hastada 681G>A TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 10 dirençli hastada mutasyon saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=0.316) (*Tablo-20*).

**Tablo – 20: 6. saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre CYP2C19 geni V ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 V ekson</i>		Toplam	p
		Normal	681G>A		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	14	2	16	0,316
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%87,5	%12,5	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%29,2	%16,7	%26,7	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	34	10	44	
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%77,3	%22,7	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%70,8	%83,3	%73,3	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

6.saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre yapılan değerlendirmede direnci olan ve olmayan gruplara 44 dirençli ve 16 normal yanıtli hasta yer aldı. CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 12 hastada 991A>G TNP saptandı, 48 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslama yapıldığında 12 dirençli hastada 991A>G TNP saptandı ve bu veri istatistiki olarak anlamlı bulundu (p=0.025) (*Tablo-21*).

**Tablo – 21: 6. saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre CYP2C19 geni VII (991A>G TNP) ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		Toplam	P
		Normal	991A>G		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	16	0	16	<b><u>0,025</u></b>
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%100,0	%0,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%33,3	%0,0	%26,7	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	32	12	44	
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%72,7	%27,3	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%66,7	%100,0	%73,3	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	48	12	60	
	<i>% 6 veya 24.saat</i>	%80,0	%20,0	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	

6. saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre yapılan değerlendirmede direnci olan ve olmayan gruplara 44 dirençli ve 16 normal yanıtı hasta yer aldı. CYP2C19 geninin VII ekson analizinde 8 hastada 990C>T TNP saptandı, 52 hasta normal genotip olarak değerlendirildi. Agregometri sonucuna göre kıyaslanma yapıldığında 6 dirençli hastada 990C>T TNP saptandı ama bu veri istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (p=1,000) (*Tablo-22*).

**Tablo – 22: 6. saat ve 24. saat trombosit agregometrisi sonuçlarına göre birinde pozitif olan değere göre CYP2C19 geni VII (990C>T TNP) ekson analiz sonuçlarının karşılaştırılması.**

		<i>CYP2C19 VII ekson</i>		<b>Toplam</b>	<b>P</b>
		<b>Normal</b>	<b>990C&gt;T</b>		
<b>Direnç yok</b>	<i>Sayı</i>	14	2	16	1,000
	<i>% 6 veya 24. saat</i>	%87,5	%12,5	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%26,9	%25,0	%26,7	
<b>Direnç var</b>	<i>Sayı</i>	38	6	44	
	<i>% 6 veya 24. saat</i>	%86,4	%13,6	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%73,1	%75,0	%73,3	
<b>Toplam</b>	<i>Sayı</i>	52	8	60	
	<i>% 6 veya 24. saat</i>	%86,7	%13,3	%100,0	
	<i>% Mutasyon</i>	%100,0	%100,0	%100,0	



## 5. TARTIŞMA

Amerikan Kalp Derneğinin, Amerikan Kardiyoloji Kolejinin ve Avrupa Kardiyoloji Derneğinin yayınladığı kılavuzların önerilerine göre uygulanmakta olan antitrombositler tedavilere rağmen yaklaşık %10 civarında tekrarlayan iskemik olaylar görülmektedir (145). Miyokard infarktüsü ve stent trombozu dahil olmakla beraber işlem sırasında, kısa ve uzun dönem aterotrombotik olayların oluşumunda trombositler önemli rol oynamaktadır (145). Grubel ve ark. tarafından yapılan çalışmaya göre aktif metabolit üretimi nedeni ile klopidogrelle yanıt büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir (92). Günümüzde CYP2C19 izoenzimini kodlayan genin en az 25 tek nükleotid polimorfizmi (TNP) olduğu bilinmektedir (146). Şu ana kadar en çok çalışılan ve araştırmalar sonrası en sık saptanan TNP CYP2C19\*2'dir. Bu TNP 5. eksonda yerleşmekte olan 681 nükleotidinde G<A değişikliği sonras olmaktadır ve bu mutasyon CYP2C19 izoenzimi fonksiyonlarının tamamen kaybı ile sonuçlanmaktadır. Aynı zamanda -806C>T lokasyonunda oluşan mutasyon sonrası CYP2C19\*17 polimorfizmi oluşmaktadır ki bu mutasyon sonucunda izoenzim aktivitesini arttırmaktadır. İzoenzim aktivitesinin artmasına ve azalmasına neden olan polimorfizmlerin aynı gende oluşumu sonrası farklı enzim aktivitesine neden olan kombinasyonlar izlenmekle ve beraber bu genotipik değişikliklerin fenotipe yansması da değişkenlik göstermektedir (104,147). Shuldiner ve ark. tarafından 429 gönüllüyü kapsayan çalışmada trombosit agregometrisi ile tanımlanmış klopidogrel tedavisine dirençli hastalarda yapılan genetik araştırma sonucu olarak 10q24 kromozomunda (tüm genomda 400.000 yakın TNP analiz edilmiştir) CYP2C18-2C19-2C9-2C8 gen bölgesine yakın 13 TNP'nin klopidogrel tedavisine olan yanıt ile ilişkili olduğu bulunmuştur ( $p= 10^{-12}$  den  $10^{-7}$  kadar). Bunu takiben tetkik edilen popülasyonda PKG uygulanan 227 hasta verilerinin analizinde CYP2C19\*2 alleli taşıyıcılarında taşımayanlara göre anlamlı olarak daha çok kardiyovasküler olay saptanmıştır ( $p=0.02$ ) (104). Fenotipik değişikliklere neden olabilecek mutasyonların araştırılması amacı ile farmakokinetik ve farmakodinamik analiz yapılmış 162 hastanın ve genetik analiz yapılmış 1477 hastanın dahil edildiği 6 çalışmayı kapsayan bir metaanalizde CYP2C19 geninin en az 1 fonksiyon kaybına neden olan allel saptanmış sağlıklı gönüllülerde aktif klopidogrel metabolitinin plazma düzeyinde %32.4 azalma ( $p<0.001$ ) ve ortalama trombosit agregasyonunda %25 azalma ( $p<0.001$ ) saptanmıştır (107).

