

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

LOSARTAN TEDAVİSİ ALTINDA HİPERTANSİF ATAK GEÇİREN HASTALARDA MDR1 (ÇOKLU İLAÇ DİRENCİ) GEN POLİMORFİZMİ VE LOSARTAN PLAZMA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÜZEYİR ÇİMEN

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

OCAK 2023


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

LOSARTAN TEDAVİSİ ALTINDA HİPERTANSİF ATAK GEÇİREN HASTALARDA MDR1 (ÇOKLU İLAÇ DİRENCİ) GEN POLİMORFİZMİ VE LOSARTAN PLAZMA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Üzeyir ÇİMEN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OCAK 2023

Üzeyir Çimen tarafından hazırlanan Losartan Tedavisi Altında Hipertansif Atak Geçiren Hastalarda MDR1 (Çoklu İlaç Direnci) Gen Polimorfizmi ve Losartan Plazma Düzeylerinin Araştırılması adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof.Dr.Canan Uluoğlu

Tıbbi Farmakoloji, Gazi Üniversitesi

II. Danışman: Unvanı Adı SOYADI

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Başkan: Prof.Dr. Sevil Özger İlhan

Tıbbi Farmakoloji, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye: Prof.Dr. Melih Babaoğlu

Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye: Prof.Dr. Müge Tecder

Tıbbi Farmakoloji, Lokman Hekim Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye: Prof.Dr. Süreyya Barun

Tıbbi Farmakoloji, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye: Doç.Dr.Gökçe Sevim Öztürk Fincan

Tıbbi Farmakoloji, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi: 16./01./2023

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Adviye Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Üzeyir ÇİMEN
02/01/2023

LOSARTAN TEDAVİSİ ALTINDA HİPERTANSİF ATAK GEÇİREN HASTALARDA MDR1 (ÇOKLU İLAÇ DİRENCİ) GEN POLİMORFİZMİ VE LOSARTAN PLAZMA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Üzeyir ÇİMEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2023

ÖZET

Losartan tedavisi altında hipertansif atakla acil servise başvuran hastalarda, p-glikoproteini kodlayan ve çoklu ilaç direncinde rol alan *MDR1* gen polimorfizmleri ile plazma losartan ve EXP3174 (metabolit) düzeylerinin ilaç yanıtıyla ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Üçüncü basamak acil servislerde çok merkezli gerçekleştirilen araştırmaya, hipertansiyon nedeniyle losartan kullanmakta iken başka şikayetle gelen 50 hasta (28 erkek, 22 kadın) (68,26±9,56 yaş) "kontrol grubu" olarak, losartan (50-100 mg/gün) tedavisi altında iken (ortalama kullanım 7,09±4,97 yıl) hipertansif atakla gelen 50 hasta (18 erkek, 32 kadın) (66,18±13,33 yaş) "hipertansif atak" grubu olarak alındı. Plazma losartan düzeyleri ve EXP3174 düzeyleri tandem kütle spektrometrisiyle ölçüldü. *MDR1* G2677T/A, C3435T ve C1236T polimorfizmleri "*TagMan SNP Genotyping Assay Real Time PCR*" kitiyle analiz edildi. Kategorik değişkenler Ki-kare testi, kategorik olmayan değişkenler Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis, tek yönlü varyans analiziyle değerlendirildi. Gruplar arasında G2677T/A polimorfizmi açısından fark bulunmadı. C3435T ve C1236T polimorfizmlerinde sırasıyla, TT ve CT genotiplerinde anlamlı fark vardı (p=0,024 ve 0,043). Plazma losartan ve EXP3174 konsantrasyonları ortanca cinsinden kontrol grubunda 114,25 ng/ml ve 16,95 ng/ml olarak, hipertansif atak grubunda 113,61 ng/ml ve 19,87 ng/ml olarak belirlenmiş; istatistiksel fark izlenmemiştir. Hipertansif atak C3435T TT genotipinde sık, C1236T CT genotipinde daha nadir görülmekteydi. Kontrollerin C3435T genotiplerinde plazma losartan düzeyi fark göstermekle birlikte (p=0,034), klinik korelasyon bulunmadı. Hipertansif atakla başvuran hastaların plazma losartan ve EXP3174 düzeylerinin belirlendiği ve *MDR1* polimorfizmleri ile karşılaştırıldığı ilk çalışma olma niteliği olan çalışmamız, farmakogenetik araştırmalar için yol gösterici olabilmesinin yanında, terapötik ilaç izlemi ve düzenli tedaviye rağmen hipertansif atak geçiren hastaların etkili ve akılcı tedavisi için yönlendirici olabilir.

