

## Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2024;17(2):262-270

doi:10.26559/mersinsbd.1392360

### Perkütan koroner girişim sonrası klopidogrel direncinin CYP2C9 ve CYP2C19 genlerinin kopya sayısı varyasyonu ile ilişkisi

 Lokman Ayaz<sup>1</sup>,  Seyhan Şahin<sup>2</sup>,  Hilal Sancar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

#### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, CYP2C9 ve CYP2C19 genlerin kopya sayısı varyasyonu (CNV) ile klopidogrel direnç mekanizması arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** Çalışmaya, acil veya elektif stent implantasyonlu perkütan koroner girişim uygulanan 176 hasta dahil edildi. 600 mg klopidogrel yükleme dozu alan ve en az 5 gün süreyle standart doz (75 mg/gün) klopidogrel kullanan hastalardan alınan kan örneklerinde PFA-100 P2Y12 kiti ile kapanma zamanı ölçüldü. Hastalar kapanma zamanı değeri >106 saniye olanlar klopidogrel dirençli, ≤106 saniye olanlar klopidogrel dirençli olmayan olarak iki gruba ayrıldı. Hastalardan alınan tam kan örneklerinden Purelink Genomic DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA izole edildi. CYP2C9 ve CYP2C19 genlerin kopya sayısı varyasyonları TaqMan kopya sayısı analiz kiti kullanılarak RT-PCR ile tespit edildi. **Bulgular:** Çalışmamızda %55.11 bireyde klopidogrel direnci yok iken, %44.89 bireyde ise klopidogrel direncine sahip olduğu saptadık. CYP2C19 (Hs05107177-intron 8) iki kopyaya sahip bireylerin bir ve üç kopyaya sahip bireylere göre sırası ile 4.91 ve 3,57 kat daha fazla klopidogrel ilaç direnci geliştirme riskine sahip olduğu belirlendi. **Sonuç:** Elde ettiğimiz verilere göre, CYP2C19 (Hs05107177- intron 8) kopya sayısı varyasyonlarına sahip bireylerin klopidogrel direnci gelişme riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kopya sayısı varyasyonu, CYP, klopidogrel direnci, perkütan koroner girişim

**Yazının geliş tarihi:** 17.11.2023

**Yazının kabul tarihi:** 16.01.2024

**Sorumlu Yazar:** Lokman Ayaz, Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye Tel: 0505 8540509, E-posta: lokmanayaz@yahoo.com

## **The relationship of CYP2C9 and CYP2C19 gene copy number variations with clopidogrel resistance after percutaneous coronary intervention**

### **Abstract**

**Aim:** This study aimed to investigate the relationship between copy number variation (CNV) of CYP2C9 and CYP2C19 genes and the clopidogrel resistance mechanism. **Method** The study included 176 patients who underwent emergency or elective percutaneous coronary intervention with stent implantation. Closure time was measured with PFA-100 P2Y12 in blood samples taken from patients using clopidogrel with a standard dose (75 mg/day) for at least 5 days after 600 mg clopidogrel loading dose. The patients were divided into two groups closure time values  $>106$  s as resistant to clopidogrel,  $\leq 106$  s were nonresistant to clopidogrel. DNA was isolated from whole blood samples taken from patients using the Purelink Genomic DNA isolation kit. CNVs of CYP2C9 and CYP2C19 genes were detected by RT-PCR using the TaqMan copy number assay kit. **Results:** In our study, we found that 55.11% of individuals did not have clopidogrel resistance, while 44.89% of individuals had clopidogrel resistance. In this study, it was shown that there was no statistically significant difference between CYP2C9 (Hs0518754), CYP2C9 (Hs05165291), CYP2C9 (Hs05165291), CYP2C19 (Hs02932336) and CYP2C19 (Hs05148033) CNVs and clopidogrel resistance ( $p>0.05$ ). It was determined that individuals with the two copies of CYP2C19 (Hs05107177-8 intron) have a 4.91- and 3.57-fold increased risk of developing clopidogrel drug resistance compared to the one and three copy, respectively. **Conclusion:** Our data show that individuals with CYP2C19 (Hs05107177- intron 8) copy number variations have a higher risk of developing clopidogrel resistance.

