

Varfarin tedavisi alan hastalarda CYP2C9 gen polimorfizminin araştırılması

Investigation of CYP2C9 gene polymorphism in patients receiving Warfarin therapy

Tutku Erarşlan, İbrahim Türkçüer, Aylin Köşeler, Ramazan Sabırlı, Atakan Yılmaz, Mert Özen, Abuzer Kekeç, Fatih Çifçibaşı

Gönderilme tarihi: 27.05.2020

Kabul tarihi: 28.07.2020

Özet

Amaç: Çalışmanın amacı varfarin tedavisi almakta olup hastanemize başvuran hastalarda, CYP2C9 gen polimorfizmi durumu ile haftalık doz ihtiyacı ve INR düzeyleri arasında ilişkiyi incelemektir.

Gereç ve yöntem: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisine başvuran, Varfarin tedavisi kullanan, toplam 100 hasta ve 100 kontrol grubu çalışma kapsamına alındı.

Bulgular: Varfarin kullanan grupta CYP2C9*1 allel frekansı %74; CYP2C9*2 allel frekansı %8,5; CYP2C9*3 allel frekansı %17,5; CYP2C9*1/*1 genotip frekansı %54; CYP2C9*1/*2 genotip frekansı %11; CYP2C9*1/*3 genotip frekansı %29; CYP2C9*2/*3 genotip frekansı %6 olarak saptandı. Varfarin grubunun CYP2C9 genotiplerine ve allellere göre acil servis başvurusundaki INR düzeylerine bakıldığında genotipler veya alleller arasında INR düzeyi açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,475$ ve $p=0,483$). Varfarin kullanılmaya başlandıktan sonra ilk kontrolde yapılan INR ölçümlerinde wild tip genotipe veya allele sahip bireylerde INR düzeyi diğer genotip ve allellere sahip bireylere göre belirgin olarak daha düşük saptandı (sırasıyla $p=0,038$ ve $p=0,032$). Varfarin tedavisi sırasında ölçülen pik INR değeri de aynı şekilde wild tip bireylerde diğer genotip veya allellere sahip bireylere göre daha düşük saptandı (sırasıyla $p=0,0001$ ve $p=0,008$).

Sonuç: CYP2C9 geninin mutant allel veya genotiplerini taşıyan hastaların ilk ve pik INR değerlerinin mutasyonsuz olan gruba göre yüksek saptanmış olması bu allellerin Varfarin metabolizmasına etkisini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: CYP2C9 gen polimorfizmi, Varfarin, antikoagülasyon.

Erarşlan T, Türkçüer İ, Köşeler A, Sabırlı R, Yılmaz A, Özen M, Kekeç A, Çifçibaşı F. Varfarin tedavisi alan hastalarda CYP2C9 gen polimorfizminin araştırılması. Pam Tıp Derg 2020;13:749-757.

Abstract

Purpose: The aim of the study is to investigate the relationship between CYP2C9 gene polymorphism status and weekly dose requirement and INR levels in patients who are receiving Warfarin treatment and admitted to our hospital.

Materials and methods: A total of 100 patients and 100 control groups who applied to the Emergency Department of Pamukkale University Medical Faculty, who used Warfarin treatment were included in the study.

Results: CYP2C9*1 allele frequency 74%, CYP2C9*2 allele frequency 8.5%, CYP2C9*3 allele frequency 17.5%, CYP2C9*1/*1 genotype frequency %54, CYP2C9*1/*2 genotype frequency 11%, CYP2C9*1/*3 genotype frequency 29%, CYP2C9*2/*3 genotype frequency 6% were found in the group using Warfarin. When the Warfarin group was measured according to CYP2C9 genotypes and alleles, there was no statistically significant difference between the genotypes or alleles in terms of INR levels ($p=0.475$ and $p=0.483$, respectively). In the INR measurements performed in the first control after the use of Warfarin, the INR level was found to be significantly lower in individuals with wild type genotype or allele compared to individuals with other genotypes and alleles ($p=0.038$ and $p=0.032$, respectively). The peak INR value measured during Warfarin treatment was likewise lower in wild-type individuals than in individuals with other genotypes or alleles ($p=0.0001$ and $p=0.008$, respectively).

Tutku Erarşlan, Dr. Bitlis Devlet Hastanesi, Acil Servis, Bitlis, Türkiye, e-posta: drtutkuerarşlan@hotmail.com (orcid.org/0000-0002-1903-5153)

İbrahim Türkçüer, Prof. Dr. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp A.D. Denizli, Türkiye, e-posta: iturkcuer@pau.edu.tr (orcid.org/0000-0001-8342-4615) (Sorumlu Yazar)

Aylin Köşeler, Doç. Dr. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik A.D. Denizli, Türkiye, e-posta: aylinkoeseler@gmail.com (orcid.org/0000-0003-4832-0436)

Ramazan Sabırlı, Dr. Öğr. Üye. Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp A.D. Kars, Türkiye, e-pota: ramazan_sabirli@hotmail.com (orcid.org/0000-0003-4599-5833)

Atakan Yılmaz, Dr. Öğr. Üye. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp A.D. Denizli, Türkiye, e-posta: dr_atakanyilmaz@yahoo.com (orcid.org/0000-0002-9773-5681)