Klopidogrele yanıtın kalıtımsallık derecesinin yaklaşık olarak %70 civarında olması sözkonusudur ve CYP2C19\*2 genotipi klopidogrele yanıt değişkenliği gösteren bireylerin yaklaşık olarak %12'sinde saptanmaktadır. Damani, Topol ve ark. tarafından yapılan araştırmaya göre ise bu oran %50'e kadar çıkabilmektedir (148). Bütün bunları göz önünde tutarak söyleyebiliriz ki klopidogrel tedavisine olan yanıt değişkenliğine sebep olan genetik ve nongenetik faktörlerin çoğu hala belirlenememiştir (104). Devam eden çalışmalar ve bununla beraber çalışmamız sonucunda saptanmış mutasyonların (99C>T ve 991A>G) CYP2C19 genotip paneline eklenmesi sadece klopidogrel'in etki mekanizması değil aynı zamanda CYP2C19 gen mutasyonlarının neden olduğu diğer fonksiyon bozukluklarının anlaşılmasına da yardımcı olacaktır.

Trombosit agregometrisi ile yapılan çalışmalarda klopidogrel yükleme dozu verildikten sonra kan örneğinin alınması konusu tartışmalıdır. Çalışmamızın tasarlama sürecinde bu konuya açıklık getirmek amacı ile klopidogrel yükleme dozu verildikten sonra 6. ve 24. saatlerde trombosit agregometrisi tetkiki yapılarak hasta popülasyonunda trombosit fonksiyonlarının uygulanan tedavi sonrası kardiyovasküler olaylar açısından en riskli olan ilk 24 saat içinde değişimini saptamayı amaçladık. Araştırma sonucunda genetik veriler 4 farklı grupta karşılaştırıldı. Hastalar klopidogrel yükleme dozu sonrasında 6. saatte yapılan trombosit agregometrisi sonucuna göre dirençli ve normal yanıtli, 24. saatte yapılan teste göre dirençli ve normal yanıtli, hem 6. saat hem de 24. saat yapılan testte dirençli ve normal yanıt saptanmış ve her iki test sonucuna göre en az birinin yorumlanmasında direnç saptanmış olması şeklinde gruplandırıldı ve genetik mutasyonlarla ilişkisi açısından değerlendirildi. İstatistiksel analiz sonucu olarak klopidogrel yüklenme dozunu takiben 24. saatte gerçekleştirilen test sonucu ile CYP2C19 I ve VII eksonunda olan 99C>T, 991A>G TNP'leri arasında anlamlı ilişki olduğu saptandı (sırası ile  $p=0.021$  ve  $p=0.021$ ). Bu çalışmada CYP2C19 geninin DNA dizi analizi yapılan bölgeleri protein kodlayan (ekson) ve protein kodlaması yapmayan (intronik) bağlantı bölgeleri birlikte analiz edilmiştir.