**Keywords:** Copy number variation, CYP, clopidogrel resistance, cutaneous coronary intervention

### **Giriş**

Koroner kalp hastalığı (KKH), koroner arterlerde aterosklerotik plak birikimi ile karakterize bir tür iskemik kalp hastalığıdır. Hastaneye yatış ve hasta ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biri olan KKH, dünya çapında 110 milyondan fazla bireyi etkilemiştir.<sup>1</sup> Perkütan koroner girişim (PKG), KKH tedavisindeki en önemli gelişmelerden biridir.<sup>2</sup> PKG uygulaması endotel altı ekstraselüler matriks bileşenlerini ortaya çıkararak, kollajen ve Von-Willebrand faktörü gibi bileşenler sayesinde trombositlerin arter duvarına yapışmasını sağlamaktadır. Glikoprotein reseptörleri olan GPIIb/IIIa ve GPIIb/IIIa ile endotel altı bileşenlere bağlanan trombositlerin agregasyonunun başlatma sinyali verilir. Agregasyonun yol açacağı stent trombozu (ST), yeni iskemik olaylara ve ani ölümlere neden olabilir. Bundan dolayı, PKG ile arteri açmanın yanında antiagregan ya da antitrombosit tedavisi uygulanması yaşamsal önem taşımaktadır.<sup>3</sup> Mevcut

kılavuzlar, PKG'yi takiben en az 12 ay aspirin ve klopidogrel kombinasyonu ile ikili antitrombosit tedavi önermektedir.<sup>4</sup>

Klopidogrel, trombosit P2Y12 ADP reseptörüne seçici ve geri dönüşümsüz olarak bağlanarak işlev gören bir ön ilaçtır. Karaciğerde, bir dizi CYP450 enzimi, klopidogrelin aktif olmayan ara bileşik olan 2-okso-klopidogrel ve daha sonra klopidogrelin aktif metaboliti olan R-130964'e metabolizmasına ve biyoaktivasyonuna aracılık etmektedir.<sup>5</sup> Bu transformasyon iki basamakta gerçekleşir. İlk basamakta CYP1A2, CYP2C9 ve CYP2B6 enzimleri yer alırken, ikinci basamakta ise CYP3A4/5, CYP2B6, CYP2C19 ve CYP2C9 enzimleri rol oynamaktadır.<sup>6</sup> Bu enzimleri kodlayan genlerde olası varyasyonların klopidogrelin metabolizmasını etkileyebileceği düşünülerek, direnç gelişiminde genetik araştırmalar ön plana çıkmıştır.<sup>7</sup>

Yapılan bir araştırmada CYP2C19\*17 (rs12248560) polimorfizminin, genin transkripsiyonel aktivitesini arttırdığı ve bu mutasyona sahip kişilerde yabancı tip alele sahip kişilere göre ilaçların daha hızlı metabolize olduğu gözlenmiştir.<sup>8</sup> Frere ve ark<sup>9</sup> 600'den fazla ST elevasyonsuz miyokard infarktüsü (MI) bulunan olgularda CYP2C19, CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizminin klopidogrel yanıtına etkisini incelemişlerdir. CYP2C19\*2 alelin CYP3A5\*3 ve CYP3A4\*1B alellerine göre ADP'ye daha fazla trombosit yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir.

Kopya sayısı varyasyonları (CNV), iki veya daha çok genom ile karşılaştırıldığında kopya sayısı değişikliği gözlenen DNA bölgeleri olarak adlandırılmaktadır. İnsan genomunun yaklaşık %12'sinde CNV'ler tanımlanmıştır.<sup>10</sup> CNV'ler bağışıklık, enfeksiyon, nöropsikiyatrik ve kardiyovasküler gibi yaygın hastalıklarla ilişkilendirilmiştir ve bazı hastalıklar için de risk faktörü olduğu da bildirilmiştir.<sup>11</sup> Ayrıca CNV'ler, ilaç etkinliği ve toksisite üzerinde önemli rol oynamaktadır.<sup>12</sup>

Yapılan literatür taramasında şimdiye kadar CYP450 CNV'leri ile klopidogrel ilaç metabolizması üzerinde ilişkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmada, PKG ile başvuran hastalarda platelet fonksiyon analizler (PFA)-100 innovance P2Y kiti kullanılarak klopidogrel ilaç direnci oluşan ve oluşmayan bireylerdeki CYP2C9 ve CYP2C19 genlerin CNV arasındaki ilişki ilk kez ortaya konulmuştur.

