مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۴ شماره ۲ خرداد و تیر ۱۳۹۱ صفحات ۸۰- ۷۵

# تغییرات آللیک ژن CYP2C9 و دوز مورد نیاز وارفارین در بیماران با سابقهٔ حوادث ترومبوتیک در شمال غرب ایران

**سید محمود طباطبائی**: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:
**E-mail:** Smt1351@yahoo.com
**امیر منفردان**: گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
**نسرین بارگاهی**: گروه ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

**دریافت: ۹۰/۲/۳۰ پذیرش: ۹۰/۵/۲**

## چکیده

**زمینه و اهداف:** بیماری ترومبوز یکی از شایع‌ترین بیماریهای قلبی عروقی(CVD) است. این دسته از بیماریها می‌تواند ناشی از فاکتورهای ژنتیکی و تغییرات اکتسابی دخیل در سیستم انعقاد خون باشد. علاوه بر فاکتورهای اکتسابی و محیطی موثر شناخته شده، پلی‌مورفیسم دو ژن CYP2C9 و VKORC1، به عنوان اصلی‌ترین فاکتورهای ژنتیکی دخیل در تغییرات دوزاژ مورد نیاز وارفارین در این بیماران، شناسایی شده-است.

**مواد و روش‌ها:** از ۲۰۰ بیمار با اختلالات قلبی عروقی خونگیری وریدی به عمل آمد و با استفاده از تکنیک RFLP-PCR نسبت به تعیین پلی‌مورفیسم آللی ژن CYP2C9 اقدام گردید.

**یافته‌ها:** با استفاده از قانون هاردی وینبرگ میزان فراوانی ژنوتیپهای مورد انتظار*۱/*۱،*۱/*۲،*۱/ *۳،*۲/*۲، *۲/*۳و*۳/*۳ در ژن CYP2C9 در بیماران قلبی عروقی منطقه شمال غرب ایران (شامل استانهای آذربایجان شرقی و غربی و اردبیل) به ترتیب در جنس مونث ۷۲/۶، ۱۳/۲، ۱۱/۳، ۰/۹۴، ۱/۸۸ و ۰ درصد و در جنس مذکر ۶۴/۸، ۲۰/۲، ۱۲/۷، ۱/۰۶، ۰/۹۴ و ۰ درصد بود. میزان فراوانی تغییرات آللیک مورد بررسی در این مطالعه در دو گروه مونث و مذکر اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>0.05$) به جز فراوانی ژنوتیپ *۲/*۱ که در جنس مذکر میزان شیوع بیشتری نسبت به جنس مونث به خود اختصاص می‌داد ($p<0.05$).

**نتیجه‌گیری:** در این مطالعه، هدف کلی تعیین میزان دوزاژ عروقی است. تعیین ژنوتیپ CYP2C9 یکی از پارامترهای مهم تاثیرگذار است که به همراه سایر فاکتورهای مداخله‌گر، بحث آزمون و خطا را در این بیماران تا حد ممکن کاهش می‌دهد. اولین قدم جهت رسیدن به این هدف، تعیین میزان فراوانی پلی‌مورفیسم آللی ژن CYP2C9 در جامعه‌ای بود که سابقه حوادث ترومبوتیک را به عنوان گروه پرخطر تجربه کرده بودند.

**کلید واژه‌ها:** وارفارین، پلی مورفیسم، دوزاژ بهینه، ژن، سیستم آنزیمی سیتوکروم P450، ایزوپپتید C9

## مقدمه

ترومبوز به حالتی اطلاق می شود که در آن خون داخل رگ لخته می بندد و جلوی جریان خون را می گیرد. زمانیکه رگ آسیب ببیند پلاکتها و فیبرین مورد استفاده قرار می گیرند تا لخته خونی را شکل داده و جلوی خونریزی را بگیرند. زمانیکه لخته وسعت یابد و شروع به تخریب شدن کند، به این حالت آمبولوس گفته می‌شود. ترومبوآمبولیسم به ترکیب