Literatürde CYP2C19 geninin V eksonunda yer alan 681G>A mutasyonu genellikle hasta grubunda patolojik komplikasyonlarla ilişkili bulunmuş ve genotip-fenotip düzeyindeki korelasyonları gösterilmiştir (92,104,147). Aynı çalışmalarda yapılan genetik analiz sırasında CYP2C19 geninin I eksonunda yer alan 99C>T ve CYP2C19 geninin VII eksonunda yer alan 991A>G mutasyonları da saptanmış ama bu mutasyonların genotip-fenotip düzeyindeki etkileri anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda CYP2C19 geninin V eksonunda yer alan nolu 681G>A mutasyonu klopidogrel tedavisine dirençli hasta grubunda gösterilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bununla birlikte CYP2C19 geninin I eksonunda yer alan 99C>T ve CYP2C19 geninin VII eksonunda yer alan 991A>G mutasyonlarının klopidogrel tedavisine dirençle ilişkili olduğunu saptadık. CYP2C19 geninin VII eksonunda yer alan 990C>T mutasyonu ise klopidogrel tedavisine dirençle ilişkili bulunmadı. Bu noktada farklı etnik popülasyonlar açısından bakıldığında saptanmış olan CYP2C19 grubu mutasyonları patojenik ve nonpatojenik olarak kullanılan moleküler yöntemler ve örneklem grubu farklılıkları da göz önüne alınarak daha ayrıntılı karşılaştırmalarla değerlendirilmesi uygundur. Çalışmamız verilerine bakarak CYP2C19 geninin I eksonunda yer alan 99C>T ve CYP2C19 geninin VII eksonunda yer alan 991A>G mutasyonlarının türk etnik popülasyonunda Mİ hastalarındaki klopidogrel direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Tüm dünyada aktif olarak yapılmakta olan bilimsel araştırmalarda çalışılan CYP2C19 geni farklı popülasyon ve etnik gruplarda incelenerek analiz edilmiştir (104). Buna uygun olarak bizim çalışmamızda sadece Türk popülasyonundaki CYP2C19 gen mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. Çünkü farklı gen bölgelerinde gösterilmiş olan birbirinden farklı mutasyonların farklı ırk veya etnik popülasyonlarda aynı patojenik sonuçlara neden olmadığı bilinmektedir. Bir gen lokasyonunda gözlenen mutasyon sadece popülasyonlar arası değil aynı zamanda aynı popülasyonun farklı bireyleri arasında da fenotipik çeşitlilik gösterebilmektedir. Literatürde farklı etnik popülasyonlarda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlara varılmıştır. Ailesel akdeniz ateşi (FMF) hastalığından sorumlu olarak gösterilen MEFV geninde bulunan ve klinik olarak semptomsuz seyreden bazı mutasyonlar farklı etnik popülasyonlarda farklı klinik belirtilere neden olduğu gösterilmiştir (149). Örneğin R202Q mutasyonu Yunan ve Türk popülasyonlarında FMF hastalığı klinik komplikasyonları ile ilişkili bulunmasına rağmen diğer popülasyonlarda bu genetik polimorfizm nonpatojenik olarak belirtilmiştir (149).

Farmakogenetik çalışmaların en önemli amaçlarından biri bireyselleştirilmiş tedaviyi sunmaktır. Özellikle mutasyonların bireysel düzeydeki heterojen fenotipik yansımaları farklı mutasyon genotiplerinin metabolizörler ve nonmetabolizörler olarak değerlendirilmesiyle hastaların tedavi şeklinin belirlenmesinde klinisyene yol gösterecektir..

## 6. ÖZET

**Giriş:** Aterosklerotik kalp hastalığı hastalarında uygulanan antitrombositer tedaviye yanıt değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmanın amacı akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü olan Türklerden oluşan bir hasta popülasyonunda klopidogrel direnci ile CYP2C19 gen mutasyonu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir.

**Gereç ve yöntem:** Ocak 2011 ve Temmuz 2011 tarihleri arasında başvuran 60 akut ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü (Mİ) hastası çalışmaya dahil edildi. Hastalara başvuru esnasında 300 mg klopidogrel verildikten sonra 6. ve 24. Saatte hastaların trombosit fonksiyonları Multiplate analyzer cihazı ile değerlendirildi. Agregasyon sonuçlarına göre klopidogrel tedavisine dirençli saptanan 30 hasta ve kontrol grubu olarak klopidogrel tedavisine direnç saptanmayan 30 hasta CYP2C19 gen tek nükleotid polimorfizmi (TNP) açısından analiz edildi.

**Bulgular:** Çalışmamızda CYP2C19 geninin I eksonunda yer alan 99C>T TNP ve CYP2C19 geninin VII eksonunda yer alan 991A>G TNP klopidogrel tedavisine dirençle ilişkili bulundu (p=0,021 ve p=0,021). Bununla birlikte CYP2C19 geninin V eksonunda yer alan 681G>A TNP ve VII eksonunda yer alan 990C>T TNP klopidogrel tedavisine dirençli hasta grubunda gösterilmesine rağmen dirençle istatistiksel olarak ilişkili bulunmadı (p=0,748 ve p=0,706).

**Sonuç:** Çalışmamızda CYP2C19 geninin I eksonunda yer alan 99C>T TNP ve CYP2C19 geninin VII eksonunda yer alan 991A>G TNP'lerinin diğer etnik popülasyonlarda nonpatogenik olmasına rağmen Türk etnik popülasyonundaki Mİ hastalarında klopidogrel direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Farklı gen bölgelerinde gösterilmiş olan mutasyonların farklı ırk veya etnik popülasyonlarda farklı patojenik sonuçlara neden olduğu ve hastaların tedavi şeklinin etnik popülasyona özgü verilere dayandırılması önem taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Miyokard infarktüsü; Klopidogrel direnci; CYP2C19 gen mutasyonu.

## 7. ABSTRACT

**Background:** Response to antiplatelet therapy in patients with atherosclerotic heart disease is variable. The aim of this study was to determine the association between clopidogrel resistance and mutation of CYP2C19 gene in patients with ST elevated acute myocardial infarction (MI) in a Turkish patient population.

**Method:** Sixty patients with ST elevated acute MI who were admitted to hospital between January 2011 and July 2011 were included to this study. Patients' platelet reactivity was measured by multiple electrode aggregometer (Multiplate Analyzer) on 6th and 24th hour after administration of 300 mg of clopidogrel. To identify the role of single nucleotide polymorphism (SNP) of CYP2C19 gene in clopidogrel resistance 30 patients with clopidogrel non-responsiveness and 30 patients with normal clopidogrel response were analyzed.