Bilim Kodu : 1018
Anahtar Kelimeler : MDR1, polimorfizm, gen, losartan, EXP3174
Sayfa Adedi : 75
Danışman : Prof. Dr. Canan ULUOĞLU

INVESTIGATION OF MDR1 (MULTI-DRUG RESISTANCE) GENE POLYMORPHISM AND LOSARTAN PLASMA LEVELS IN PATIENTS WHO HAD HYPERTENSIVE EPISODES UNDER LOSARTAN TREATMENT

(Ph.D.Thesis)

Üzeyir ÇİMEN

GAZI UNİVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2023

ABSTRACT

It was aimed to investigate the relationship between MDR1 gene polymorphisms (encode p-glycoprotein, play a role in multi-drug resistance) to plasma losartan and EXP3174 (metabolite) levels with drug response in patients admitted to the emergency department with hypertensive attack under losartan treatment.50 patients (28 males, 22 females) (68.26±9.56 years) who were presented with other complaints while using losartan for hypertension as the "control group" and 50 patients (18 men, 32 women) who presented with hypertensive attack while under losartan (50-100 mg/day) treatment (mean use 7.09±4.97 years) (66.18±13.33 years) as the "hypertensive attack" group were included in the multicenter study conducted in tertiary emergency services. Plasma losartan and EXP3174 levels were measured by tandem mass spectrometry. MDR1 G2677T/A, C3435T, C1236T polymorphisms were analyzed with the "TaqMan SNP Genotyping Assay Real-Time PCR" kit. Categorical variables were evaluated with Chi-square test, non-categorical variables were evaluated with Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis, one-way ANOVA. There was no difference between the groups in terms of G2677T/A polymorphism. There was a significant difference C3435T and C1236T polymorphism, in TT and CT genotype in respectively (p=0.024; 0.043). The median concentrations of losartan and EXP3174 in plasma were determined as 114.25 ng/ml and 16.95 ng/ml in the control group, and 113.61 ng/ml and 19.87 ng/ml in the hypertensive attack group; no statistical difference was observed. Hypertensive attack was seen frequently in the C3435T TT genotype and less frequently in the C1236T CT genotype. Although the plasma losartan level was different in the C3435T genotypes of the controls (p=0.034), no clinical correlation was found. Our study is the first study in which the plasma losartan, EXP3174 levels of patients presenting with a hypertensive attack were determined and compared with MDR1 polymorphisms, can be a guide for pharmacogenetic studies as well as for the effective and rational treatment of patients who have hypertensive attacks despite therapeutic drug monitoring and regular treatment.

Science Code : 1018
Keywords : MDR1(multi-drug resistance), polymorphism, gene, losartan, EXP3174
Page Number : 75
Supervisor : Prof. Dr. Canan ULUOĞLU, MD, PhD

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde, kıymetli bilgilerini paylaşan değerli danışman hocam; Prof. Dr. Canan ULUOĞLU'na, tez çalışması boyunca desteğini esirgemeyen bana hep yardımcı olan sevgili eşim Yeşim KINACI ÇİMEN'e sonsuz teşekkür sunarım.

Doktora tezimde bana yardımcı olan ve ilaç düzey ölçümlerini yapan Prof.Dr. Duri Şehvar ÜNAL'a ve Neşet NEŞETOĞLU'na, doktora tezimin genetik çalışmasında yardımcı olan Prof.Dr. Esra TUĞ'a, veri toplanması aşamasında yardımcı olan Prof.Dr. Ahmet DEMİRCAN'a, Osman KARAKUŞ'a, Ömer Faruk TURAN'a, Gültekin KADI'ya, tez izleme kurulumda yer alan ve yardımlarını esirgemeyen ve ayrıca referanslarından yararlandığım Prof.Dr. Melih BABAOĞLU'na ve tez izleme komitemde yer alan ve her konuda yardımcı olan Prof. Dr. Sevil ÖZGER İLHAN'a teşekkür ederim.

Doktora tezimi yaparken çalışmamı destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine (Proje kod no: 01/2018-33) teşekkürlerimi sunuyorum.

Beni yetiştirirken verdikleri emeklerinden dolayı tüm üniversite hocalarıma, doktoramı yaparken katkıda bulunan, beni gelecekte söz sahibi yapacak bilgilerle donanmamı sağlayan hocalarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora yapma sürecinde birlikte çalıştığım Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarı asistanları ve doktora arkadaşlarıma, laboratuvar sorumlularına ve laboratuvarda görevli tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman iyi dilekleriyle bana güç veren, manevi destekleriyle her daim yanımda olan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET……. iv