## **Gereç ve Yöntem**

### *Hasta Grubu*

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD'na başvuran, elektif veya acil stent implantasyonlu PKG amacıyla hastaneye yatırılan hastalara ve 600 mg klopidogrel yüklemesi yapıldıktan sonra 75 mg/gün idame tedaviye geçilen ve en az 5 gün boyunca bu tedaviyi almış, 18-80 yaş erkek veya kadın hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Özgeçmişinde herhangi bir kanamalı hastalığı bulunanlar, aspirin dışında son 10 gün içinde trombositleri etkilediği bilinen herhangi bir ilaç kullananlar, malignite öyküsü olan, aktif

enfeksiyon hastalığı olanlar, ilerlemiş karaciğer hastalığı olanlar, kortikosteroid tedavisi alanlar, aşikâr hipertiroidisi/hipotiroidi olan hastalar, ileri kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan bireyler çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmamız için Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak Edirne Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (05.10.2016/13). Çalışmanın detayları ile ilgili olarak tüm hastalar bilgilendirilerek, imzalı onay formu alınmıştır.

### *Hematolojik ölçümler*

Çalışmamıza katılan hastaların trombosit düzeyini belirlemek için EDTA'lı tüplerdeki kan numuneleri kullanılmıştır ve tam kan sayımı, ölçüm kalibrasyonu günlük yapılan otomatik hemositometreyle (Sysmex XE-2100TM Automated) yapılmıştır.

### *Antitrombosit Aktive Ölçümü ve PFA-100 Cihazı ile Klopidogrel İlaç Direncini Belirleme*

PFA sistemleri vasküler bir hasar sonrasında trombositlerdeki adezyon ve agregasyon sürecinin *in vitro* koşullarda stimüle edildiği bir cihaz ve test kartuşlarından oluşmaktadır. INNOVANCE® PFA P2Y, trombosit P2Y12 reseptörü blokajı ile tetiklenen trombosit fonksiyonu bozukluğunu tespit etmek için kullanılır.<sup>13</sup>

### *INNOVANCE® PFA P2Y Test Kartuşunun Hazırlanması*

INNOVANCE® PFA P2Y test kartuşlarını içeren poşeti açmadan önce 15 ile 25°C sıcaklığa kadar ısınması için yaklaşık 15 dakika beklendi. Test kartuşu PFA-100 sisteminin kasetine A kısmına yerleştirildi ve kartuş yerine emniyetli bir şekilde oturana kadar itildi. %3.2 tamponlu sodyum sitratlı tüpe alınan kan örnekleri karıştırıldı. 800 µL kan test kartuşunun örnek haznesi açıklığına pipetlendi. Daha sonra test kartuşu PFA-100 sisteminin kasetine yerleştirildi ve test başlatıldı. INNOVANCE® PFA P2Y'nin sonuçları, PFA sistemleri tarafından sn biriminden kapanma zamanı (KZ) olarak rapor edilir. Elde edilen KZ, ölçülen örnekte P2Y12 reseptör blokajı olup olmadığını gösterir. KZ 106 sn ve daha az ise normal, 106 sn değerini aşanlar ise anormal (direnc) olarak kabul edildi.

### DNA İzolasyonu ve Miktarının Belirlenmesi

Çalışmaya alınan hastaların DNA izolasyonları Invitrogen Purelink Genomik DNA kiti kullanılarak üretici firmanın yönergelerine uygun olarak dondurulmuş tam kandan yapılmıştır. Ayrıca DNA saflığı ve miktarı spektrofotometrik olarak Nanodrop (NanoDrop™ 1000, Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak saptanmıştır.

### RT-PCR ile CNV belirleme

CYP2C9 ve CYP2C19 kopya sayıları spesifik Taqman primer-prop yöntemi (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak, RT-PCR ile tespit edildi. 1X TaqMan universal miks, referans gen olan RNaseP için her biri 900 nM forward ve reverse primerler ve hedef gen için her biri 250'şer nm olan VIC (referans) boyası ve FAM (hedef) işaret-boyası içerecek şekilde hazırlandı. Örnek olarak 10 ng DNA kullanıldı. DNA örnekleri ve 1X TaqMan universal miks toplam reaksiyon hacmi 10 µL olacak şekilde 384 kuyucuklu plakalara pipetlendi