Mert Özen, Dr. Öğr. Üye. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp A.D. Denizli, Türkiye, e-posta: ozenmert@yahoo.com (orcid.org/0000-0001-6653-3756)

Abuzer Kekeç, Dr. Tunceli Devlet Hastanesi, Acil Servis, Tunceli, Türkiye, e-posta: abuzerkekec@gmail.com (orcid.org/0000-0003-0193-4721)

Fatih Çifçibaşı, Dr. Tatvan Devlet Hastanesi, Acil Servis, Bitlis, Türkiye, e-posta: fatihcificibasi@hotmail.com (orcid.org/000-0003-0049-1682)

Conclusion: The fact that the first and peak INR values of patients carrying the mutant allele or genotypes of the *CYP2C9* gene were higher than the non-mutated group reveals the effect of these alleles on Warfarin metabolism.

Key words: *CYP2C9* gene polymorphism, Warfarin, anticoagulation.

Erarslan T, Turkcuer I, Koseler A, Sabirli R, Yılmaz A, Ozen M, Kekec A, Cifcibasi F. Investigation of *CYP2C9* gene polymorphism in patients receiving Warfarin therapy. Pam Med J 2020;13:749-757.

Giriş

Oral antikoagülanlar, tromboembolik bozuklukların tedavisinde ve profilaksisinde sık kullanılmaktadırlar [1-5]. Warfarin, dünyada oral antikoagülan olarak en yaygın kullanılan ilaçtır [6]. Bireylerin Warfarine olan yanıtı çok farklıdır. Warfarin protrombin zamanını uzatır ve hastalar international normalized ratio (INR) ile yakın takip edilir. INR hesaplaması ise $[INR = (\text{Protrombin zamanı hasta} / \text{Protrombin zamanı normal})^{ISI}]$ formülü ile hesaplanır. ISI ise uluslararası duyarlılık indeksi [international sensitivity index (ISI)] olarak bilinir [7]. Takibe rağmen yine de her yıl tahmini olarak %7,6-16,5 oranında kanama komplikasyonu görülür. Kanama komplikasyonu en sık Warfarin tedavisinin başlangıç döneminde görülür [2, 8].

Warfarin, antikoagülan etkisini, vitamin K epoksit'den, indirgenmiş vitamin K oluşumunu sağlayan vitamin K epoksit redüktaz enzimini inhibe ederek göstermektedir [9]. Bu protein, vitamin K epoksit redüktaz kompleks subunit 1 geni (*VKORC1*) olarak kodlanmış olup, bu gen mutasyonlarında pıhtılaşma faktör eksiklikleri ve Warfarin direnci olduğu bildirilmiştir [10].

Sitokrom *P4502C9* (*CYP2C9*), Warfarin gibi birçok önemli ilacın oksidatif metabolizması için gerekli olan bir karaciğer enzimidir ve *CYP2C9* bölgesinde bir dizi genetik polimorfizm tanımlanmıştır [11, 12]. Bu genetik mutasyonlardan biri; ekson 3 pozisyon 144'de, arjininin sisteinle yer değiştirdiği *CYP2C9*2* alleli (Arg144Cys), diğeri ekson 7 pozisyon 359'da izolösinin lösinle yer değiştirdiği *CYP2C9*3* alleli (Ile359Leu)'dir. Bu mutasyonlar invitro Warfarin hidrosilasyonundaki bozulmayı gösterir [13, 14]. *CYP2C9* allellerinden biri olan *CYP2C9*1* alleli wild tipi en yaygın tip olup, doğal tip genotip olarak bilinir. *CYP2C9*2* allelini taşıyan hastalardaki enzim aktivitesi, wild tip enzim aktivitesinin %12'sini oluşturur. *CYP2C9*3* allelini taşıyan hastalardaki enzim aktivitesi ise %5'tir [13, 15, 16]. Her iki varyant

allelin, kararlı dozu elde etme gücüne sebep olduğu, Warfarin doz gereksiniminde azalma ve ilaç kullanımının erken döneminde daha yüksek kanama riski ile ilişkisi olduğu görülmüştür [17-23]. Warfarin tedavi uygulamasında doz ayarlanması, hastanın diyeti, eşlik eden hastalık durumu, kilosu, diğer kullandığı ilaçlar ve genetik faktörlere göre değişkenlik göstereceği için, etkili ve güvenli doz ayarını yapmak zordur.

Çalışmadaki amacımız; Warfarin tedavisi almakta olup hastanemize başvuran hastalarda, *CYP2C9* gen polimorfizmi durumu ile haftalık doz ihtiyacı ve INR düzeyi arasında ilişkiyi incelemektir.

Gereç ve yöntem

Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan etik kurul onayı alındı. Etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Tüm hastalar ve sağlıklı gönüllüler yapılacak işlem ve uygulamalarla ilgili yazılı ve sözlü olarak bilgilendirildi ve yazılı olarak çalışmaya katılacaklarına dair imzalı onay alındı.