ABSTRACT…….. v

TEŞEKKÜR…….. vi

İÇİNDEKİLER…….. vii

ÇİZELGE LİSTESİ……... x

ŞEKİLLER LİSTESİ……. xii

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ…… xiii

1. GİRİŞ…….. 1

2. GENEL BİLGİLER…… 3

2.1. Tanım…….. 3

2.1.1. Primer (birincil hipertansiyon)……. 6

2.1.2. İkincil (sekonder) hipertansiyon ve nedenleri……. 6

2.1.3. Hipertansiyonun komplikasyonları…….. 6

2.1.4. Hipertansif atak (transiyent hipertansiyon, geçici HT)…….. 7

2.1.5. Hipertansif kriz…….. 7

2.2. Hipertansiyon Epidemiyolojisi Ve Sınıflaması…….. 7

2.2.1. Toplumda kan basıncının dağılımı…… 7

2.2.2. Kan basıncı yüksekliğine neden olan diğer faktörler…… 8

2.2.3. Kan basıncının (Tansiyon) ölçümü……... 8

2.2.4. Evde kan basıncı ölçümü…….. 9

2.2.5. Beyaz önlük hipertansiyonu…….. 10

2.2.6. Ambulatuar (seyyar) kan basıncı ölçümü……..... 10

2.3. Hipertansif Hastada Klinik Değerlendirme……... 11

2.3.1. Sekonder hipertansiyon açısından araştırılması gereken durumlar…….. 11

Sayfa

2.4. Hipertansiyonun Tedavisi……. 11
2.4.1. Tiyazid diüretikler…… 12
2.4.2. Kıvrım diüretikler……. 12
2.4.3. Beta adrenoreseptör blokörleri……. 12
2.4.4. ACE inhibitörleri…….. 13
2.4.5. Kalsiyum kanal blokörleri…… 13
2.4.6. Alfa adrenerjik blokaj yapan ilaçlar……. 14
2.4.7. Santral etkili adrenerjik ilaçlar……. 14
2.4.8. Vazodilatörler……... 14
2.4.9. Anjiotensin (AT) II-reseptör blokörleri…… 15
2.5. Losartan Potasyum (LP)…… 16
2.6. P-glikoprotein ……... 18
2.6.1. Tanımı…….. 18
2.6.2. P-glikoprotein yapısı…… 18
2.6.3. Yeri ve görevleri…….. 19
2.6.4. İnhibitörleri, indüktörleri ve substratları……. 21
2.6.5. P-glikoprotein (MDR1) poliformizmleri……. 23
3. GEREÇ VE YÖNTEM…… 25
3.1. Klinik İzlem…… 25
3.1.1. Araştırma tasarımı……. 25
3.1.2 Kontrol ve hasta grubu…….. 25
3.2. Terapötik İlaç Monitorizasyonu……. 26
3.2.1. Plazmada losartan ve exp3174 düzeylerinin tandem mass yöntemi ile tayini…….. 26
3.2.2. Cihazlar…… 28

Sayfa

3.2.3. Kimyasallar…….. 28

3.3. Genotipleme Çalışması……. 29

3.3.1. Spin kolon metoduyla çevresel kandan genomik DNA izolasyonu…… 29

3.3.2. Genomik DNA konsantrasyonunun belirlenmesi……. 30

3.3.3. Rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 tek nükleotid polimorfizmlerinin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi…….. 31

3.3.4. Metodun esasları…….. 31

3.3.5. Protokol……. 32

3.4 İstatistiksel Analiz…….. 34

4. BULGULAR…… 35

5. TARTIŞMA…….. 51

6. SONUÇ VE ÖNERİLER…….. 59

KAYNAKLAR…… 61

EKLER…….. 71

EK 1.Etik kurul onayı…… 72

ÖZGEÇMİŞ……... 73

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. ACC/AHA Hipertansiyon Sınıflandırması…….. 3

Çizelge 2.2. ESC/EHH hipertansiyon sınıflandırması……. 4

Çizelge 2.3. Hipertansiyonun nedene yönelik sınıflandırılması…….. 5

Çizelge 2.4. P- glikoprotein substratları……... 21

Çizelge 3.1. Çalışma katılma-dışlama kriterleri……... 25

Çizelge 3.2. Rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 TNP'lerinin erişim numarası (SNP ID), primer dizileri, kromozom 7 üzerindeki konumu, allel ve genotipleri…… 32

Çizelge 3.3. RT-PCR Reaksiyonu bileşenleri…….. 33

Çizelge 3.4. RT-PCR Döngüleri……... 33

Çizelge 4.1. Çalışma grubunun demografik ve temel özellikleri…….. 35

Çizelge 4.2. Kontrol ve hasta grubunun demografik ve temel özellikleri……. 36

Çizelge 4.3. Kontrol ve hasta gruplarında hipertansiyonla ilişkili komplikasyonların varlığı…… 37

Çizelge 4.4. Kontrol ve hasta gruplarında rs2032582 (G2677T/A) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımı…….. 38

Çizelge 4.5. Kontrol ve hasta gruplarında rs1045642 (C3435T) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımı…….. 39

Çizelge 4.6. Hasta ve kontrol gruplarında rs1128503 (C1236T) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımı……. 39

Çizelge 4.7. Gruplar arasında rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki (Yabanıl tip referans alınarak)……. 40

Sayfa

Çizelge 4.8. Tüm gönüllü grubu, sıfırıncı dakika sistolik ve diyastolik tansiyon değerlerinin rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi. 41

Çizelge 4.9. Kontrol ve hasta grubunun ortalama plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri…… 42

Çizelge 4.10. Kontrol ve hasta gruplarında plazma losartan konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi…….. 43

Çizelge 4.11. Kontrol ve hasta gruplarında plazma EXP3174 konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi……. 44

Çizelge 4.12. Plazma losartan konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi…… 45

Çizelge 4.13. Plazma EXP3174 konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi…… 46

Çizelge 4.14. Plazma losartan/EXP3174 konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi……. 47

Çizelge 4.15. Hipertansif atak ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma losartan düzeyi üzerindeki ortak etkisi…….. 48

Çizelge 4.16. Hipertansif atak ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma EXP3174 düzeyi üzerindeki ortak etkisi…… 49

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Losartan, EXP3179 ve EXP3174 metabolitlerinin yapısı…… 17

Şekil 2.2. P-glikoprotein yapısı…… 19

Şekil 2.3. P- glikoproteinin çalışma mekanizması……... 19

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılan simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla birlikte aşağıda verilmiştir.