همزمان ترومبوز و حضور آمبولوس اطلاق خواهد شد. زمانیکه ترومبوآمبولیسم ۷۵٪ سطح لومن عروق را به خود اختصاص دهد هیپوکسی بافتی القا گشته و متابولیتهای سمی نظیر اسید لاکتیک تجمع پیدا خواهند کرد. ادامهٔ این روند باعث اینفرکسیون و در نهایت مرگ سلولی خواهد شد. وارفارین وسیع الطیف‌ترین داروی ضد انعقاد خوراکی است که در جامعه مصرف می‌شود و میزان دوزاژ مورد نیاز در بین افراد مختلف، تحت تاثیر چندین فاکتور از قبیل نحوهٔ تغذیه، وزن، استعمال دخانیات، تغییرات فارماکوکنتیک، فارماکودینامیک و ... متغیر است. این امر حتی در یک فرد در شرایط فیزیولوژیکی مختلف نیز متفاوت می‌باشد (۱). تنظیم دوزاژ مورد نیاز برای درمان با وارفارین همواره با چالش همراه است، به این دلیل که تغییرات دوزاژ در بین افراد مختلف متفاوت بوده و بیماران را مستعد خونریزیهای خطرناک می‌کند (۴-۲). خونریزی به عنوان پیچیده‌ترین مشکل در مقابل درمان با ضد انعقادهای خوراکی مطرح است (۶-۵). علاوه بر فاکتورهای اکتسابی و محیطی موثر شناخته شده در تغییرات دوزاژ مورد نیاز وارفارین، پلی‌مورفیسم دو ژن VKORC1 (Vitamin K epoxide reductase complex1) و CYP2C9 (Cytochrome P450 2C9)، به عنوان اصلی‌ترین فاکتورهای ژنتیکی دخیل، شناسایی شده‌اند (۷). سیتوکروم CYP2C9 یکی از آنزیم‌های کبدی است که برای متابولیسم اکسیداتیو اغلب داروهای مهم فیزیولوژیک از جمله وارفارین مورد نیاز می‌باشد (۸). در اختلال فرآیند هیدروکسیله شدن وارفارین در محیط آزمایشگاهی، دو واریانت ژنتیکی، شامل جایگزینی اسید آمینه سیستئین به جای آرژنین در موقعیت ۱۴۴ اگزون ۳ (CYP2C9*2) و جایگزینی لوسین به جای ایزولوسین در موقعیت ۳۵۹ اگزون ۷ (CYP2C9*3)، به عنوان اصلی‌ترین عوامل شناسائی شده‌اند (۱۰-۹). واریانت‌های آللی CYP2C9، آنزیمهایی را کد می‌کنند که به ترتیب در واریانت آللی CYP2C9*2 حدوداً ۱۲٪ و در واریانت آللی CYP2C9*3 ۵٪ از فعالیت آنزیماتیک سوش طبیعی (CYP2C9*1) را دارا می‌باشند (۱۳-۱۱). هر دو این آللهای جهش یافته، سرعت متابولیسم دارویی را پایین آورده و میزان دوزاژ مورد نیاز وارفارین را به صورت چشمگیری کاهش می‌دهند (۱۵-۱۴). با توجه به مطالعات انجام گرفته چنانکه بیماری یکی از این دو آلل جهش یافته را داشته باشد و دوزاژی از وارفارین را دریافت کند که بطور متعارف توسط پزشک متخصص تجویز می‌شود، دچار خونریزیهای جبران ناپذیری خواهد شد (۱۶). وارفارین به دو فرم انانتیومریک S و R وجود دارد. وارفارینی که در بیماران مورد استفاده قرار می‌گیرد مخلوطی راسمیک از S و R وارفارین است که فرم S وارفارین حدوداً ۵ برابر بیشتر قدرت ضد انعقادی دارد (۱۷). بیشترین فرم متابولیت غیرفعال S وارفارین، حالت ۷-هیدروکسی وارفارین است و CYP2C9 اصلی‌ترین آنزیم سیتوکروم P450 است که مسئولیت این هیدروکسیلاسیون را برعهده دارد (۱۷).