Örneklem seçimi

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisine başvuran, Warfarin tedavisi kullanan, toplam 100 hasta ve 100 kontrol grubu (gönüllü sağlıklı denek) çalışma kapsamına alındı. Evrendeki birey sayısı bilinmeyen örneklem genişliği formülüne göre ($\alpha=0,05$, prevalans=0,07, $d=0,05$) evreni temsil edecek en az örnek büyüklüğü 100 olarak bulundu (prevalansın %7 düzeyinde olacağı ön görüldü).

Hasta verilerinin elde edilmesi

Hastane bilgi yönetim sisteminde hastaya Warfarin başlanması sonrası ilk ölçülen INR değeri (1 hafta sonraki) ve başvuru süresine kadar olan en yüksek (pik) INR değeri veri setine kaydedildi. Ayrıca hastanın kilosu, haftalık Warfarin kullanım dozu ve acil servise

başvurusunda ölçülen INR değeri veri setine kaydedildi.

DNA elde edilmesi

Çalışmada yer alabilecek olan gönüllü bireylerden ortalama 5 ml antikogülanlı (K3EDTA) vakumlu tüplere kan alınarak, standart fenol-kloroform yöntemine göre genomik DNA izolasyonu yapıldı. Bireylerden alınan 4-5 ml kan örnekleri %2'lik 1 ml etilen diamintetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere konulduktan sonra kan örnekleri DNA'lar izole edilmek için -80°C'de bekletildi.

CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 allelik varyantlarının belirlenmesi

Elde edilen genomik DNA'larda; PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi ile CYP2C9 genine özgü bölge çoğaltılarak ve bu bölgelerde yer alan polimorfik odaklar restriksiyon enzimi ile kesilerek, yüksek çözünürlükteki agaroz jelde gözlemlendi ve PCR/RFLP tabanına dayalı genotipleme yapıldı. CYP2C9*2 ve CYP2C9*3 varyantının taranması için *Avall* enzimleri kullanıldı (Bu enzimler polimorfik odakların varlığında kesme işlemi yapmaktadır).

CYP2C9*2 varyantı için kullanılan primer çifti:

Forward 5' -TAC AAA TAC AAT GAA AAT ATC ATG- 3'

Reverse5' -CTA ACA ACC AGA CTC ATA ATG- 3'

CYP2C9*3 varyantı için kullanılan primer çifti:

Forward 5' -AAT AATAAT ATG CAC GAG GTC CAG AGA TGC- 3'

Reverse5 ' -GAT ACT ATG AAT TTG GG- 3'

Dahil etme kriterleri

Hasta grubuna; çalışmaya dahil olmak için yazılı onam veren 18 yaşından büyük, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri olağan olan, bilinen kanama diyatezi bulunmayan, en az 3 aydır aynı dozda Varfarin kullanan, sigara ve kronik alkol kullanıcısı olmayan, kronik hastalık ve ilaç kullanım öyküsü olmayan hastalar dahil edildi.

Kontrol grubuna ise Varfarin ve benzeri koagülasyon üzerine etkili ilaç kullanmayan, herhangi bir sebeple acil servise başvuran, çalışmaya dahil olmak için yazılı onam veren 18 yaşından büyük, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri olağan olan, bilinen kanama diyatezi bulunmayan, hastalar dahil edildi.

Dışlama kriterleri

Varfarin harici başka antikoagülan kullanımı olan, karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu olan, bilinen kanama diyatezi varlığı olan hastalar çalışmadan dışlandı.

İstatistiksel analiz

Veri analizinde "SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0" istatistik paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, medyan (IQR) ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi ve tek yönlü varyans analizi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Ayrıca kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelendi. Tüm incelemelerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Sağlıklı grubun %56'sı (n=56) erkek, %44'ü (n=44) kadın, Varfarin kullanan grubun ise %47'si (n=47) erkek, %53'ü (n=53) kadınlardan oluşmaktadır. Sağlıklı grubun yaş ortalaması $58,72 \pm 15,75$; Varfarin grubunun yaş ortalaması ise $65,41 \pm 13,88$ olarak saptandı. Varfarin grubu ve sağlıklı grup arasında cinsiyet ve yaş açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,253$ ve $p=0,145$). Varfarin kullanan grubun acil servis başvurusunda ölçülen ortalama INR değeri $3,59 \pm 3,49$ olarak saptandı. Varfarin kullanan grubun acil servise başvurduğu sırada haftalık ortalama Varfarin kullanım dozu $29,25 \pm 11,69$ mg olarak saptandı (Tablo 1).

Tablo 1. Hastaların başlangıç verileri

	Varfarin Grubu n=100		Kontrol Grubu n=100		p Değeri
Cinsiyet	Erkek n (%)	47 (%47)	Erkek n (%)	56 (%56)	$p^1=0,253$
	Kadın n (%)	53 (%53)	Kadın n (%)	44 (%44)	
	Ort.±St. Sapma	Ortanca (25-75. Çeyrekler)	Ort.±St. Sapma	Ortanca (25-75. Çeyrekler)	
Yaş	65,41±13,88	62,75 (46-76)	58,72±15,75	59 (49-69,75)	$p^2=0,145$
INR	3,59±3,49	2,42 (1,48-3,97)			
Haftalık Varfarin Dozu	29,25±11,69	28,75 (17,5-35)			

p^1 değeri Pearson Ki-Kare testinden elde edilmiştir.

p^2 değeri Mann Whitney U testinden elde edilmiştir.