Simgeler	Açıklama
°C	Celcius
dk	Dakika
kDa	Kilodalton
L	Litre
m	Kütle
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
ml	Mililitre
mg	Miligram
mm	Milimetre
mmHg	Milimetre civa
mM	Milimol
nm	Nanometre
pg	Pikogram
ph	Potansiyel hidrojen
rpm	Rounds per minute(dakikadaki devir sayısı)
sn	Saniye
V	Volt
z	Yük

Kısaltmalar	Açıklamalar
ABCB1	ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1 (ATP Bağlama Kaseti Alt Ailesi B Üyesi 1)
ACC	American College of Cardiology (Amerika Kardiyoloji Cemiyeti)
ACE	Anjiotensin converting enzyme (Anjiotensin değiştirici enzim)
ARB	Anjiotensin reseptör blokeri

AHA	American Heart Association (Amerikan Kalp Cemiyeti)
ATP	Adenozin trifosfat
AT1	Anjiotensin 1
AT2	Anjiotensin 2
COX	Cyclo-oxygenase inhibitors (Siklo oksinejaz inhibitörleri)
CYP	Cytochromes P450 (Sitokrom P450)
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DKB	Diyastolik kan basıncı
ESC	European Society of Cardiology (Avrupa Kardiyoloji Cemiyeti)
ESH	European Society of Hypertension (Avrupa Hipertansiyon Cemiyeti)
GFR	Glomerular filtration rate (Glomerüler filtrasyon hızı)
HMG-KoA	Hidroksi-metil glutaril koenzim A
HT	Hipertansiyon
JNC	Joint National Comittee (Ortak Ulusal Komite)
LS	Losartan
LP	Losartan potasyum
KB	Kan basıncı
MDR-1	Multidrug resistance protein 1 (Çoklu ilaç direnci proteini 1)
NICE	National Institue for Health and Care Excellence **(**İngiltere Ulusal Sağlık ve Özen Enstitüsü)
P-gp	P glikoprotein
SKB	Sistolik kan basıncı
SNP	Single-nucleotide polymorphism
SS	Standart sapma
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler İstatistik Paketi)
SVH	Serebrovasküler hastalık
Taq DNA	Taqman deoksiribo nükleik asit

TEKHARF	**“**Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri” çalışması
TNP	Tek nükleotid polimorfizmi
RT-PCR	Real time polymerase chain reaction (Gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu)

1. GİRİŞ

Hipertansiyon (HT) dünya genelinde toplumun %35ini etkileyen ve kardiyovasküler hastalıklar açısından major risk faktörü olan ve en yüksek oranda ölüme sebebiyet veren bir hastalıktır [1]. Hipertansiyonun, dünya genelinde yaklaşık olarak bir milyar erişkini etkilediği görülmektedir. Yılda dokuz milyon ölüm ile ilişkili olduğu belirtilen HT, kalp-damar sistemi morbidite ve mortalitesi açısından ciddi bir risk faktörü olarak görülmektedir [2,3]. Joint National Committee (JNC)-7 ve 2017 ACC/AHA ve raporuna göre HT'nin ABD'de erişkinler içinde oranı sırasıyla %31.9 ve %46.5'tir. Yine ABD'de erişkinlerin %36,2-34,3'üne HT tedavisi önerilmiştir [4,5]. 140/90mmHg üzerindeki kan basıncı olan hastalarda kan basıncındaki 2mmHg'lik bir azalma iskemik kalp hastalığı riskini %7, inme riskini %10 azaltırken kan basıncındaki 20mmHg'lik bir azalma iskemik kalp hastalığı riskini yarı yarıya azaltmaktadır [6].

Günümüzde hipertansiyon tedavisinde çok sayıda ilaç tercihi olsa da anjiotensin reseptör blokörü (ARB) grubu ilaçlar, çeşitli avantajları nedeni ile sıkça kullanılmakta, ancak tedavi altında iken bile bazı hastalar hipertansif atak geçirebilmektedir. İlacını düzenli kullanan bir hastanın hipertansif atak geçirmesinin altında yatan nedenlerden biri, ilaç etkisini değiştirebilecek genetik bir polimorfizm olabilir.

Losartan, ARB grubunda yer alan ve çok yaygın kullanılan antihipertansif bir ilaçtır. Losartan, ABCB1 geni tarafından kodlanan "*Multi Drug Rezistans*-1" (MDR1) ilaç efluks proteininin (ilaç ya da yabancı maddelerin hücre dışına atılmasını sağlayan bir pompa) substratıdır ve bu gendeki olası polimorfizmlerin, losartanın absorpsiyonunu, transportunu, biyoyararlanımını ve dolaylı olarak da hipertansiyon kontrolündeki etkililiğini değiştirdiği yakın zamanda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [7,8]. MDR1 genindeki bazı polimorfizmlerin başka ilaçların etki ya da advers etki profilini değiştirdiği de bildirilmiş olup, tarafımızdan yapılan bazı çalışmalar ile de gösterilmiştir [9]. MDR1 gen polimorfizmlerinin toplumlardaki sıklığı üzerinde de çalışmalar mevcuttur [10].