با این حال مصرف داروهای ضد انعقاد بین بیماران، پاسخهای متفاوتی به دنبال داشته و به کارگرفتن درمانهایی از این قبیل به غربالگری دقیق INR ( international normalized ratio) نیاز مبرم دارد. علاوه بر تاثیرپذیری درمان از تنظیم دوزاژ، در ۵۰ درصد موارد، مبنای تنظیم دوزاژ بر اساس INR، خارج از مبنای محدوده واقعی قرار می‌گیرد و همین موضوع منجر به ناموفق ماندن درمان و یا بروز وقایع جبران ناپذیری می‌گردد (۱۸).

## مواد و روش‌ها

۲۰۰ بیمار با تشخیص بیماریهای قلبی عروقی توسط متخصصین قلب و عروق به مراکز تشخیص طبی تبریز ارجاع داده شدند. برای تعیین تعداد مناسب بیمار جهت این بررسی از نرم افزار محاسبه‌ی حجم نمونه Power and Sample size یا PS و با به کار بردن ضرایب α، R و M استفاده شد. فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد با ضریب آلفای ۰/۰۵ مبنای محاسبه حجم نمونه و آنالیز آماری قرار داشت. واحد R در تعیین حجم نمونه بر اساس میزان فراوانی‌های گزارش شده در کشور ترکیه محاسبه شد. از بیماران مراجعه کننده به مرکز آزمایشگاهی تبریز رضایت نامه کتبی مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز، اخذ شد و با توضیح مبسوط برای لزوم انجام کار، پرسشنامهٔ اختصاصی، طراحی و تکمیل گردید. INR این بیماران طوری انتخاب شد که از INR پایه که ۲ مدنظر بود، حداقل ۱/۵ واحد متفاوت باشد. فاصلهٔ INR مابین ۳/۵ الی ۷ در نظر گرفته شد. به دلیل هدف بررسی که محاسبه میزان فراوانی ژنوتیپهای مختلف ژن CYP2C9 بود و این متغیر مستقل به حساب می‌آید، لذا وزن، سابقه مصرف سیگار، چربی خون و سایر متغیرهای مداخله‌گر مورد ارزیابی قرار نگرفت. از این بیماران با سیستم وکیوم شرکت تریمو ژاپن خونگیری وریدی بعمل آمد. DNA ژنومیک از گلبولهای سفید به صورت مستقیم با استفاده از کیت QIAamp DNA Blood Mini Kit (کیاژن) و با استفاده از پروتکل پیشنهادی این کیت استخراج شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از ۱۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک در محیط حاوی ۱۰ میلی مول مخلوط dNTP شرکت تاکارای ژاپن، ۰/۷ میکرومول از پرایمرهای تکثیر دهنده قطعه DNA مد نظر شامل پرایمر F و R (جدول ۱)، یک واحد از آنزیم Taq Polymerase تاکارای ژاپن با شماره کاتالوگ A6101A، ۲/۵ میکرولیتر از بافر X۱۰ محتوی۲۵ Mm TAPS(pH 9.3),50] mM KCl, 2mM $MgCl_2$ ,1mM 2- mercaptoethanol, 200µM each dATP ,100µM dCTP ,dTTP ,dGTP, و ۰.۲۵ mg/ml activated

salmon sperm [DNA و ۱/۲۵ میکرولیتر از $MgCl_2$50mM در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. برنامه دمایی استفاده شده برای انجام این واکنش برای بررسی دو آلل CYP2C9*2 و CYP2C9*3 به صورت زیر بود:
CYP2C9*2: ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، ۳۲ سیکل به ترتیب ۹۵ درجه سانتیگراد در ۶۰ ثانیه، ۶۲ درجه در ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه و زمان Extension نهایی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه.
CYP2C9*3: ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل به ترتیب ۹۵ درجه سانتیگراد در ۱۵ ثانیه، ۶۵ درجه در ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه. زمان Extension نهایی در این PCR لحاظ نگردید.