Tüm çalışma popülasyonunda *CYP2C9*1* allel frekansı %70,5 (n=282), *CYP2C9*2* allel frekansı %13,5 (n=54), *CYP2C9*3* allel frekansı %16 (n=64) olarak saptandı. *CYP2C9*1/*1* genotip frekansı %46,5 (n=93), *CYP2C9*1/*2* genotip frekansı %21,5 (n=43), *CYP2C9*1/*3* genotip frekansı %26,5 (n=53), *CYP2C9*2/*3* genotip frekansı %5,5 (n=11) olarak saptandı.

Varfarin kullanan grupta *CYP2C9*1* allel frekansı %74 (n=148), *CYP2C9*2* allel frekansı %8,5 (n=17), *CYP2C9*3* allel frekansı %17,5 (n=35) olarak saptandı. Sağlıklı grupta ise *CYP2C9*1* allel frekansı %67 (n=134), *CYP2C9*2* allel frekansı %18,5 (n=37), *CYP2C9*3* allel frekansı %14,5 (n=29) olarak saptandı. *CYP2C9*2/*2* ve **3/*3* genotiplerine sahip herhangi bir olgu tespit edilmedi. Varfarin kullanan grupta *CYP2C9*1/*1* genotip frekansı %54 (n=54), *CYP2C9*1/*2* genotip frekansı %11 (n=11), *CYP2C9*1/*3* genotip frekansı %29 (n=29), *CYP2C9*2/*3* genotip frekansı %6 (n=6) olarak saptandı (Tablo 2).

Varfarin grubunun *CYP2C9* genotiplerine ve allellere göre acil servis başvurusundaki INR düzeylerine bakıldığında genotipler veya alleller

arasında INR düzeyi açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,475$ ve $p=0,483$) (Tablo 3).

Varfarin kullanan hastaların *CYP2C9* genotiplerine ve allellere göre acil servis başvurusundaki haftalık kullandıkları Varfarin dozuna bakıldığında genotipler veya alleller arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,792$ ve $p=0,88$) (Tablo 4).

*CYP2C9*1/*1* genotipi ve *CYP2C9*1* alleli wild tip olarak değerlendirilerek Varfarin kullanan hastalar gruplandırıldığında hastaların Varfarin başlandıktan sonra ilk kontrolde yapılan INR ölçümlerinde wild tip genotipe veya allele sahip bireylerde acil servis başvurusu sırasındaki INR düzeyi diğer genotip ve allellere sahip bireylere göre belirgin olarak daha düşük saptandı (sırasıyla $p=0,038$ ve $p=0,032$) (Tablo 5).

Varfarin tedavisi sırasında ölçülen pik INR değeri de aynı şekilde wild tip bireylerde diğer genotip veya allellere sahip bireylere göre daha düşük saptandı (sırasıyla $p=0,0001$ ve $p=0,008$) (Tablo 5).

Tablo 2. Gruplarda allel ve genotip frekansları

Varfarin Grubu n=100 genotip, n=200 Allel				Kontrol Grubu n=100 genotip, n=200 Allel				p Değeri
Genotip	n (%)	Allel	Frekans n (%)	Genotip	Frekans n (%)	Allel	Frekans n (%)	
*1/*1	54 (%54)	*1	148 (%74)	*1/*1	39 (%39)	*1	134 (%67)	p ¹ =0,004 p ² =0,013
*1/*2	11 (%11)	*2	17 (%8,5)	*1/*2	32 (%32)	*2	37 (%18,5)	
*1/*3	29 (%29)	*3	35 (%17,5)	*1/*3	24 (%24)	*3	29 (%14,5)	
*2/*3	6 (%6)			*2/*3	5 (%5)			
*2/*2	0 (%0)			*2/*2	0 (%0)			
*3/*3	0 (%0)			*3/*3	0 (%0)			

p¹ değeri Kruskal Wallis analizinden elde edilmiştir ve gruplardaki genotip frekansları arasındaki ilişkiyi göstermektedir.
p² değeri Kruskal Wallis analizinden elde edilmiştir ve gruplardaki allel frekansları arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

Tablo 3. Varfarin kullanan hastalarda genotip ve allel farklılıklarının INR değeri ile ilişkisi

INR Değeri							
Genotip	Ort.±St. Sapma	Ortanca (25-75. Çeyrek)	p Değeri	Allel	Ort.±St. Sapma	Ortanca (25-75. Çeyrek)	p Değeri
*1/*1	3,93±3,77	2,6 (1,48-4,3)		*1	3,72±3,63	2,5 (1,48-4,02)	p ³ =0,483 p ⁴ =0,447
*1/*2	4,63±5,36	2,97 (1,29-4,67)	p ¹ =0,475 p ² =0,267	*2	4,17±4,46	2,72 (1,51-6,35)	
*1/*3	2,63±1,87	1,87 (1,42-3,06)		*3	2,75±1,91	1,99 (1,44-3,2)	
*2/*3	3,33±2,2	2,35 (1,56-6,08)					

p¹ değeri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir ve tüm genotiplerdeki INR düzeylerinin analizini göstermektedir.

p² değeri Mann-Whitney U testinden elde edilmiştir ve CYP2C9 *1/1 genotipi ve diğer tüm genotipler arasındaki INR düzeylerinin analizini göstermektedir.

p³ değeri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir ve tüm allellerle INR düzeylerinin analizini göstermektedir.

p⁴ değeri Mann-Whitney U testinden elde edilmiştir ve CYP2C9 *1 alleli ve diğer tüm alleller arasındaki INR düzeylerinin analizini göstermektedir.