Çok yakın zamanda ülkemizde yapılan bir çalışmada MDR1 geninin C3435T, G2677T ve C1236T polimorfik alellerinin, losartanın biyoyararlanımını ve böylece etkisini değiştirebileceği gösterilmiştir [6]. Bu çalışmada Babaoğlu ve arkadaşları MDR1 C3435T genetik polimorfizmi ve C3435CT/TT mutant aleli taşıyan hastaların, 6 haftalık losartan tedavisine daha iyi yanıt verdiğini göstermişlerdir. Literatürde, losartan tedavisi

altındayken hipertansif atak sıklığının MDR1 gen polimorfizmi ile bağlantısını gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışması ile losartan tedavisi alırken hipertansif atak ile acile başvuran hastalarda, p-glikoproteini kodlayan ve çoklu ilaç direnci geni olan *MDR1* gen polimorfizmleriyle losartan ve EXP-3174 (aktif-metabolit) plazma düzeylerinin ilaç yanıtı ile ilişkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

Hipertansiyon, kanın basıncının kabul edilmiş olan bilimsel normal sınır değerlerinin üzerinde bulunması olarak tanımlanır. Bu tanımlamadan başka kan basıncının; göz, beyin kalp gibi organlarda hasara yol açabilecek tarzda yükselmesi olarak da tanımlanır. HTdoğrudan morbidite ve mortaliteye neden olmasının yanısıra, kardiyovasküler hastalık ortaya çıkma sıklığını da arttırdığı görülmektedir. Hipertansiyonun aterosklerotik kalp hastalığına yakalanma riskini ortalama iki-üç kat arttırdığı gösterilmiştir[11].

Uygun biçimde ölçülen kan basıncını esas alan aşağıdaki tanımlama ve evreleme sistemi, 2003 yılında yayınlanan JNC-7 kılavuzunun güncellenmesi ile 2017 yılında ACC/AHA tarafından düzenlenmiştir [4,5].

Yeni kılavuza göre Kan Basıncı (KB) sınıflaması:
Normal: < 120/ 80 mmHg
Yüksek: 120 mmHg ≤ Sistolik KB < 130 mmHg ve diyastolik KB < 80 mmHg
Evre 1: 130 mmHg ≤ Sistolik KB < 140 mmHg ve 80 ≤ diyastolik KB < 90 mmHg
Evre 2: 140 mmHg ≤ Sistolik KB veya 90mmHg ≤ diyastolik KB
Hipertansif kriz: Sistolik KB >180 mmHg ve/veya diyastolik KB >120 mmHg

Çizelge 2.1. ACC/AHA hipertansiyon sınıflandırması

Sınıflama	Sistolik Kan Basıncı(SKB)	Diyastolik Kan Basıncı(DKB)
Normal	< 120	<80
Yüksek	120-129	<80
Evre 1	130-139	80-89
Evre 2	≥140	≥90

Sistolik ve diyastolik basınçlara ayrı ayrı bakıldığında sınıflamada bir farklılık var ise; yüksek olan kan basıncı değeri evreyi belirler.
Avrupada kullanılan klavuzlar ise ACC/AHA'nın hipertansiyon tanımı ile çelişmektedir. Avrupa Hipertansiyon Derneği (ESC/ESH) ve Avrupa Kardiyoloji Derneği, İngiltere Ulusal Sağlık ve Özen Enstitüsü (NICE) kılavuzları ve Uluslararası Hipertansiyon Derneği (ISH) ofis bazlı kan basıncını kullanarak kan basıncı tanımlamasını yapmaktadır. Bu

derneklerin klavuzlarında ise hipertansiyon: sistolik basıncının 140 mmHg ve üzerinde veya diyastolik basıncının 90 mmHg ve üzerinde olması şeklinde tanımlanmıştır [12,13].

Çizelge 2.2. ESC/EHH hipertansiyon sınıflandırması

Sınıflama	Sistolik Kan Basıncı(SKB)	Diyastolik Kan Basıncı(DKB)
Optimal	< 120	<80
Normal	120-129	80-84
Normal-Yüksek	130-139	85-89
Evre 1 HT	140-149	90-99
Evre 2 HT	160-179	100-109
Evre 3 HT	>180	>110
İzole sistolik HT	>140	<90

Sistemik olarak tanımladığımız hipertansiyon da iki kategoriye ayrılır. Bunlar primer ve sekonder olarak tanımlanır. Primer hipertansiyon yani esansiyel hipertansiyonun nedeni bilinmemektedir. Sekonder hipertansiyonda ise altta yatan bir neden olduğu bilinmektedir. Sekonder hipertansiyon, sistemik hipertansiyonların %5-10'unu oluşturmakla birlikte ve nadir rastlanılsa da, altta yatan nedenin tedavisi ile birlikte hastanın tansiyonu normale dönebilir ve daha kolay kontrol altına alınabilir [14,15].