**Results:** We identified associations between clopidogrel resistance and 99C>T SNP on I exon of CYP2C19 gene and 991A>G SNP on VII exon of CYP2C19 gene ( $p=0.021$  and  $p=0.021$ ). Despite appearance of 681G>A SNP on V exon of CYP2C19 gene and 990C>T SNP on VII exon of CYP2C19 gene in group with clopidogrel non-responsiveness, the presence of these polymorphisms was not associated with clopidogrel resistance statistically ( $p=0.748$  and  $p=0.706$ , respectively).

**Conclusion:** Although 99C>T SNP on I exon of CYP2C19 gene and 991A>G SNP on VII exon of CYP2C19 gene were determined as nonpathogenic SNPs in different ethnic populations, we found significant association between these SNPs and clopidogrel resistance in a Turkish patient population with MI in the present study. Considering the fact of variability in pathogenic consequences of various mutations shown in different gene zones of various racial and ethnic populations, strategy of treatment should be based on data specific to the ethnic population.

**Key Words:** Myocardial Infarction; Clopidogrel Resistance; CYP2C19 gene mutation.

## 8. KAYNAKLAR

1. Rosamond W, Flegal K, Friday G, et al. Heart disease and stroke statistics – 2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2007; 115:e69-171.
2. Onat A, Dursunoğlu D, Bulur S, Küçükduymaz Z, Kaya Z, Ordu S ve ark. TEKHARF 2009 taraması: kırsal kesim ve kentşerde benzer kardiyovasküler ölüm riski. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2010;38:159-163.
3. Griffin BP, Topol EJ, et al. *Manual of Cardiovascular Medicine*. New York: Lippricot Williams & Wilkins, 2010.
4. Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart* 2000; 83: 361-366.
5. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell* 2001; 104: 503-516.
6. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 104: 365-372.
7. Mallat Z, Benamer H, Hugel B et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2000; 101: 841-843.
8. Servoss SJ, Januzzi JL, Muller JE. Triggers of acute coronary syndromes. *Prog Cardiovasc Dis* 2002; 44: 369-380.
9. Falk E. Widespread targets for friendly fire in acute coronary syndromes. *Circulation* 2004; 110: 4-6.
10. Falk E, Shah PK, Fuster V. Atherothrombosis and thrombosis-prone plaques. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, et al., eds. *Hurst's the Heart*, 2004. New York: McGraw-Hill, pp. 1123-1139.
11. Mann J, Davies MJ. Mechanisms of progression in native coronary artery disease: role of healed plaque disruption. *Heart* 1999; 82: 265-268.
12. Fernandez-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 1562-1569.
13. Tedgui A, Mallat Z. Apoptosis as a determinant of atherothrombosis. *Thromb Haemost* 2001; 86: 420-426.

14. Tabardel Y, Duchateau J, Schmartz D et al. Corticosteroids increase blood interleukin-10 levels during cardiopulmonary bypass in men. *Surgery* 1996; 119: 76-80.
15. Ardissino D, Merlini PA, Ariens R, Coppola R, Bramucci E, Mannucci PM. Tissue-factor antigen and activity in human coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1997; 349: 769-771.
16. Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002; 8: 1227-1234.
17. Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J, Vele O, Lieb M, Nemerson Y. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. *Nat Med* 2003; 9: 458-462.
18. Luscher TF, Serruys PW. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*. Oxford: Blackwell Pub, 2006.
19. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 2173-2195.
20. Licka M, Zimmermann R, Zehelein J, et al. Troponin T concentrations 72 hours after myocardial infarction as a serological estimate of infarct size. *Heart* 2002;87:520-524.
21. Lee KL, Woodlief LH, Topol EJ, et al. Predictors of 30-day mortality in the era of reperfusion for acute myocardial infarction. Results from an international trial of 41,021 patients. GUSTO-I Investigators. *Circulation* 1995;91:1659-1668.
22. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2, ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet* 1988;2:349-360.
23. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, et al. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005;352:1179-1189.
24. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1607-1621.
25. Long-term effects of intravenous thrombolysis in acute myocardial infarction: final report of GISSI study. Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico (GISSI). *Lancet* 1987;2:871-874.

26. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. The GUSTO investigators. *N Engl J Med* 1993;329:673-682.
27. A comparison of reteplase with alteplase for acute myocardial infarction. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO III) Investigators. *N Eng J Med* 1997;337:1118-1424.
28. Van De Werf F, Adgey J, Ardissino D, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet* 1999;354:601-602.
29. Yardımcı KT, Göker B, Şener A, Tetik Ş, Oba R, Ulutin ON: Trombositlerde Transport Sistemleri. 4. Ulusal Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi, 26-28 Eylül 2003, Edirne, 33-43.
30. Langer HF, Gawaz M. Platelet-vessel wall interactions in atherosclerotic disease. *Thromb Haemost* 2008; 99: 480-6.
31. Cattaneo M. Aspirin and clopidogrel: efficacy, safety, and the issue of drug resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1980-7.
32. Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eur Heart J* 2006;27: 647-54.
33. Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke* 1994; 25: 2331-6.
34. Müller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003; 89: 783-7.
35. Bliden KP, DiChiara J, Tantry US, Bassi AK, Chaganti SK, Gurbel PA. Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate? *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 657-66.
36. Ajzenberg N, Aubry P, Huisse MG, Cachier A, El Amara W, Feldman LJ, Himbert D, Baruch D, Guillin MC, Steg PG. Enhanced shear-induced platelet aggregation in patients who experience subacute stent thrombosis: a case-control study. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1753-6.