**جدول۱:** توالی پرایمرهای به کار رفته در این مطالعه

| | |
|---|---|
| **CYP2C9*2.F** | 5`-GGAGGATGGAAAAGAGAGACTTA-3` |
| **CYP2C9*2.R** | 5`-TGAGCTAACAAGGAGGACTCAT-3` |
| **CYP2C9*3.F** | 5`-GCTGTGGTGCAGCTCGTCCAGAGATGC-3` |
| **CYP2C9*3.R** | 5`-ACACACACCGCCAGACACTAGG-3` |

پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، محصولات به دست آمده که به ترتیب برای CYP2C9*2 و CYP2C9*3 به اندازه ۳۹۷ جفت باز و ۲۹۱ جفت باز بودند، تحت تاثیر آنزیمهای AvaII و KpnI برش داده شدند. سپس بدنبال برش آنزیمی، انواع ژنوتیپ CYP2C9*2 و CYP2C9*3 مورد ارزیابی قرار گرفت. نحوه برش و قطعات پیش بینی شده پس از انجام RFLP به صورت زیر بود:

**CYP2C9*2(RFLP) (exon3):**
GGAGGATGGAAAACAGAGACTTACAGAGCTC
CTCGGGCAGAGCTTGGCCCATCCACATGGCTG
CCCAGTGTCAGCTTCCTCTTTCTTGCCTGGGAT
CTCCCTCCTAGTTTCGTTTCTCTTCCTGTTAGGA
ATTGTTTTCAGCAATGGAAAGAAATGGAAGGA
GATCCGGCGTTTCTCCCTCATGACGCTGCGGA
ATTTTGGGATGGGGAAGAGGAGCATTGAG^GA
CCGTGTTCAAGAGGAAGCCCGCTGCCTTGTGG
AGGAGTTGAGAAAAACCAAGGGTGGGTGACC
CTACTCCATATCACTGACCTTACTGGACTACTA
TCTTCTCTACTGACATTCTTGGAAACATTTCAG
GGGTGGCCATATCTTTCATTATGAGTCCTGGTT
GTTAGCTCA

AvaII :G^GACC
CYPC9*2 GGAC (MUT=T) C
TT (RESITANT, HOMOZYGOTE):397bp
TC (semi resistant,heterizygote):397+223+173bp
CC (Wiled type): 223+173bp

در شرایط پیدایش موتاسیون سایت برش برای آنزیم از بین می‌رود.

**CYP2C9*3(RFLP) (exon7):**

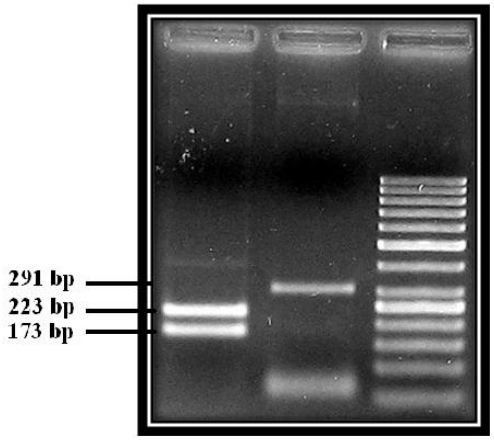
TGCACGAGGTCCAGAGATACATTGACCT
TCTCCCCACCAGGCCTGCCCCATGCAGTG
ACCTGTGACATTAAATTCAGAAACTATC
TCATTCCCAAGGTAAGTTTGTTTCTCCTA
CACTGCAACTCCATGTTTTCGAAGTCCCCA
AATTCATAGTATCATTTTTAAACCTCTACC
ATCACCGGGTGAGAGAAGTGCATAACTCA
TATGTATGGCAGTTTAACTGGACTTTCTCT
TGTTTCCAGTTTGGGGCTATAAAGGTTTGT
AACAGGTCCTAGTGTCTGGCAGTGTGTGT