Çizelge 2.3. Hipertansiyonun nedene yönelik sınıflandırılması

PRİMER HİPERTANSİYON	SEKONDER HİPERTANSİYON
Nedenleri:	A. Endokrin Nedenler
• GENETİK YATKINLIK • AŞIRI TUZ TÜKETİMİ • OBEZİTE-İNSÜLİN DİRENCİ • SEMPATİK SİNİR SİSTEMİ FAZLA ÇALIŞMASI • RENİN-ANJİOTENSİN SİSTEMİNİN ROLÜ • TUZ ATILIMINDA RENAL BOZUKLUK • İNTRASELÜLER SODYUM VE KALSİYUM ARTIŞI • DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIĞI • STRESLİ KİŞİLİK YAPISI	1.Oral Kontraseptifler 2. Adrenokortikal Hiperfonksiyon a)Cushing Sendromu b)Primer hiperaldosteronizm c)Konjenital adrenal hiperplazi (17α hidroksilaz ve 11ß hidroksilaz eksikliği) 3.Feokromositoma 4.Akromegali 5.Hipotroidi, hipertroidi 6.Hiperparatroidi
ARTIRAN FAKTÖRLER:	B. Renal Nedenler
• AŞIRI ALKOL ALIMI • SİGARA İÇİMİ • SEDANTER HAYAT • POLİSTEMİ • NONSTEROİDAL ANTİİNFLAMATUARLAR • DÜŞÜK POTASYUM ALIMI	• Kronik pyelonefrit • Kronik böbrek hastalığı • Diyabetik nefropati • Renal arter darlığı • Arteriolar nefroskleroz • Akut ve kronik glomerülonefrit • Polikistik böbrek hastalığı • Renin salgılayan tümörler
	C. Uyku-apne sendromu
	Nörolojik Nedenler Aort Koarktasyonu

2.1.1. Primer (birincil hipertansiyon)

Esansiyel hipertansiyon en sık görülen ve henüz tam olarak açıklanmamış nedenlere dayanan, kan basıncının normal değerlerinden yüksek olması durumudur. Esansiyel hipertansiyonun etyopatogenezinde henüz kesin olarak bilinmeyen çok sayıda faktörün rol oynadığı düşünülmektedir fakat yüksek olasılıkla kardiyovasküler ve böbrek yapısı ve işlevi üzerinde birçok sayıda birleşik etkiye sahip olan çok sayıda çevresel ya da genetik faktörün sonucudur [16].

Primer hipertansiyonun kesin etyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olsa da, obezite, yaş, ırk, aile öyküsü, yüksek sodyumlu diyet, nefron sayısında azalma, az fiziksel egzersiz, fazladan alkol tüketimi gibi risk faktörleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [16-24].

2.1.2. İkincil (sekonder) hipertansiyon ve nedenleri

Sekonder hipertansiyonun birçok nedeni olabilir. Sekonder hipertansiyona, endokrin, renal, nörolojik nedenler ile aort koarktasyonu, uyku-apne sendromu ile bazı ilaç kullanımları neden olabilir. İkincil hipertansiyona neden olan ilaçlardan bazıları, non-steroid antiinflamatuar ilaçlar (kronik kullanımda), oral kontraseptif ilaçlar, antidepresanlar seratonin seçici geri alım inhibitörleri, monoamin oksidaz inhibitörleri, trisiklik antidepresanlar) , kortikostreoidler (mineralokortikoidler, glukokortikoidler) , sodyum içeren antiasidler, dekonjestanlar (psödoefedrin, fenilefrin vb.), eritropoetin, takrolimus, amfetamin, metilfenidat, atipik antipsikotik ilaçlar (olazapin, klozapin vb.), trozin kinaz inhibitörleri (sorafenib, sunitinib, vb.), bazı zayıflama ilaçlarıdır [4-12].

2.1.3. Hipertansiyonun komplikasyonları

Hipertansiyona bağlı olarak gözde, hemoraji, retinapati, eksuda, papil ödem; serebrovasküler hastalıklar, geçici iskemik atak; kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, sol ventrikül hipertrofisi; periferik arterlerde anevrizma ve kladikasyo intermittant; böbrekte ise mikroalbüminüri (30 < albümin < 300 mg/gün), proteinüri (protein > 300 mg/dl/gün) ve hipertansif böbrek yetmezliği gelişir [25].

2.1.4. Hipertansif atak (transiyent hipertansiyon, geçici HT)

Ciddi kan basıncı yükseklikleri olmayan ve 60 yaş altı 140/90 üzeri ve 60 yaş ve üzeri 150/90 üzeri olan ve herhangi bir son organ hasarı riski taşımadan tansiyon yükselmesine denir [26].

2.1.5. Hipertansif kriz

Tanım olarak genellikle kan basıncının sistolik >180 mmHg ve/veya diyastolik >120 mmHg olması hipertansif kriz olarak tanımlanır. [27].Genellikle >180 / >120mm Hg tansiyonu olan hastalarda, baş ağrısı ile seyreden fakat akut organ belirtisi ve semptomu olmayan, bazen asemptomatik bazen semptomatik durumlardır.

Kan basıncının yüksek olduğu bazı hastalarda yeni gelişen ve devam eden son organ zarar belirtileri ve kanıtları görülebilir. Bu belirtilerin görülmesi durumuna "hipertansif ivedi durum" veya "hipertansif öncelikli durum" denir. Hastalarda genellikle diyastolik basınç ≥120 mmHg'dir. Fakat belirli bir eşik yoktur, çünkü kan basıncının yükseldiği durumlarda da semptomlar gelişebilmektedir. Akut glomerülonefrit ya da eklampsi gibi hastalıklar bu durumlarda da gelişebilir [28-29].

2.2. Hipertansiyon Epidemiyolojisi Ve Sınıflaması

2.2.1. Toplumda kan basıncının dağılımı

Hipertansiyon toplumlarda sık görülmektedir ve yaygındır. Dünya genelinde hipertansiyonun 1.13 milyar kişide görüldüğü tespit edilmiştir ve dünyada erişkinlerin %6'sının ölümünden sorumludur [30].