37. Gurbel PA, Tantry US. Clopidogrel resistance? *Thromb Res* 2007; 120: 311-21.
38. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650-5.
39. Chen WH, Lee PY, Ng W, Tse HF, Lau CP. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1122-6.
40. Michelson AD. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation*. 2004; 110: 489-93.
41. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Br Med J* 2002; 324: 71-86.
42. Tetik S, Eksioğlu-Demiralp E, Yardimci KT: Effect of imatinib mesylate on platelet aggregation and fibrinogen binding. to isolated platelets. *Adv Mol Med*. 2005; 1: 165-170.
43. Jafri SM, Ozawa T, Mammen E, Levine TB, Johnson C, Goldstein S. Platelet function, thrombin and fibrinolytic activity in patients with heart failure. *Eur Heart J* 1993; 14: 205-12.
44. Rossi E, Casali B, Regolisti G, Davoli S, Perazzoli F, Negro A, Sani C, Tumiatì B, Nicoli D. Increased plasma levels of platelet-derived growth factor (PDGF-BB+PDGF-AB) in patients with never-treated mild essential hypertension. *Am J Hypertens* 1998; 11: 1239-43.
45. Nidorf S.M., Sturm M., Strophair J., Kendrew P.J., Taylor R.R. Whole blood aggregation, thromboxane release and the lyso derivative of platelet activating factor in myocardial infarction and unstable angina. *Cardiovasc Res* 1989; 23: 273-8.
46. Tetik S, Uras F, Ekşioğlu-Demiralp E, Turay Yardimci K. Low-density lipoprotein specifically binds glycoprotein IIb/IIIa: a flow cytometric method for ligand-receptor interaction. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008; 14: 210-9.

47. Özsvacı D, Yardımcı KT, Yanıkkaya-Demirel G, Uras F, Hekim N, Ulutin ON. Apo A-1 binding to platelets detected by flow cytometry. *Thromb Res* 2001; 103: 117-22.
48. Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Valeri CR, Furman MI. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 104: 1533-7.
49. Tetik S. "Detection of Platelet Function with Cytometric Bead Array. VII. National Thrombosis, Hemostasis and Angiology Congress, 4-6 May 2007, Cukurova University , School of Medicine-Eds. Orhan N. Ulutin, Adana (ISBN: 978-9944-5184-1-3), pp. 425
50. Minamino T, Kitakaze M, Sanada S, Asanuma H, Kurotobi T, Koretsune Y, Fukunami M, Kuzuya T, Hoki N, Hori M. Increased expression of P-selectin on platelets is a risk factor for silent cerebral infarction in patients with atrial fibrillation: role of nitric oxide. *Circulation* 1998; 98: 1721-7.
51. Furman MI, Benoit SE, Barnard MR, Valeri CR, Borbone ML, Becker RC, Hechtman HB, Michelson AD. Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 352-8.
52. Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, Fox ML, Shilale EA, Lessard DM, Marchese P, Frelinger AL 3rd, Goldberg RJ, Michelson AD. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1002-6.
53. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML; CAPTURE Study Investigators. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003; 348: 1104-11.
54. Tetik S, Uras F, Yardimci KT. Purification and characterization of human platelet fibrinogen receptor the GpIIb/IIIa complex. *Turkish Journal of Pharmaceutical Science*. 2005; 2:155-62.
55. Griesshammer M, Beneke H, Nussbaumer B, Grunewald M, Bangerter M, Bergmann L. Increased platelet surface expression of P-selectin and thrombospondin as markers of platelet activation in essential thrombocythaemia. *Thromb Res* 1999;96:191-6.

56. Furman MI, Krueger LA, Frelinger AL 3rd, Barnard MR, Mascelli MA, Nakada MT, Michelson AD. GPIIb-IIIa antagonist-induced reduction in platelet surface factor V/Va binding and phosphatidylserine expression in whole blood. *Thromb Haemost* 2000;84: 492-8.
57. Poley S, Mempel W. Laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia: advantages of a functional flow cytometric test in comparison to the heparin-induced platelet-activation test. *Eur J Haematol* 2001; 66: 253-62.
58. Geiger J, Brich J, Hönig-Liedl P, Eigenthaler M, Schanzenbächer P, Herbert JM, Walter U. Specific impairment of human platelet P2Y(AC) ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19: 2007-11.
59. Smith JW, Steinhubl SR, Lincoff AM, Coleman JC, Lee TT, Hillman RS, Collier BS. Rapid platelet-function assay: an automated and quantitative cartridge-based method. *Circulation* 1999; 99: 620-5.
60. Ak K, Isbir CS, Tetik S, Atalan N, Tekeli A, Aljodi M, Civelek A, Arsan S. Thromboelastography-based transfusion algorithm reduces blood product use after elective CABG: a prospective randomized study. *Journal of cardiac surgery* 2009;24:404-10.
61. Ak K, Atalan N, Tekeli A, İşbir S, Civelek A, Emekli N, Arsan S. Tromboelastografi ve kalp cerrahisinde kullanımı. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008; 8: 154-62.
62. Willoughby S, Holmes A, Loscalzo. Platelets and cardiovascular disease. *Eur J Cardiovasc Nurs.* 2002;1: 273-88.
63. Frossard M, Fuchs I, Leitner JM, Hsieh K, Vlcek M, Losert H, Domanovits H, Schreiber W, Laggner AN, Jilma B. Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 110: 1392-7
64. Favaloro EJ, Kershaw G, Bukuya M, Hertzberg M, Koutts J. Laboratory diagnosis of von Willebrand disorder (vWD) and monitoring of DDAVP therapy: efficacy of the PFA-100(R) and vWF:CBA as combined diagnostic strategies. *Haemophilia* 2001;7:180-9.