Termal cyclus koşulları: 50°C 2 dakika, 95°C 10 dakika, daha sonra 40 döngü olarak 95°C 15 sn ve 60°C 60 sn şeklinde uygulandı. Her kopya, bir delta Ct ( $\Delta Ct$ ) elde etmek için RNase P'ye normalize edildi ve sonra her bir örnek için bir  $\Delta Ct$  değeri hesaplandı. Daha sonra  $\Delta\Delta Ct$  belirlemek için tüm örnekler bir kalibratör numune ile normalize edildi. Relative quantity  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , kopya sayısı da 2x Relative quantity olarak belirlendi. RT-PCR ile elde edilen Ct verileri daha sonra CopyCaller™ software (v2.1 Applied Biosystems) programı kullanılarak relative CNV hesaplandı. 1,6-2,1 arasındaki kopya numarası aralığı, CYP2C19 geni için normal diploid kopya numarası olarak kabul edildi. Çalışmamızda aşağıdaki ekzon ve intronlardaki CYP özel tasarlanmış primer ve proplar ile RT-PCR yöntemi ile aşağıdaki genlerin CNV değerlendirildi.

CYP2C19 (Hs05148033\_cn): Intron 1-Ekzon 2

CYP2C19 (Hs02932336\_cn): Intron 6

CYP2C19 (Hs05107177\_cn): Intron 8

CYP2C9 (Hs05167737\_cn): Intron 7

CYP2C9 (Hs05165291\_cn): Intron 5

CYP2C9 (Hs05187541\_cn): Intron 3

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS 17 (Statistical Package for Social Sciences version) paket programı kullanılmıştır. Açlık kan şekeri (AKŞ), KZ, trombosit sayısı, protrombin zamanı, total kolesterol, HDL, LDL ve yaş değerlerinin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile incelenmiş, test sonucuna göre tüm değerlerin normal dağılım göstermedikleri bulunmuştur. AKŞ, KZ, trombosit sayısı, protrombin zamanı, total kolesterol, HDL-K, LDL-K, yaş ve klopidogrel direnci bakımından grupların karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. CYP2C9 ve CYP2C19, CNV olası riskleri binary lojistik regresyon analiz modeli kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar için  $p < 0.05$  anlamlılık değeri olarak kabul edilmiştir.

### Bulgular

#### Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Tanımlayıcı Bilgileri

Çalışma grubumuz, 123'ü erkek ve 53'ü kadın olmak üzere toplam 176 hastadan oluşmuştur. Çalışma grubumuzun yaş ortalaması  $66.79 \pm 12.01$  iken, hastaların tümü koroner arter hastası olup, %26'sında diyabet, %93.2'sinde hipertansiyon, %57.8'sinde sigara kullanımı ve %45'inde ise alkol kullanımı mevcuttur.

#### Çalışma Grubuna Ait Biyokimyasal Parametreler

Çalışma grupları klopidogrel ilacına direnç durumuna göre iki alt gruba ayrıldı. KZ 106 sn'den büyük olanlara klopidogrel direnci var, 106 sn'den küçük olanlar ise klopidogrel direnci yok olarak kabul edildi. Çalışmamızda 97 bireyde (%55.11) klopidogrel ilaç direnci yok iken, 79 bireyde (%44.89) ise klopidogrel direnci tespit edildi. Her iki grupta da erkek hasta sayısı benzerlik göstermektedir. Ancak klopidogrel ilaç direnci olmayan grupta kadın hasta sayısı dirençli gruba göre yaklaşık 2 kat daha fazla bulunmuştur ( $p = 0.032$ ).

Diyabet, hipertansiyon, alkol ve sigara gibi demografik veriler arasında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). KZ düzeylerinin klopidogrel dirençli grupta dirençli olmayan gruba oranla yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). AKŞ, total kolesterol, HDL-K, LDL-K, protrombin zamanı ve

trombosit düzeyleri yönünden her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Klopidogrel direnci olan ve olmayan tüm bireylerin KZ, AKŞ, total kolesterol, HDL-K, LDL-K, protrombin zamanı ve trombosit düzeylerine ait değerler Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo1.** Klopidogrel direnci olan ve olmayan bireylerin biyokimyasal değerleri

	Klopidogrel Direnci			p değeri
	Tüm hastalar (176)	Yok (ortalama±ss)	Var (ortalama± ss)	
KZ (sn)	141.65±94.02	71±18.51	228.41±75.22	0.001
Total Kolesterol (mg/dL)	170.51±46.36	170.09± 48.63	171.01± 43.72	0.523
HDL-K (mg/dL)	39.15±8.98	40.29 ± 9.86	37.76± 7.61	0.063
LDL-K (mg/dL)	94.16±26.9	93.1± 24.17	95.47± 30.02	0.822
AKŞ (mg/dL)	136.24±55.61	134.81±61.14	100.6±48.31	0.256
Protrombin zamanı (sn)	13.98±1.46	14.07±1.67	13.87±1.16	0.471
Trombosit sayısı (IU/ml)	233.03±71.36	235.62±73.13	229.85±69.47	0.660