Ülkemizde yapılan TEKHARF çalışmasına bakıldığında 1990 yılında sistolik kan basıncı > 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı > 90 mmHg olan kişiler erişkinlerin üçte birini oluşturmaktaydı [31]. Genel olarak yaklaşık otuz dört milyon olan 20 yaş ve üzeri bireylerin 11 milyonunun (erkek: beş milyon, kadın: altı milyon) hipertansiyon hastası olduğu düşünülmektedir. Bu verilere göre, kadınların %35'i ve erkeklerin %30'u yüksek tansiyon hastası olarak düşünülmektedir. 30-39 yaş arasında hipertansiyon prevalansı %19 görülürken, 50-59 yaş grubuna bakıldığında erkeklerin yarısından azında ve 60 yaşını aşan bireylerde ise her üç kişinin ikisinde rastlanmaktadır [31].1991 yılında yapılan TEKHARF çalışmasında hipertansiyon olma oranı %33,7 bulunmuştur [32]. TEKHARF çalışmasına

göre 1995 yılında tedavi oranı %33 iken, 2002 yılında %48'e çıkmıştır ve tedaviye devam etmekte olanlarda kan basıncının kontrol altına alınması ise %18 oranından %28'e kadar yükseldiği görülmüştür [33].

2.2.2. Kan basıncı yüksekliğine neden olan diğer faktörler

Sigara kullanımı, nikotin reseptörlerini uyararak adrenerjik sinir uçlarından norepinefrin ve diğer nörotransmitterlerin salıverilmesini artırarak kan basıncının yükselmesine neden olur. Alkol alımının artırılması arteriyel sertliği arttırdığı bilinmektedir ayrıca kan basıncı yüksekliğine neden olur. Obezite tansiyon yüksekliğine neden olan en büyük faktörlerden biri olup obez bireylerde hipertansiyon sıklığı daha sık görülmektedir, intravasküler volüm artışı ve buna bağlı olarak kan basıncı yükselmesine neden olabilir. Obezlerde yüksek tansiyon artışına neden olanlardan birisi de genelde obeziteye bağlı obstrüktif apnedir. Uyku apnesi sonucunda sempatik aktivite artışına bağlı kan basıncını yükseltebilir. Sedanter yaşam tarzı ve fiziksel aktivite azlığı kan basıncı yükselmesine neden olmaktadır fakat düzenli fiziksel egzersiz endotel bağımlı vazodilatasyonun artmasına neden olarak kan basıncı düşmesini sağlamaktadır [25].

2.2.3. Kan basıncının (Tansiyon) ölçümü

Kan basıncını ölçmede altın standarda bakıldığında, arter içine kateter yerleştirilerek doğrudan yöntemlerle ya da standart kıstaslara uygun olduğu kabul edilen tansiyon aletleri (sfigmomanometre) ile ölçülmesidir. Aneroit, elektronik ya da civalı manometre kullanılmaktadır. Doğru sonucu görebilmek için tansiyon aletinin manşonunun boyutlarının hastaya uygun şekilde olması gerekmektedir ve manşon içerisinde bulunan ve tansiyon ölçümü sırasında şişen kese kısmının en az kol çevresinin %80'i sarması gerekmektedir. Manşonun genişliği kol uzunluğunun üçte ikisini kapsamalıdır. Erişkinlerde tansiyonu ölçmek için kullanılan tansiyon aletinin manşonun kesesi 35 cm uzunluğunda ve 12 cm eninde olması uygundur. Kanada Hipertansiyon Birliği'nin kol çevresine göre kese boyutları hakkında önerileri erişkin kol çevresi 33 cm ve altında ise kese boyutları 12x23 cm; 33-41 cm arasında ise 15x33 cm; 41 cm ve üzerinde ise 18x36 cm şeklindedir [34].

Kan basıncını ölçmeden önce bazı çevre koşullarının ve gerekli alt yapının hazırlanması gerekmektedir çünkü ölçüm sırasında oluşan koşullar kan basıncının etkilenmesine sebep

olmaktadır. Ölçümlerden önce 5 dakikadan az olmayacak şekilde istirahat etmiş olmalıdır. Ölçüm yapılacak oda/yer ortalama sıcaklıkta olmalı ve çok soğuk ya da çok sıcak olmamalıdır. Hastaya ölçüm yapılmadan önce bilgi verilmiş olursa daha iyi olur çünkü yemek yenmesinden ve egzersizden sonra tansiyon daha düşük çıkabilir, tam tersi olarak hasta ölçüm öncesinden 30 dakika içerisinde sigara ya da çay, kahve içmişse tansiyonu yüksek çıkabilir. Ayrıca adrenerjik uyarıcıların kullanımı ya da fenilefrin içeren nazal dekonjestanların ilaç olarak kullanımı da tansiyonda yükselmeye neden olabilir. Hasta tansiyon ölçümüne başlamadan önce herhangi bir yere oturmalı ve sırtını yaslamalıdır. Hastaya ölçüm öncesi, ölçüm sırasında konuşmaması gerektiği hatırlatılmadır ve hasta bacak bacak üstüne atmamalıdır. Hastanın ilk muayenesi yapılırken tansiyon ölçümleri iki koldan da yapılmalıdır. Kan basıncının yüksek olduğu koldaki basınç hastanın kan basıncı olarak kabul edilir. Bundan sonraki kan basıncı izlemlerinde ise her zaman sağ koldan yapılmalıdır. Tansiyon ölçümünün hangi koldan ve ne zaman yapıldığı kayıt edilmelidir ve aynı zamanda sistolik ve diyastolik kan basınçları da sisteme kayıt edilmelidir. Böylece hastanın kan basınçları basit ve kolay bir şekilde saptanmış olur. Sonuç olarak hekim hastasını bilgilendirir ve tedavi kararlarını yönlendirir.