65. Homoncik M, Blann AD, Hollenstein U, Pernerstorfer T, Eichler HG, Jilma B. Systemic inflammation increases shear stress-induced platelet plug formation measured by the PFA-100. *Br J Haematol* 2000;111: 1250-2.
66. Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ. Rapid assessment of glycoprotein IIb/IIIa blockade with the platelet function analyzer (PFA-100) during percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2001; 141: 226-233.
67. Frelinger AL 3rd, Hillman RS. Novel methods for assessing platelet function. *Am Heart J* 1998;135: S184-6.
68. Tetik Ş, Ak K. Kardiyovasküler hastalıklarda trombosit fonksiyon testleri: patofizyolojiden klinik yaklaşıma. *Cumhuriyet Med J* 2010; 32: 264-274.
69. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, et al. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J* 1998; 135 (5 Pt 2 Su): S170-8.
70. Sibbing D, Braun S, Jawansky S, Vogt W, Mehilli J, Schömig A, Kastrati A, von Beckerath N. Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost.* 2008 Jan;99(1):121-6.
71. Dyszkiewicz-Korpanty A, Olteanu H, Frenkel EP, Sarode R. Clopidogrel anti-platelet effect: an evaluation by optical aggregometry, impedance aggregometry, and the platelet function analyzer (PFA-100). *Platelets.* 2007 Nov;18(7):491-6.
72. Lange RA, Hillis LD. Antiplatelet therapy for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 2004;350:277– 80.
73. Dorsam RT, Kunapuli SP. Central role of the P2Y12 receptor in platelet activation. *J Clin Invest* 2004;113:340 –5.
74. Gachet C. Regulation of platelet functions by P2 receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006;46:277–300.
75. Patrono C, Baigent C, Hirsh J, Roth G, on behalf of American College of Chest Physicians. Antiplatelet drugs: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th edition). *Chest* 2008;133 Suppl 6:199S–233S.
76. Kushner FG, Hand M, Smith SC Jr., et al. 2009 focused updates: ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction (updating the 2004 guideline and 2007 focused update) and

- ACC/AHA/SCAI guidelines on percutaneous coronary intervention (updating the 2005 guideline and 2007 focused update) a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2205– 41.
77. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003;107:2908 –13.
  78. Gurbel PA, Becker RC, Mann KG, Steinhubl SR, Michelson AD. Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1822–34.
  79. Gurbel PA, Bliden KP, Hayes KM, Yoho JA, Herzog WR, Tantry US. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1392– 6.
  80. Angiolillo DJ, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, et al. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J* 2004;25:1903–10.
  81. Gurbel PA, Tantry US. Drug insight: clopidogrel nonresponsiveness. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:387–95.
  82. Kulickowski W, Witkowski A, Polonski L, et al. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on Antiplatelet Drugs Resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2009;30:426 – 35.
  83. Hagihara K, Kazui M, Kurihara A, et al. A possible mechanism for the differences in efficiency and variability of active metabolite formation from thienopyridine antiplatelet agents, prasugrel and clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2009;37:2145–52.
  84. Kazui M, Nishiya Y, Ishizuka T, et al. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos* 2010;38:92–9.

85. Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A, et al. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2002;30:1288–95.
86. Savi P, Zacharyus JL, Delesque-Touchard N, et al. The active metabolite of clopidogrel disrupts P2Y<sub>12</sub> receptor oligomers and partitions them out of lipid rafts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:11069–74.
87. Price MJ, Coleman JL, Steinhubl SR, Wong GB, Cannon CP, Teirstein PS. Onset and offset of platelet inhibition after high-dose clopidogrel loading and standard daily therapy measured by a point-of-care assay in healthy volunteers. *Am J Cardiol* 2006;98:681–4.
88. Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, et al. Randomized double-blind assessment of the ONSET and OFFSET of the antiplatelet effects of ticagrelor versus clopidogrel in patients with stable coronary artery disease: the ONSET/OFFSET study. *Circulation* 2009;120:2577–85.
89. Simon T, Verstuyft C, Mary-Karuse M, et al., on behalf of French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009;360:363–75.
90. Hochholzer W, Trenk D, Frundi D, et al. Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2005;111:2560–4.
91. Collet JP, Silvain J, Landivier A, et al. Dose effect of clopidogrel reloading in patients already on 75-mg maintenance dose: the Reload with Clopidogrel Before Coronary Angioplasty in Subjects Treated Long Term with Dual Antiplatelet Therapy (RELOAD) study. *Circulation* 2008;118:1225–33.
92. Gurbel PA, Antonino MJ, Tantry US. Recent developments in clopidogrel pharmacology and their relation to clinical outcomes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009;5:989–1004.
93. Marín F, González-Conejero R, Capranzano P, Bass TA, Roldán V, Angiolillo DJ. Pharmacogenetics in cardiovascular antithrombotic therapy. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1041–57.
94. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004;109:166–71.