AKŞ: Açlık Kan Şekeri, KZ: Kapanma Zamanı

#### CNV'nin Klopidogrel Üzerine Etkisi

Çalışmamızda klopidogrel direnç grubunda CYP2C9 (Hs0518754), CYP2C9 (Hs05165291) CYP2C9 (Hs05165291), CYP2C19 (Hs02932336) ve CYP2C19 (Hs05148033) CNV açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

olmadığı saptandı ( $p > 0.05$ ). Fakat CYP2C19 (Hs05107177-intron 8) kopya sayısı azaldıkça klopidogrel direnç için 4.91 kat rölatif riske sahip olduğu, kopya sayısı 3 olanların ise ilaç direnç için 3.57 kat riske sahip olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p = 0.011$ , Tablo 2).

**Tablo 2.** Klopidogrel direnci olan ve olmayan grupların CYP450 genlerinin CNV dağılımı ve oluşturduğu riskler

	CNV	Klopidogrel İlaç Direnci			Relatif Risk (Odd's oranı)	Güven Aralığı (95%)	p değeri
		Tüm Hastalar (176)	Yok N (%)	Var N (%)			
CYP2C9 (Hs0518754)	1	6	4 (4.3)	2 (2.6)	1.188	0.11-3.40	0.863
	2	15	86 (91.5)	71 (92.2)	Referans		
	3	8	4 (4.3)	4 (5.2)	1.33	0.29-5.01	0.699
CYP2C9 (Hs05165291)	1	3	2 (2.2)	1 (1.3)	1.11	0.05-6.82	0.944
	2	157	86 (92.5)	71 (92.2)	Referans		
	3	10	5 (5.4)	5 (6.5)	1.146	0.34-4.35	0.836
CYP2C9 (Hs05167737)	1	9	6 (6.4)	3 (3.9)	0.377	0.15-2.57	0.39
	2	148	82 (87.2)	66 (85.7)	Referans		
	3	14	6 (6.4)	8 (10.4)	1.146	0.55-5.01	0.399

**Tablo 2' nin devamı.** Klopidogrel direnci olan ve olmayan grupların CYP450 genlerinin CNV dağılımı ve oluşturduğu riskler

CYP2C19 (Hs05107177)	1	4	1 (1.1)	3 (3.9)	4.91	0.47-46.2	0.186
	2	141	86 (90.5)	55 (72.4)	Referans		
	3	26	8 (8.4)	18 (23.7)	3.57	1.43-8.64	0.011
CYP2C19 (Hs02932336)	1	10	4 (4.3)	6 (7.8)	1.88	0.51-6.91	0.345
	2	150	85 (92.4)	68 (88.3)	Referans		
	3	6	3 (3.3)	3 (3.9)	0.729	0.24-6.39	0.789
CYP2C19 (Hs05148033)	1	9	7 (7.4)	2 (2.5)	0.203	0.07-1.71	0.16
	2	150	82 (86.3)	68 (87.2)	Referans		
	3	14	6 (6.3)	8 (10.3)	1.3	0.53-4.86	0.684

CNV: Kopya sayısı varyasyonu

## Tartışma

Çalışmamızda 97 (%55.11) bireyde klopidogrel ilaç direnci yok iken (normal grup), 79 (%44.89) bireyde ise klopidogrel ilaç direnci (klopidogrel direnç grubu) olduğu saptandı. Yapılan önceki çalışmalar, ilaç direncine genetik varyasyonlar dışında başka etkenlerin de sebep olabileceğini göstermektedir.<sup>14</sup> Mevcut çalışmada dahil edilen hastaların demografik özellikleri klopidogrel ilaç direnci olup olmamasına göre karşılaştırıldı. Bu sayede klopidogrel ilaç direnci oluşmasına genetik olmayan diğer faktörlerin etkisi ortaya konuldu. Çalışmaya dâhil edilen hastalarda, sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, MI öyküsü açısından gruplar arasında hiçbirinde istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Elde ettiğimiz bu verilerle uyumlu olarak Angiolillo ve ark<sup>15</sup> yaptığı çalışmada da hastaların sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi gibi demografik verilerinin klopidogrel direnci ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir.