INR: International Normalized Ratio

St.Sapma= Standart Sapma

Tablo 4. Varfarin kullanan hastalarda genotip ve allel farklılıklarının haftalık Varfarin kullanım dozu ile ilişkisi

Haftalık Varfarin Dozu							
Genotip	Ort.±St. Sapma	Ortanca (25-75. Çeyrek)	p değeri	Allel	Ort.±St. Sapma	Ortanca (25-75. Çeyrek)	p değeri
*1/*1	28,72±11,19	28,75(19,37-28,75)		*1	29,19±11,51	30 (18,12-35)	p ³ =0,88 p ⁴ =0,982
*1/*2	29,77±13,2	35 (17,5-42,5)	p ¹ =0,792 p ² =0,700	*2	28,38±12,3	25(17,5-38,75)	
*1/*3	30,73±12,5	35 (21,25-35)		*3	29,89±12,27	27,5 (20-35)	
*2/*3	25,83±11,14	23,75 (17,5-30,625)					

p¹ değeri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir ve tüm genotiplerdeki hastaların haftalık Varfarin dozu analizini göstermektedir.
p² değeri Mann-Whitney U testinden elde edilmiştir ve CYP2C9 *1/1 genotipi ve diğer tüm genotiplerdeki hastaların haftalık Varfarin dozu analizini göstermektedir.

p³ değeri Kruskal Wallis testinden elde edilmiştir ve tüm allellere sahip hastaların haftalık Varfarin dozu analizini göstermektedir.
p⁴ değeri Mann-Whitney U testinden elde edilmiştir ve CYP2C9 *1 alleli ve diğer tüm allellere sahip hastaların arasındaki haftalık Varfarin analizini göstermektedir.

Ort.±St.Sapma= Ortalama ±Standart Sapma

Tablo 5. Varfarin kullanan hastalarda genotip ve allel farklılıklarının ilk ölçülen INR değeri ve en yüksek ölçülen INR değeri ile ilişkisi

	Ort.±St. Sapma	İlk Ölçülen INR Değeri		Ort.±St. Sapma	EnYüksek INR Değeri		
		Ortanca (25-75. Çeyrek)	p Değeri		Ortanca (25-75. Çeyrek)	p Değeri	
Genotip	*1/*1	1,46±0,226	1,51 (1,1-1,71)	0,038	5,29±1,88	5,35 (3,95-7,34)	0,0001
	Diğer	2,01±1,42	1,68 (1,49-1,94)		7,40±2,55	7,63 (5,85-8,66)	
Allel	*1	1,44±0,74	1,49 (1,1-1,55)	0,032	6,09±2,47	5,92 (4,41-8,03)	0,008
	Diğer	2,11±1,66	1,475(1,3-1,947)		7,31±2,49	6,98 (5,9-8,61)	

p değeri Mann-Whitney U testinden elde edilmiştir. Wild tip allel ve genotip frekansı ile diğer allel ve genotip frekansının istatistiksel analizini ifade etmektedir.

Ort.±St.Sapma= Ortalama ±Standart Sapma

Tartışma

CYP2C9 genotipi ve kanama arasındaki ilişkinin klinik önemi bilinmektedir. *CYP2C9* genotipinin, Varfarin tedavisinin özellikle başlangıç evrelerinde olan kanamalarında, bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir [22].

Farklı ırklarda ve toplumlarda *CYP2C9* genotip farklılıkları mevcuttur. Beyaz ırktan toplam 453 hastanın *CYP2C9* genotip sıklığının incelendiği çalışmada *1/*1, *1/*2, *1/*3, genotiplerinin toplumda görülme sıklığı sırasıyla %65, %19, %12, bulunmuştur [24]. Scordo ve ark.'nın [25] çalışmasında ise 157 italyan, 150 etiopyalı gönüllülerde *CYP2C9* genotip analizi yapılmış, italyan popülasyonda *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %65; *1/*2 genotip frekansı %15,3; *1/*3 genotip frekansı ise %14,5 olarak saptanmıştır. Etiopyalı popülasyonda ise *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %86,7; *1/*2 genotip frekansı %8,7; *1/*3 genotip frekansı %4,6 olarak saptanmıştır.

Çin popülasyonunda yapılan çalışmalarda ise beyaz ırktaki verilere göre *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı daha yüksektir. Bir çalışmada Çin'in 4 farklı bölgesindeki popülasyon genetik analizinde *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %86,2-95; *1/*2 genotip frekansı %0 ve *1/*3 genotip frekansı %3,3-9,8 aralığında saptanmıştır [26]. Han Çinlilerinde 2127 kişinin yer aldığı bir çalışmada *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %89,23; *1/*3 genotip frekansı %5,36; *1/*2 genotip frekansı ise %0,28 olarak saptanmıştır [27].