KpnI: GGTAC^C
AA (Normal):291
AC (Heterozygote):291+270
CC (homozygote):270

در شرایط پیدایش موتاسیون، سایت برش برای آنزیم ایجاد می‌شود. شرایط برش توسط آنزیمهای AvaII و KpnI به ترتیب زیر اعمال شد:
۱۰ میکرولیتر از محصول PCR کنترل شده، ۱۸ میکرولیتر آب مقطر درجه PCR، ۲ میکرولیتر بافر R (یا بافر Kpn) و ۱ میکرولیتر از آنزیم AvaIIیا KpnI. این ترکیب پس از مخلوط شدن بصورت کامل، در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۵ ساعت انکوبه شده و محصولات حاصل از برش بر روی ژل آگاروز شرکت اینویتروژن که بصورت ۳ درصد تهیه شده بود، در کنار سایز مارکر ۵۰ جفت بازی شرکت فرمنتاز فرانسه الکتروفورز گردید و الگوی به دست آمده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده با استفاده از تست $\chi^2$ مورد آنالیز آماری قرار گرفت و فراوانی هر یک از ژنوتیپهای به دست آمده با به کار گرفتن قانون هاردی وینبرگ مورد ارزیابی واقع شد.

## یافته‌ها

بررسی دو واریانت آللی شایع ژن CYP2C9 یعنی واریانتهای CYP2C9*2 و CYP2C9*3 پس از انجام PCR و برش آنزیمی در شکل ۱ آورده شده است:




**شکل۱:** ردیف ۱) سایز مارکر ۵۰ جفت باز ردیف۲) حالت نرمال CYP2C9*3 ردیف۳) حالت نرمال CYP2C9*2

**جدول ۲:** مقایسه میزان فراوانی ژنوتیپ های مورد بررسی در دو گروه مونث و مذکر

| | | ژنوتیپ CYP2C9*1/*1 | ژنوتیپ CYP2C9*1/*2 | ژنوتیپ CYP2C9*1/*3 | ژنوتیپ CYP2C9*2/*2 | فراوانی ژنوتیپ CYP2C9*2/*3 | ژنوتیپ CYP2C9*3/*3 | ارزش p با درجه اطمینان ۹۵ درصد برای میزان فراوانی در دو جنس |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| جنس مونث (تعداد =۱۰۶) | درصد | ٪ ۷۲/۶ | ٪ ۱۳/۲ | ٪۱۱/۳ | ٪ ۰/۹۴ | ٪ ۱/۸۸ | ٪ ۰ | P=۰/۱۷ |
| | فراوانی | ۷۷ | ۱۴ | ۱۲ | ۱ | ۲ | ۰ | |
| جنس مذکر (تعداد =۹۴) | درصد | ٪ ۶۴/۸ | ٪ ۲۰/۲ | ٪ ۱۲/۷ | ٪ ۱/۰۶ | ٪ ۰/۹۴ | ٪ ۰ | P=۰/۲۱ (۲*/۱*)(p=۰/۱۹۰) |
| | فراوانی | ۶۱ | ۱۹ | ۱۲ | ۱ | ۱ | ۰ | |

فراوانی پلی‌مورفیسم‌های آللی CYP2C9*2 و CYP2C9*3 در دو گروه مونث و مذکر با سابقه بیماریهای قلبی- عروقی با تست $\chi^2$ مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). از ۲۰۰ بیمار شرکت کننده در مطالعه، ۱۰۶ نفر مونث و ۹۴ نفر مذکر بودند. با استفاده از قانون هاردی وینبرگ میزان فراوانی ژنوتیپهای مورد انتظار *۱/*۱،*۱/*۲،*۱/*۳، *۲/*۲،*۲/*۳ و *۳/*۳ در ژن CYP2C9 در بیماران قلبی عروقی منطقه شمال غرب ایران (شامل استانهای آذربایجان شرقی و غربی و اردبیل) به ترتیب در جنس مونث ۷۲/۶، ۱۳/۲، ۱۱/۳، ۰/۹۴، ۱/۸۸ و ۰ درصد و در جنس مذکر ۶۴/۸، ۲۰/۲، ۱۲/۷، ۱/۰۶، ۰/۹۴ و ۰ درصد بود. میزان فراوانی تغییرات آللیک مورد بررسی در این مطالعه در دو گروه مونث و مذکر اختلاف معنی‌داری نداشت (p=۰/۱۷) به جز فراوانی ژنوتیپ *۱/*۲ که در جنس مذکر میزان شیوع بیشتری نسبت به جنس مونث به خود اختصاص می‌داد (p=۰ /۰۱۹). نکته حائز اهمیت در بررسی میزان فراوانی این دو گروه، آن بود که آلل نرمال CYP2C9*1/*1 به طور میانگین بیشترین حضور (۶۸/۷ درصد) و آلل CYP2C9*3/*3 کمترین حضور (۰ درصد) را در میان جمعیت مورد بررسی به خود اختصاص می‌داد. میزان قابل انتظار فراوانی آللهای مختلف با به کار گرفتن قانون هاردی وینبرگ محاسبه و با فاصله معنی داری ۰/۰۵ در آنالیز آماری لحاظ شد.