Klopidogrel direnci olan kadın hastaların oranı %21.5 iken, klopidogrel direnci olmayan kadın hastaların oranı %37.1 olarak belirlendi ve gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı. Elde ettiğimiz bulgular, kadınların klopidogrel direnci oluşumundan daha az etkilendiğini gösterdiği için cinsiyetin koruyucu etkilere sahip olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak

literatürde farklı görüşler bulunmaktadır. Klopidogrel direncinin çevresel ve genetik faktörlerini araştıran bir çalışmada, cinsiyetin klopidogrel yanıtıyla ilişkili olduğunu gösterilmiştir ve kadınlarda trombosit agregasyonu artışıyla birlikte klopidogrel yanıtının azaldığı bulunmuştur. Bu sonuçlar kadınların klopidogrel ilaç direncin erkeklerden daha fazla olduğu göstermektedir ( $p < 0.01$ ).<sup>16</sup> Polimorfizm ve cinsiyetin araştırıldığı bir çalışmada, 163 hasta arasında trombosit agregasyonu değerleri kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olduğu ve ayrıca klopidogrel düşük yanıt verenler arasında kadınların fazla olduğu saptanmıştır.<sup>17</sup>

Mevcut çalışmada AKŞ, total kolesterol, HDL-K ve LDL-K düzeyleri için iki grup arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Kolesterol tipi parametrelerde anlamlı bir farkın olmaması Koroner arter hastalığı (KAH) patolojisine yol açan bu faktörlerin klopidogrel direncinde etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda çalışmaya dâhil tüm hastalar KAH olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmamasının normal olduğu düşünülmektedir.

Jang ve ark<sup>18</sup> PKG yapılan ve 600 mg klopidogrel yüklemesi yapılan ve 75 mg/gün idame doz alan 225 hastanın 48 saat sonraki INNOVANCE® PFA P2Y yöntemi ile

belirledikleri klopidogrel direnç prevalansını %14.5 olarak saptadılar.

Awaida ve ark<sup>19</sup> yaptığı benzer bir çalışmada, klopidogrel direnci olan hastaların klopidogrel direnci prevalansının %34.26 olduğunu göstermişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada ise klopidogrel direncini platelet agregasyon oranı kullanarak 219 hastanın 157'sinde (%71.69) klopidogrel direnci bulunduğu göstermişlerdir.<sup>20</sup> Türk toplumunda yapılan benzer bir çalışmada VerifyNow P2Y12 yöntemi ile klopidogrel direnci geliştiren hasta prevalansının %30 olduğunu belirlenmiştir.<sup>21</sup> Mevcut çalışmada ise klopidogrel direnci gelişen hastaların prevalansını %44.89 olarak saptandı. Literatür sonuçlarında görülen klopidogrel direncindeki bu geniş dağılımın temel dozlamadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Klopidogrel direncinin ana nedenlerinden biri, bazı hastaların klopidogrel biyoaktivasyonu için düşük kapasiteye sahip CYP2C19 fonksiyon kaybı (LOF) alellerini taşımasıdır. CYP2C19 genotipine göre CYP2C19\*1/\*17 ve CYP2C19\*17/\*17 ultra hızlı metabolizör, CYP2C19\*1/\*1 hızlı metabolizör, CYP2C19\*1/\*2 ve CYP2C19\*2/\*17 ara metabolizör iken, CYP2C19\*2/\*2, CYP2C19\*2/\*3 ve CYP2C19\*3/\*3 zayıf metabolizör olarak sınıflandırılmaktadır.<sup>22</sup> Klopidogrel yanıtındaki değişikliğin sonucu yüksek trombosit reaktivitesi gösterdiği için en çok endişe duyulana zayıf metabolizör olarak adlandırılan CYP2C19\*2 ve \*3'tür.<sup>23,24</sup>

Liu ve ark<sup>25</sup> yaptıkları bir çalışmada hastaların %53.82 ve %9.66'sı sırasıyla \*2 ve \*3 alellerinin taşıyıcısı olduğu gösterilmiştir. Bu alelleri taşıyan hastaların %36.84'ü klopidogrel ilaç direnci bulunmuştur. Kiraç ve ark<sup>26</sup> yaptıkları çalışmada ise CYP2C19\*2 polimorfizminin klopidogrel ve aspirin direnci ile doğrudan ilişkili olduğunu, en az bir CYP2C19\*2 aleli taşımanın ST riskini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir.