Aynacıoğlu ve ark. [28] tarafından 499 hastalık bir Türk popülasyonu çalışmasında

ise *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %61,72; *1/*2 genotip frekansı %18,04; *1/*3 genotip frekansı ise %17,23 olarak saptanmıştır. Barlas ve ark. [29] tarafından yapılan Türk popülasyonu çalışmasında *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %63,9; *1/*2 genotip frekansı %18,8; *1/*3 genotip frekansı ise %10,7 olarak saptanmıştır. Babaoğlu ve ark. [30] çalışmasında da *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %68,2; *1/*2 genotip frekansı %11,8; *1/*3 genotip frekansı ise %14,1 olarak saptanmıştır. Özer ve ark.'nın [31] çalışmasında ise *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı %70 olarak bildirilmiştir. Çalışmada *CYP2C9**1/*1 genotip frekansı diğer Türk popülasyonu ve beyaz ırk popülasyonu çalışmalarındaki düzeyden daha düşüktür. Çalışmadaki *CYP2C9**1/*3 genotipi frekansının beyaz ırkta yapılan çalışmaları diğer Türk popülasyonu çalışmalarında saptanan frekanstan daha yüksek olması dikkat çekicidir [24, 25].

CYP2C9 allel frekanslarına bakıldığında bir Çin popülasyonu çalışmasında *CYP2C9**1 allel (wild tip) frekansı %92-94,48; *CYP2C9**2 allel frekansı %0,6-0,14; *CYP2C9**3 allel frekansı ise %2,94-4,6 aralığında bildirilmiştir [32, 33]. İtalyan popülasyonu çalışmasında ise *CYP2C9**1 allel (wild tip) frekansı %79,6; *CYP2C9**2 allel frekansı %11,2; *CYP2C9**3 allel frekansı ise %9,2 olarak bildirilmiştir [25]. Dagenais ve ark. [34] tarafından yapılan bir derlemede Türk popülasyonu çalışmalarında *CYP2C9**1 allel (wild tip) frekansı %65,6-88,3; *CYP2C9**2 allel frekansı %10-19,6; *CYP2C9**3 allel frekansı ise %0-10,3 aralığında bildirilmiştir. Çalışmada saptadığımız *CYP2C9**1 ve *CYP2C9**2 allel frekansları diğer Türk ve beyaz ırk popülasyon

çalışmalarına paralel saptanırken, CYP2C9*3 allel frekansı diğer çalışmalara göre daha yüksektir [28-31, 34].

Birçok çalışmada CYP2C9 *1/*2 ve *1/*3 genotipleri olan kişilerin, CYP2C9*1/*1 genotipli bireylerle karşılaştırıldığında daha düşük Varfarin dozlarına ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir [34-36]. Türk toplumunda CYP2C9 allel sıklığı ve gen polimorfizmlerinin Varfarin doz gereksinimleri üzerine etkileri hakkında yayınlanan birkaç çalışma da bu görüşü desteklemektedir [35, 37, 38].

Bizim çalışmamızda ise wild tip allel (CYP2C9*1) veya genotipe (CYP2C9*1/*1) sahip bireyler ve diğer allel veya genotiplere sahip bireylerin haftalık varfarin kullanım dozlarını benzer düzeylerde saptadık.

Acil servise başvuru yapıldığı dönemde Varfarin dozu stabilize olmuş hastalar bizim çalışma popülasyonumuzu oluşturduğu için sonucun bu şekilde bulunduğunu düşünmekteyiz. Her ne kadar acil servise başvurularındaki Varfarin kullanım dozları ve INR düzeyleri açısından wild tip bireylerle diğer bireyler arasında farklılık gözlenirse de stabilizasyon sürecinde ilk ölçülen INR ve takipteki pik INR düzeylerinin wild tip bireylerde düşük saptanması wild tip dışı allelere veya genotipe sahip bireylerde Varfarin metabolizmasının yavaşlamış olduğuna işaret etmektedir.

Çalışmada wild tip allel frekansı Varfarin grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş olsa da özellikle Varfarin grubunda enzim aktivitesinin düşük olmasına yol açan CYP2C9*3 alleli ve *1/*3 genotip frekanslarının kontrol grubuna göre yüksek oluşu Varfarin başlanan hastalarda genetik zeminin bilinmesinin önemine işaret etmektedir [13, 15, 16].

Sonuç olarak, çalışma verilerinden hareketle CYP2C9 geninin mutant allel veya genotiplerini taşıyan hastaların ilk ve pik INR değerlerinin mutasyonsuz olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmış olması ve aynı hastaların Varfarin kullanım dozu stabilize olduktan sonrasında INR düzeylerinin hedef aralıkta tutulmasının zorluğu aşıkardır. Haftalık Varfarin kullanım dozu stabil olan hastalarda INR düzeyi ortalamaları arasında istatistiksel anlamlı farkın bulunmamış olması da gen mutasyonu

varlığına Varfarin başlandığı dönemde bakılması gerekliliğini ortaya koymakta ve Varfarin kullanım dozunun stabilize olduğu hastalarda ise bakılmasının anlam taşımadığını düşündürmektedir.