## بحث

قوم آذری ایران که اغلب ترکهای آذری زبان را به خود اختصاص می‌دهند، از نظر جغرافیایی و منطقه‌ای در شرایطی قرار گرفته است که کمترین مطالعات اپیدمیولوژیک بر روی آن انجام پذیرفته است و تقریبا از نظر فراوانی ژنوتیپی آللهای مختلف، ناشناخته مانده است.

هدف این مطالعه تعیین اثر نسبی دو ژنوتیپ شایع ژن (CYP2C9*2/*3CYP2C9*) با نتایج مربوط به مصرف ضد انعقادهای حیاتی و حذف دوز متغیر وارفارین است که هم اکنون ارتباط آن با ژنوتیپVKORC1 به خوبی اثبات گردیده است.

این یافته ها می تواند کاربردهای مهمی در مدیریت بالینی بیماران بر پایه وضعیت ژنوتیپ VKORC1 و CYP2C9 داشته باشد. فرض بر این است که دلیل اصلی این ارتباط قوی بین ژنوتیپ CYP2C9 و اکثر این نتایج، بیان واریانت‌های CYP2C9*2 و CYP2C9*3 باشد که یک تغییر ۴۲٪ درصدی در افزایش یا کاهش زمان نیمه عمر وارفارین به همراه دارد. داشتن یک INR>3 نشان دهنده‌ی این است که آیا بیمار در طی یک دوره‌ی زمانی خاص حداقل یکبار overanticoagulation داشته است یا نه؟ در حالیکه داشتن درصد زمانی بالا (percent time above range) over anticoagulation در کل دوره را نشان می دهد.

اگر ما فرض کنیم که بیماران با واریانتهای CYP2C9 به خاطر افزایش نیمه عمر دارو در آنها، نیاز به دوز پایین و غیرثابت دارو دارند، این منطقی است که احتمال خونریزی در آنها و نیز زمان رسیدن به دوز ثابت دارو در آنها با چالش همراه خواهد بود.

این موضوع بیانگر آن است که جهت جبران نیمه عمر وارفارین در بیماران با تغییر در توالی CYP2C9 پزشکان باید زمان بیشتری برای تنظیم دوز علاوه بر دوز پایین در آغاز درمان، اختصاص دهند. یک مطالعه‌ی مقایسه‌ای بین INR کنترل و ثابت شده در بیمارانی که acenocoumarol و phenprocoumon مصرف می کنند نشان داد که بالا بودن درصد زمانی درمان در بیمارانی که phenprocoumon مصرف می کردند ناشی از بالا بودن نیمه عمر دارو بوده است.

به هر حال، به نظر می رسد این ناشی از نقش کم تر CYP2C9 در متابولیسم phenprocoumon نسبت به acenocovmoral باشد به علاوه نیمه عمر بالا در بیماران حاوی تغییر در CYP2C9 الزاماً در خود شخص مشکل آفرین نیست. ولی موضوع این است که پزشکان معمولاً بدون آگاهی از بالا بودن نیمه عمر وارفارین در این بیماران سعی بر تنظیم دارو در آنها دارند.

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این بررسی یک مقایسه‌ی مستقیم و مفصل میان فراوانی ژنوتیپ‌های شایع ژن CYP2C9 را به نمایش می گذارد که اثر نسبی آنها را به ویژه با اثر در نیمه عمر دارو می‌تواند مشخص کند.