Mevcut çalışmada, CYP2C19 (Hs05107177-intron 8) kopya sayısı azaldıkça (delesyon) klopidogrel direnç için 4.91 kat relatif risk sahip olduğu, kopya sayısı 3 olanların (duplikasyon) ise ilaç direnç için 3.57 kat riske sahip olduğunu ve bunun

istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptandı (p=0.011). CYP2C19 (Hs05107177-intron 8) kopya sayısının azalması klopidogrel ilaç metabolizması etkili olan CYP2C19 enzim aktivitesini azalmasına dolayı, CYP2C19 (Hs05107177-intron 8) CNV klopidogrel direnci için genetik risk faktörü olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Hastaların değiştirilmiş klopidogrel metabolizmasını tanımlamak için farmakogenetik testler sonucunda yüksek bir klopidogrel dozu, ilaca verilen düşük yanıtın düzelmesini sağlayabilir. Çalışma kapsamında bu ilişkinin ortaya konması klopidogrel tedavisinde yeni yaklaşımlar oluşturulmasına katkıda bulunacaktır. Ayrıca, genetik yatkınlığı olan hastalarda önlemlerin erken alınması klopidogrel direncinin azaltılmasında kritik bir rol oynamaktadır.

**Yazar Katkısı:** LA: Proje geliştirme, analiz, çalışmanın yazımı, eleştirel inceleme ve onaylama süreçlerinde görev almıştır. SŞ: Proje geliştirme, veri toplama, analiz ve çalışmaya son halinin verilmesi süreçlerinde görev almıştır. HS: Çalışmanın yazımı, eleştirel inceleme ve onaylama süreçlerinde görev almıştır.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması mevcut değildir.

**Mali destek:** Bu çalışma Seyhan Şahin'in yüksek lisans tezindeki verileri içermektedir ve 2016/264 numaralı proje kapsamında Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri birimi (TÜBAP) tarafından desteklenmiştir.

**Teşekkür:** Çalışmanın örneklerinin toplanmasında ve cihaz kullanımındaki teknik desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Mustafa A. YILMAZTEPE ve Prof.Dr. Ahmet Muzaffer DEMİR'e teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

1. Tao S, Tang X, Yu L, et al. Prognosis of coronary heart disease after percutaneous coronary intervention: a bibliometric analysis over the period 2004-2022. *Eur J Med Res.*

- 2023;28(1):311. doi: 10.1186/s40001-023-01220-5.
2. Sun H, Qu Q, Chen ZF, et al. Impact of CYP2C19 variants on clinical efficacy of clopidogrel and 1-year clinical outcomes in coronary heart patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Front Pharmacol.* 2016;24(7):453. doi: 10.3389/fphar.2016.00453
  3. Boden WE, O'Rourke RA, et al. Optimal Medical Therapy with or without PCI for Stable Coronary Disease. *Engl J Med.* 2007;356(15):1503–1516. doi: 10.1056/NEJMoa070829.
  4. Levine GN, Bates ER, John A. Bittl JA, et al. 2016 ACC/AHA Guideline Focused Update on Duration of Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2016;134(10):123-55. doi: 10.1161/CIR.0000000000000404.
  5. Ali ZO, Bader L, Mohammed S, et al. Effect of CYP2C19 genetic variants on bleeding and major adverse cardiovascular events in a cohort of Arab patients undergoing percutaneous coronary intervention and stent implantation. *Pharmacogenet Genomics.* 2022;32(5):183–191. doi: 10.1097/FPC.0000000000000469
  6. Holmes DR, Dehmer GJ, Kaul S, Leifer D, O'Gara PT, Stein CM. ACCF/AHA clinical alert: ACCF/AHA clopidogrel clinical alert: Approaches to the FDA “boxed warning” a report of the American college of cardiology foundation task force on clinical expert consensus documents and the American heart association. *Circulation.* 2010;122:537–557.
  7. 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(1):92–99. doi: 10.1124/dmd.109.029132.
  8. Sibbing D, Koch W, Gebhard D, et al. Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* 2010;121(4):512-518. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.885194.
  9. Frere C, Cuisset T, Morange PE, et al. Effect of cytochrome P450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2008;101(8):1088-1093. doi: 10.1016/j.amjcard.2007.11.065.
  10. He Y, Hoskins JM, McLeod HL. Copy number variants in pharmacogenetic genes. *Trends Mol Med.* 2011;17(5):244-51. doi: 10.1016/j.molmed.2011.01.007.
  11. Craddock N, Hurles ME, Cardin N, et al. Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2010;464(7289):713–720. doi: 10.1038/nature08979.
  12. Johansson I, Ingelman-Sundberg M. CNVs of human genes and their implication in pharmacogenetics. *Cytogenet Genome Res.* 2008;123(1):195-204. doi: 10.1159/000184709.
  13. <https://usa.healthcare.siemens.com/hemostasis/systems/pfa-100>. Erişim tarihi 24.04.2018
  14. Karaźniewicz-Łada M, Danielak D, Główką F. Genetic and non-genetic factors affecting the response to clopidogrel therapy. *Expert Opin Pharmacother.* 2012;13(5):663-683. doi: 10.1517/14656566.2012.666524.
  15. Angiolillo DJ, Capranzano P, Desai B, et al. Impact of P2Y12 Inhibitory Effects Induced by Clopidogrel on Platelet Procoagulant Activity in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Thromb Res.* 2009;124(3):318–322. doi: 10.1016/j.thromres.2008.10.001.
  16. Jastrzebska M, Marcinowska Z, Oledzki S, et al. Variable gender-dependent platelet responses to combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary-artery disease. *J Physiol Pharmacol.* 2018;1;69(4):595–605. doi: 10.26402/jpp.2018.4.10.
  17. Gairolla J, Ahluwalia J, Khullar M, et al. Clopidogrel response in ischemic stroke patients: Is polymorphism or gender more important? Results of the CRISP