Çıkar ilişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

1. Fihn SD, McDonell M, Martin D, et al. Risk factors for complications of chronic anticoagulation. A multicenter study. Varfarin Optimized Outpatient Follow-up Study Group. Ann Intern Med 1993;118:511-520. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-118-7-199304010-00005>
2. Landefeld CS, Beyth RJ. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. Am J Med 1993;95:315-328. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(93\)90285-w](https://doi.org/10.1016/0002-9343(93)90285-w)
3. Levine MN, Hirsh J, Landefeld S, Raskob G. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. Chest 1992;102:352-363. https://doi.org/10.1378/chest.102.4_supplement.352s
4. Van der Meer FJ, Rosendaal FR, Vanderbroucke JP, Briet E. Bleeding complications in oral anticoagulant therapy: an analysis of risk factors. Arch Intern Med 1993;153:1557-1562. <https://doi.org/10.1001/archinte.153.13.1557>
5. Palareti G, Leali N, Coccheri S, et al. Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study. Lancet 1996;348:423-428. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)01109-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)01109-9)
6. Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL. American heart Association/American college of cardiology foundation. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to Varfarin therapy. J Am Coll Cardiol 2003;41:1633-1652. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(03\)00416-9](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(03)00416-9)
7. Koagülasyon testlerinin klinikte kullanımı. Erişim adresi: <http://www.thd.org.tr/thdData/Books/520/koagulasyon-testlerinin-klinikte-kullanimi.pdf>. Erişim tarihi 14 Kasım 2019
8. Douketis JD, Foster GA, Crowther MA, Prins MH, Ginsberg JS. Clinical risk factors and timing of recurrent venous thromboembolism during the initial 3 months of anticoagulant therapy. Arch Intern Med 2000;160:3431-3436. <https://doi.org/10.1001/archinte.160.22.3431>
9. Choonara IA, Malia RG, Haynes BP, et al. The relationship between inhibition of vitamin K1 2,3-epoxide reductase and reduction of clotting factor activity with Varfarin. Br J Clin Pharmacol 1988;25:1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1988.tb03274.x>

10. Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL, et al. Hydroxylation of Varfarin by human cDNA-expressed cytochrome P-450: a role for P-4502C9 in the etiology of (S)-Varfarin-drug interactions. *Chem Res Toxicol* 1992;5:54-59. <https://doi.org/10.1021/tx00025a009>
11. Laura Dean. Varfarin therapy and the Genotypes *CYP2C9* and *VKORC1*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/gtrbook/Varfarin/bin/20160608Varfarin.pdf>. Access May 15, 2020
12. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired S Varfarin metabolism catalyzed by R144C allelic variant of *CYP2C9*. *Pharmacogenetics* 1994;4:39-42. <https://doi.org/10.1097/00008571-199402000-00005>
13. Steward DJ, Haining RL, Henne KR, et al. Genetic association between sensitivity to Varfarin and expression of *CYP2C9**3. *Pharmacogenetics* 1997;7:361-367. <https://doi.org/10.1097/00008571-199710000-00004>
14. Haining RL, Hunter AP, Veronese ME, Trager WF, Rettie AE. Allelic variants of human cytochrome P4502C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization, substrate stereoselectivity, and prochiral selectivity of the wild-type and I359L mutant forms. *Arch Biochem Biophys* 1996;333:447-458. <https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0414>
15. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the *CYP2C9**2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH: cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics* 1997;7:203-210. <https://doi.org/10.1097/00008571-199706000-00005>
16. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 *CYP2C9* with Varfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999;353:717-719. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)04474-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)04474-2)
17. Ogg MS, Brennan P, Meade T, Humphries SE. *CYP2C9**3 allelic variant and bleeding complications. *Lancet* 1999;354:1124. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)76918-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)76918-X)
18. Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, et al. Genetic modulation of oral anticoagulation with Varfarin. *Thromb Haemost* 2000;84:775-778.
19. Freeman BD, Zehnbauer BA, McGrath S, Borecki I, Buchman TG. Cytochrome P450 polymorphisms are associated with reduced Varfarin dose. *Surgery* 2000;128:281-285. <https://doi.org/10.1067/msy.2000.107283>
20. Furuya H, Fernandez Salguero P, Gregory W, et al. Genetic polymorphism of *CYP2C9* and its effect on Varfarin maintenance dose requirement in patients undergoing anticoagulation therapy. *Pharmacogenetics* 1995;5:389-392. <https://doi.org/10.1097/00008571-199512000-00008>
21. Takahashi H, Kashima T, Nomizo Y, et al. Metabolism of Varfarin enantiomers in Japanese patients with heart disease having different *CYP2C9* and *CYP2C19* genotypes. *Clin Pharmacol Ther* 1998;63:519-528. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(98\)90103-5](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(98)90103-5)
22. COUMADIN (Varfarinsodium tablet) Princeton NJ. Bristol-Myers Squibb Pharma Company; 2015. Available at: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=d91934a0-902e-c26c-23ca-d5acc4151b6>. Access November 14, 2019
23. Scordo MG, Pengo V, Spina E, Dahl ML, Gusella M, Padrini R. Influence of *CYP2C9* and *CYP2C19* genetic polymorphisms on Varfarin maintenance dose and metabolic clearance. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:702-710. <https://doi.org/10.1067/mcp.2002.129321>
24. Hillman MA, Wilke RA, Caldwell MD, Berg RL, Glurich I, Burmester JK. Relative impact of covariates in prescribing Varfarin according to *CYP2C9* genotype. *Pharmacogenetics* 2004;14:539-547. <https://doi.org/10.1097/01.fpc.0000114760.08559.dc>
25. Scordo MG, Aklillu E, Yasar U, Dahl ML, Spina E, Ingelman Sundberg M. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a Caucasian and a black African population. *Br J Clin Pharmacol* 2001;52:447-450. <https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01460.x>
26. Xiong Y, Wang M, Fang K, et al. A systematic genetic polymorphisms analysis of the *CYP2C9* gene in four different geographical Han populations in mainland China. *Genomics* 2011;97:277-281. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2010.11.004>
27. Dai DP, Xu RA, Hu LM, et al. *CYP2C9* polymorphism analysis in Han Chinese populations: building the largest allele frequency database. *Pharmacogenomics J* 2014;14:85-92. <https://doi.org/10.1038/tpj.2013.2>
28. Aynacioglu AS, Brockmüller J, Bauer S, et al. Frequency of cytochrome P450 *CYP2C9* variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999;48:409-415. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1999.00012.x>
29. Barlas İÖ, Sezgin O, Dandara C, et al. Harnessing Knowledge on Very Important Pharmacogenes *CYP2C9* and *CYP2C19* Variation for Precision Medicine in Resource-Limited Global Conflict Zones. *OMICS* 2016;20:604-609. <https://doi.org/10.1089/omi.2016.0133>
30. Babaoglu MO, Yasar U, Sandberg M, et al. *CYP2C9* genetic variants and losartan oxidation in a Turkish population. *Eur J Clin Pharmacol* 2004;60:337-342. <https://doi.org/10.1007/s00228-004-0785-5>
31. Özer M, Demirci Y, Hizel C, et al. Impact of genetic factors (*CYP2C9*, *VKORC1* and *CYP4F2*) on Varfarin dose requirement in the Turkish population. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2013;112:209-214. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12024>