نتایج به دست آمده در این بررسی و میزان فراوانی آللی، با اکثر مطالعات انجام گرفته اپیدمیولوژیک مطابقت دارد (۲۳–۱۹). به طوری که میزان فراوانی ژنوتیپهای مورد بررسی در کشور چین، هندوستان و مالزی در آسیا از نظر توان فراوانی مشابه ولی از نظر نوع حضور ژنوتیپهای مختلف، الگوئی متفاوت ارائه می‌دهد (۲۱). در میان کشورهای متفاوت مورد بررسی، الگوی ژنوتیپی منطقه شمال غرب ایران با جمعیت هندوستان بیشترین نزدیکی را دارد. میزان فراوانی ژنوتیپهای مختلف CYP2C9 در بررسی انجام شده در برزیل نیز الگوئی مشابه به خود اختصاص می‌دهد (۲۴). نحوه بروز ژنوتیپی دو واریانت آللی CYP2C9*2 و CYP2C9*3، مطالعات انجام گرفته قبلی را که نشان داده بود دو جهش همزمان، در یک آلل واحد بروز نمی‌کند را تایید کرد (۲۳–۲۲).

چندین مطالعه اهمیت حضور آللهای CYP2C9*2 و CYP2C9*3 و دخالت آنها در تحمیل دوزاژ بسیار حساس داروهای مورد استفاده را به روشنی ثابت کرده اند و بر اساس حضور یا عدم حضور ژنوتیپ‌های موثر این افراد را به گروهای متابولیزه کننده داروی ضعیف (poor metabolizers)، متابولیزه کننده متوسط و قوی تقسیم می‌کنند. مشخص شدن ژنوتیپ آنزیمهایی نظیر CYP2C9 و دارا بودن ژنوتیپی مانند CYP2C9*3/*3 تاکیدی بر این بحث است که این فرد بسیار ضعیف، دارویی نظیر وارفارین را متابولیزه می‌کند و در معرض مسمومیت دارویی شدید و خونریزیهای جبران ناپذیر قرار دارد.

نکته حائز اهمیت دیگر برای پی بردن به اهمیت موضوع آن است که اگر فرد بیماری به عنوان متابولیزه کننده ضعیف به حساب بیاید، پاسخ ناکافی به درمان و شکست خوردن درمان انتخابی می‌تواند ناشی از آن باشد که این فرد می‌بایست قبل از دریافت دوزاژ اصلی دارویی خود باید تحت درمان با پیش داروهایی قرار بگیرد که منجر به بیو اکتیواسیون با واسطه CYP2C9 شود، و تاثیرپذیری داروی هدف را زیادتر کند. از این قبیل ترکیبات می‌توان به سیکلوفسفامیدها و لوسارتان اشاره کرد (۲۶–۲۵). این در حالی است که معمولاً این پروسه به دلیل عدم شناخت کافی از ژنوتیپ بیماری که تحت درمان قرار میگیرد، انجام نمی‌گردد.

تعیین ژنوتیپ و تغییرات موثر در بیان آنزیمی آن به ما اجازه خواهد داد تا بتوانیم به مفهوم واقعی دوزاژ دارویی منحصر به فرد برسیم. اولین قدمی که باید برای نائل شدن به این هدف برداشت آن است که فراوانی آللهای تغییر یافته این آنزیم را در جامعه مورد بررسی قرار داد و با توجه به این میزان فراوانی و با عنایت به تاثیری که این تغییرات بر نحوه متابولیزه شدن داروها دارند، دوزاژ مناسب تنظیم گشته و بیماران از نتایج مشابه به دست آمده در مطالعات، بهره کافی را ببرند.

## تقدیر و تشکر

این مقاله با استفاده از امکانات طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به شماره ۰۲–۱۷–۵–۱۹۱۲۷ انجام یافته است، بدینوسیله از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه که در اجرای این تحقیق ما را مورد لطف قرار دادند کمال تشکر بعمل می‌آید.