95. Lau WC, Gurbel PA, Carville DG, et al. Saint John's wort enhances clopidogrel responsiveness in clopidogrel resistance volunteers and patients by induction of CYP3A4 isoenzymes (abstr). *J Am Coll Cardiol* 2007;49 Suppl:343A.
96. Bliden KP, DiChiara J, Lookman L, et al. The association of cigarette smoking with enhanced platelet inhibition by clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:531–3.
97. Berger JS, Bhatt DL, Steinhubl SR, et al., on behalf of CHARISMA Investigators. Smoking, clopidogrel, and mortality in patients with established cardiovascular disease. *Circulation* 2009;120:2337– 44.
98. Desai NR, Mega JL, Jiang S, Cannon CP, Sabatine MS. Interaction between cigarette smoking and clinical benefit of clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1273– 8.
99. Gilard M, Arnaud B, Cornily JC, et al. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated with aspirin: the randomized, double-blind OCLA (Omeprazole CLopidogrel Aspirin) study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:256–60.
100. Small DS, Farid NA, Payne CD, et al. Effects of the proton pump inhibitor lansoprazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of prasugrel and clopidogrel. *J Clin Pharmacol* 2008;48:475– 84.
101. Siller-Matula JM, Spiel AO, Lang IM, Kreiner G, Christ G, Gilma B. Effects of pantoprazole and esomeprazole on platelet inhibition by clopidogrel. *Am Heart J* 2009;157:148e1–5.
102. Sibbing D, Morath T, Stegherr J, et al. Impact of proton pump inhibitors on the antiplatelet effects of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2009;10:714 –9.
103. Verstuyft C, Simon T, Kim RB. Personalized medicine and antiplatelet therapy: ready for prime time? *Eur Heart J* 2009;30:1943– 63.
104. Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* 2009;302:849 –57.
105. Food and Drug Administration. Reduced effectiveness of Plavix (clopidogrel) in patients who are poor metabolizers of the drug. FDA drug safety communication. Available at: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/>

PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm203888.htm.  
Accessed March 24, 2010.

106. Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, et al. Cytochrome P450 2C19 681G\_A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1925–34.
107. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009;360:354–62.
108. Collet JP, Hulot JS, Pena A, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet* 2009;373:309–17.
109. Sibbing D, Stegherr J, Latz W, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2009;30:916–22.
110. Bhatt DL, Simonsen KL, Emison ES, et al., on behalf of the CHARISMA Executive Committee and Investigators. CHARISMA genomics. Paper presented at: Transcatheter Cardiovascular Therapeutics 2009 Meeting; September 30, 2009; San Francisco, California.
111. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, et al. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005;54:2430–5.
112. Angiolillo DJ, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, et al. Platelet aggregation according to body mass index in patients undergoing coronary stenting: should clopidogrel loading-dose be weight adjusted? *J Invasive Cardiol* 2004;16:169–74.
113. Sibbing D, von Beckerath O, Schömig A, Kastrati A, von Beckerath N. Platelet function in clopidogrel-treated patients with acute coronary syndrome. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007;18:335–9.
114. Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, et al. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:27–33.
115. Gori AM, Marcucci R, Migliorini A, et al. Incidence and clinical impact of dual nonresponsiveness to aspirin and clopidogrel in patients with drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:734–9.



116. Bliden KP, DiChiara J, Tantry US, Gurbel PA. Myonecrosis is predicted by lack of platelet inhibition measured by in response to multiple agonists in patients undergoing elective stenting: the risk of a global high platelet reactivity phenotype (abstr). *Circulation* 2007;116 Suppl:II517.
117. Özerol E(1996) Cytochrom P 450 containing monooksigenase enzyim systems, *Journal of Tugut Özal Medical Center*; 3(33), 257-275.
118. Çetin M (1999) Drug Interactions Psychiatric Practice. *Bull. Clin. Psichopharmacol*; 9(2), 78-92
119. Nemeroff CB, De Vane CL, Pollack BV (1996) Newer Antidepressants and the Cytochrom P450 System *Am. J. Psychtary*; 153, 311-320.
120. Rogers JF, Nafziger AN, Bertino JS (2002) Pharmacogenetics affects dosing, efficacy and toxicity of cytochrom P 450 metabolised drugs, *Am. J.Med*; 113, 746-750.
121. Linder MW, Looney S, Adams JE, Jonhnsn N, Antonino-Green D, Lacefield N, Bukaveckas BL, Valdes R Jr (2002) Warfarin dose adjustments based on CYP2C9 genetic polimorphsym *J.Thromb. Thrombolisis*; 14 (3), 223-232.
122. Alvan G (1991) Clinical consequences of polymorphic drug oxidation, *Fundam. Clin.Pharmacol*; 5, 209-228.
123. Kayaalp SO (1994) İlaçların Biyotransformasyonu, RTY Tıbbi Farmakoloji, Ankara Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti, 7. baskı, 1. Cilt, s. 97.
124. deMorais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J et al (1994b) Identification of a new genetic defect responsible for the polimorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese, *Mol Pharmacol*; 46, 594-598.
125. Kupfer A, Branch RA (1985) Steroselective mephobarbital hydroxylation cosegregates with mephenytoin hydroxylation, *Clin Pharmacol Ther*; 38, 414-418
126. Bertilsson L, Henthorn TK, Sanz E et al (1989) Importance of genetic factors in the regulation of diazepam metabolism: relationship to S-mephenytoin, but not debrisoquin, hydroxylation phenotype, *Clin Pharmacol Ther*; 45, 348-355.
127. Ward SA, Walle T, Walle UK et al (1989) Wilkinson GR, Branch RA: Propranolol's metabolism is determined by bothmephenytoin and debrisoquin hydroxylase activitie,. *Clin Pharmacol Ther*, 45, 72-79.
128. Helsby NA, Ward SA, Howells RE et al (1990) In vitro metabolism of the biguanide antimalarials in human liver microsomes: evidence for a role of the