32. Dai DP, Xu RA, Hu LM, et al. *CYP2C9* polymorphism analysis in Han Chinese populations: building the largest allele frequency database. *Pharmacogenomics J* 2014;14:85-92. <https://doi.org/10.1038/tpj.2013.2>
33. Xiong Y, Wang M, Fang K, et al. A systematic genetic polymorphism analysis of the *CYP2C9* gene in four different geographical Han populations in mainland China. *Genomics* 2011;97:277-281. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2010.11.004>
34. Dagenais R, Wilby KJ, Elewa H, Ensom MHH. Impact of genetic polymorphisms on phenytoin pharmacokinetics and clinical outcomes in the middle east and north Africa region. *Drugs R&D* 2017;17:341-361. <https://doi.org/10.1007/s40268-017-0195-7>
35. Dericioglu N, Babaoglu MO, Saygi S, Bozkurt A, Yasar U. Varfarin resistance with poor *CYP2C9* activity and *CYP2C9* *1*2 genotype. *Ann Pharmacother* 2004;38:899. <https://doi.org/10.1345/aph.1D450>
36. Siddiqi A, Khan DA, Khan FA, Naveed AK. Impact of *CYP2C9* genetic polymorphism on Varfarin dose requirements in Pakistani population. *Pak J Pharm Sci* 2010;23:417-422.
37. Buzoianu Anca D, Trifa Adrian P, Mureşanu Dafin F, Sorin Crişan, Analysis of *CYP2C9**2, *CYP2C9**3 and *VKORC1* -1639 G>A polymorphisms in a population from South-Eastern Europe. *J Cell Mol Med* 2012;16:2919-2924. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01606.x>
38. Oner Ozgon G, Langae TY, Feng H, et al. *VKORC1* and *CYP2C9* polymorphisms are associated with Varfarin dose requirements in Turkish patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2008;64:889-894. <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0507-5>

Finansman kaynağı: Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje numarası:2016TIPF005).

Etik kurul onayı: Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 15/12/2015-21 sayılı kararı ile etik kurul onayı alındı.

Yazarların makaleye olan katkıları

İ.T, A.K. ve T.E. çalışmanın ana fikrini ve hipotezini kurgulamışlardır. A.K., M.Ö. ve R.S. teoriyi geliştirmiş ve materyel metod bölümünü düzelemişlerdir. Sonuçlar kısmındaki verilerin değerlendirmesini T.E., R.S. ve A.Y. yapmışlardır. Makalenin tartışma bölümü T.E., A.K, F.Ç. tarafından yazılmış, İ.T. ve A.Y. gözden geçirip gerekli düzeltmeleri yapmış ve onaylamıştır. Ayrıca tüm yazarlar çalışmanın tamamını tartışmış ve son halini onaylamıştır.