- study. *J Clin Neurosci*. 2020;76:81-86. doi: 10.1016/j.jocn.2020.04.038.
18. Jang J, Lim J, Chang K, et al. A Comparison of INNOVANCE® PFA P2Y and VerifyNow P2Y12 Assay for the Assessment of Clopidogrel Resistance in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *J Clin Lab Anal*. 2012;26(4):262-266. doi: 10.1002/jcla.21515.
  19. al Awaida W, Ahmed AA, Hamza AA, Amber KI, Al-Ameer HJ, Jarrar Y, et al. Association of KDR rs1870377 genotype with clopidogrel resistance in patients with post percutaneous coronary intervention. *Heliyon*. 2021;7(2):e06251. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06251.
  20. Zhang L, Lv Y, Dong J, Wang N, Zhan Z, Zhao Y, et al. Assessment of Risk Factors for Drug Resistance of Dual Anti Platelet Therapy After PCI. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2022;28:1-9. doi: 10.1177/10760296221083674
  21. Saydam F, Değirmenci İ, Birdane A, Özdemir M, Ulus T, Özbayer C, et al. The CYP2C19\*2 and CYP2C19\*17 Polymorphisms play a Vital Role in Clopidogrel Responsiveness after Percutaneous Coronary Intervention: A Pharmacogenomics Study. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;121(1):29-36. doi: 10.1111/bcpt.12763.
  22. Sheng X yan, An H jie, He Y yang, Ye Y feng, Zhao J lan, Li S. High-Dose Clopidogrel versus Ticagrelor in CYP2C19 intermediate or poor metabolizers after percutaneous coronary intervention: A Meta-Analysis of Randomized Trials. *Clin Pharm Ther*. 2022;47(8):1112-1121. doi: 10.1111/jcpt.13665.
  23. Sun Y, Lu Q, Tao X, Cheng B, Yang G. Cyp2C19\*2 Polymorphism Related to Clopidogrel Resistance in Patients With Coronary Heart Disease, Especially in the Asian Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Genet*. 2020;11:576046. doi: 10.3389/fgene.2020.576046.
  24. Morales-Rosado JA, Goel K, Zhang L, et al. Next-Generation Sequencing of CYP2C19 in Stent Thrombosis: Implications for Clopidogrel Pharmacogenomics. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2021;35(3):549-59. doi: 10.1007/s10557-020-06988-w.
  25. Liu T, Yin T, Li Y, Song LQ, Yu J, Si R, et al. CYP2C19 polymorphisms and coronary heart disease risk factors synergistically impact clopidogrel response variety after percutaneous coronary intervention. *Coron Artery Dis*. 2014;25(5):412-420. doi: 10.1097/MCA.0000000000000092.
  26. Kirac D, Erdem A, Avcilar T, Yesilcimen K, Guney AI, Emre A, et al. Effects of genetic factors to stent thrombosis due to clopidogrel resistance after coronary stent placement. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2016;62(1):51-55.