- mephenytoin hydroxylase (P450MP) enzyme, *Br J Clin Pharmacol*; 30, 287-291.
129. Belpaire FM, Bogaert MG (1996) Cytochrome P450 Genetic polymorphism and druginteractions, *Acta Clin Belg*; 51-4, 254-260.
  130. Marzo A, Balant LP (1996) Investigation of xenobiotic metabolism by CYP2D6 and CYP2C19: importance of enantioselective analytical methods, *J Chromatogr B Biomed Appl*; 678, 73-92.
  131. Coller JK, Somogyi AA, Bochner F (1999) Comparison of (S)-mephenytoin and proguanil oxidation in vitro: contribution of several CYP isoforms, *Br J Clin Pharmacol*;48, 158-167.
  132. Yamazaki H., Asahi S., Gillam E.M.J., Guengerich F.P., Nakajima M., Yokohi T.: Formation of a dihydroxy metabolite of phenytoin by human liver microsomes 7 cytosol: Roles of cytochrom P450 2C9, 2C19 and 3A4. *Drug. Metab. Dispos.*, 28:1361-1368, 2000.
  133. Romkes M, Faletto MB, Blaisdell JA et al (1991) Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily, *Biochemistry*; 30, 3247-3255.
  134. Daly AK (1995) Molecular basis of polymorphic drug metabolism, *J Mol Med*; 73, 539-553.
  135. Meyer UA, Zanger UM (1997) Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; 37, 269-296.
  136. deMorais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J et al (1994a) The major genetic defect responsible of S-mephenytoin metabolism in humans, *J Biol Chem*; 269, 15419-422.
  137. deMorais SMF, Goldstein JA, Xie HG et al (1995) Genetic analysis of the S-mephenytoin polymorphism in a Chinese population, *Clin Pharmacol Ther*; 58, 404-411.
  138. Xiao ZS, Goldstein JA, Xie HG et al (1997) Differences in the incidence of the CYP2C19 polymorphism affecting the S-mephenytoin phenotype in Chinese Han and Bai populations and identification of a new rare CYP2C19 mutant allele, *J Pharmacol Exp Ther*; 281, 604-609.

139. Ferguson RJ, Demorais SMF, Benhamou S et al (1998) A new genetic defect in human CYP2C19: Mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of Smephenytoin, *J Pharmacol Exp Ther*; 284, 356-361.
140. Ibeanu GC, Blaisdell J, Ferguson RJ et al (1999) A novel transversion in the intron 5 donor splice junction of CYP2C19 and a sequence polymorphism in exon 3 contribute to the poor metabolizer phenotype for the anticonvulsant drug Smephenytoin, *J Pharmacol Exp Ther*; 290, 635-640.
141. Herken H, Öngen H.Z, Esgi K, Aynacıoğlu A (2000) Sitalopram Alımının Ardından Şiddetli Yan Etkiler Gelişen Üç Olgunun Sitokrom P450 2C19 ve 3A4 Açısından Değerlendirilmesi; *Klinik Psikiatri* 3,197-202.
142. Başçı N.E, Bozkurt A, Kortunay S, Sayal A, Işimer A, Kayaalp S.O. (1996) Proguanil metabolism in relation to S-mephenytoin oxidation in a Turkish population. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 42: 771-773.
143. Aynacıoğlu S, Brockmüller J, Bauer S, Sache S, Güzelbey P, Öngen Z, Nacak M, Roots I (1999) Frequency of Cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin, *Br J Clin. Pharmacol*; 48: 409-415.
144. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr.* 2005;18:1440-63.
145. Kereiakes DJ, Gurbel PA. Peri-procedural platelet function and platelet inhibition in percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol Intv* 2008;1:111–21.
146. Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. CYP2C19 allele nomenclature. Available at: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>. Accessed March 2010.
147. Gurbel PA, Tantry US, Antonino MJ, et al. The influence of cytochrome P450 2C19\*2 and \*17 genotype, diplotype and metabolizer status on platelet reactivity in patients on maintenance clopidogrel therapy. Paper presented at: 59th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology; March 13–16, 2010; Atlanta, GA.

148. Damani SB, Topol EJ. The case for routine genotyping in dual-antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:109–11.
149. Giaglis S, Papadopoulos V, Kambas K, Ritis K. MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever. *Clin Genet*. 2007 May;71(5):458-67.