## References

1. James AH, Britt RP, Raskino CL, Thompson SG. Factors affecting the maintenance dose of warfarin. *J Clin Pathol* 1992; **45**: 704–706.
2. Hallak HO, Wedlund PJ, Modi MW, Patel IH, Lewis GL, Woodruff B. High clearance of (S)-warfarin in a warfarin-resistant subject. *Br J Clin Pharmacol* 1993; **35**: 327–330.
3. Gullov AL, Koefoed BG, Petersen P. Bleeding complications to long-term oral anticoagulant therapy**.** *J Thromb Thrombolysis* 1994; **1**: 17–25.
4. Reynolds KK, Valdes R Jr, Hartung BR, Linder MW. Individualizing warfarin therapy. *Pers Med* 2007; **4**: 11–31.
5. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, Avery P, Monkhouse L, King BP. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements proposal for a new dosing regimen. *Blood* 2005; **106**: 2329–2333.
6. Tham LS, Goh BC, Nafziger A, Guo JY, Wang LZ, Soong R. A warfarin-dosing model in Asians that uses single-nucleotide polymorphisms in vitamin K epoxide reductase complex and cytochrome P450 2C9. *Clin Pharmacol Ther* 2006; **80**: 346–355.
7. Fihn SD, McDonell M, Martin D. Risk factors for complications of chronic anticoagulation. Warfarin Optimized Outpatient Follow-up Study Group.Amulticentre study. *Ann Intern Med* 1993; **118**: 511-520.

8. Landefeld CS, Beyth RJ. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. *Am J Med* 1993; **95**: 315-328.
9. Loebstein R, Yonath H, Peleg D. Interindividual variability in sensitivity to warfarin: nature or nurture? *Clin Pharmacol Ther* 2001; **70**: 159-164.
10. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000; **356**: 1667-1671.
11. Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL. Hydroxylation of warfarin by human cDNA-expressed cytochrome P450: a role for P4502C9 in the etiology of (S)-warfarin drug interactions. *Chem Res Toxicol* 1992; **5**: 54-59.
12. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired S-warfarin metabolism catalyzed by R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; **4**: 39-42.
13. Steward DJ, Haining RL, Henne KR. Genetic association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9*3. *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 361-367.
14. Haining RL, Hunter AP, Veronese ME, Trager WF, Rettie AE. Allelic variants of human cytochrome P4502C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization, substrate stereoselectivity, and parochial selectivity of the wild-type and I359L mutant forms. *Arch Biochem Biophys* 1996; **333**: 447-458.
15. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the CYP2C9*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH:cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 203-210.
16. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000; **96**: 1816-1819.
17. Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol* 2001; **52**: 349–355.
18. Gottlieb LK, Salem-Schatz S: Anticoagulation in atrial fibrillation. Does efficacy in clinical trials translate into effectiveness in practice? *Arch Intern Med* 1994; **154**:1945-1953.
19. Schwarz UI. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C9 gene. *Eur J Clin Invest* 2003; **33** Suppl 2: 23–30.
20. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 251–263.
21. Xie HG, Prasad HC, Kim RB, Stein CM. CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; **54**: 1257–1270.
22. Dorado P, Berecz R, Norberto MJ, Yasar U, Dahl ML, Lerena A. CYP2C9 genotypes and diclofenac metabolism in Spanish healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; **59**: 221–225.
23. Xie HG, Prasad H, Landau R, Kim RB, Cai WM, Ieiri I et al. Frequency of the defective CYP2C9 variant alleles in different ethnic groups. *Clin Pharmacol Ther* 2002; **71**: 102.
24. Twardowschy C, Werneck L, Herminia Scola R, Paola LD. CYP2C9 polymorphism in patients with epilepsy: genotypic frequency analyzes andphenytoin adverse reactions correlation. *Arq Neuro Psiquiatr* 2011; **69**: 65-75.
25. Yasar U, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Dorado P, LLerena A. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther* 2002; **71**: 89–98.
26. Griskevicius L, Yasar U, Sandberg M, Hidestrand M, Eliasson E. Bioactivation of cyclophosphamide: the role of polymorphic CYP2C enzymes. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; **59**: 103–109.