Hekim tarafından kan basıncı ölçümünün yapılmasının bazı dezavantajları da mevcuttur ve bunlar beyaz gömlek hipertansiyonu ve de kan basıncında ciddi değişiklik olmasıdır. Bu dezavantajlardan dolayı ambulatuar kan basıncı monitorizasyonu ve evde kan basıncı ölçümü yöntemleri kullanılmaktadır [25].

2.2.4. Evde kan basıncı ölçümü

Muayenede ve klinikte ölçülen tansiyon, özellikle hipertansif hastalarda diğer yerlerde ölçülene göre daha yüksek çıkma eğilimindedir. Bundan dolayı kan basıncının muayene haricinde bir yerde ölçülmesi ve de tedaviye başlandıktan sonra tekrar değerlendirilmesinde önem arz etmektedir. Hastaların kan basıncı değerlerinin evden takip edilmesi yöntemi son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Kan basıncı hastanın kendi tarafından ölçüldüğünde özellikle beyaz önlük hipertansiyonunu gerçek hipertansiyondan ayırt etme şansı vardır. Sınırda hipertansiyonda ve kan basıncının yeni başlayan yükselmelerinde günlük kan basıncı değerlerini ölçmek daha kolaydır. Hastaya eğer antihipertansif tedavi başlandıysa terapötik cevabı değerlendirmek mümkün olur, evde ölçüm tedavi planına hastanın daha iyi uymasına katkıda bulunur ve hasta izlem maliyetini azaltır. Ev ölçümlerinde hem normotansif hem de hipertansif bireylerin kan basıncının

muayene ya da klinik ortama göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca seyyar kan basıncı ölçümleri ile ev ölçümleri arasında iyi bir korelasyon görülmektedir. Evde yapılan kan basıncı ölçümünde ortalama değerleri ortalaması ≥135/85 mmHg ise hastada hipertansiyon düşünülmesi gerekir [25].

Evde kan basıncı ölçümü yapan ve kan basıncını takip eden hastalara kan basıncında dalgalanmalar olabileceği ve bundan korkmaması gerektiği anlatılmalıdır. Ancak bu dalgalanmalar olduğunda hekime haber vermesi gerektiği de belirtilmelidir. Hastaya tanı amaçlı ölçüm yapılması istendiğinde günün farklı saatlerinde ölçüm yapması gerektiği söylenmelidir. Tedaviyi izlemek amacı ile hastadan tansiyon ölçülmesi istendiğinde ise her gün aynı saatte ölçüm yapması gerektiği hatırlatılmalıdır. Hastanın klinik ve çevresel koşullarına göre de ölçüm sıklığı belirlenebilir.

2.2.5. Beyaz önlük hipertansiyonu

'Beyaz önlük' ya da 'izole klinik hipertansiyon' ya da 'izole ofis' hipertansiyonu doktor muayenesinde ölçülen kan basıncının yüksek saptanırken, ofis dışında ambulatuar ve evde kan basıncı ölçümlerinde normal olması durumuna denir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışmaya göre beyaz önlük hipertansiyonun oluşmasında doktorlar dışında başka birçok faktörün yol açtığı göz önünde bulundurularak izole ofis hipertansiyonu kavramının kullanılması gerektiğini öne sürenler mevcuttur [35].

2.2.6. Ambulatuar (seyyar) kan basıncı ölçümü

Seyyar kan basıncı izleminde hastanın gün içindeki aktivitelerini engellemeyecek şekilde, hastanın üzerine 24 saat boyunca özel bir cihaz yerleştirilir, böylece hastanın günlük aktiviteleri ve uyku sırasında kan basıncı alınması sağlanır. Cihaz takılı olduğu sürece hasta günlük aktivitelerini yazmalı ve uyku zamanlarını, yemek yediği vakitlerini, üzüldüğü ya da sinirli olduğu durumların zamanını kayıt etmelidir. Mümkün olan her durumda kullanılması önerilir fakat imkânlar kısıtlı ise özellikle ambulatuar kan basıncı ölçümleri uykuda kan basıncının düşmesi (dipping) araştırmak amacıyla, nokturnal hipertansiyon şüphesi olan hastalarda, kan basıncı değişikliklerinin saptanması amacıyla, ofis ya da beyaz önlük hipertansiyonundan şüphe edilen durumlarda, ilaç tedavisine dirençli hipertansiyonda, antihipertansif ilaçlara bağlı olduğu düşünülen ısrarlı hipotansiyon durumlarında ambulatuar kan basıncı ölçümü yapılabilir.

2.3. Hipertansif Hastada Klinik Değerlendirme

Hipertansif bir hastayı değerlendirirken hastanın öyküsünü detaylı bir şekilde almak, kan basıncı değerlerini saptamak, hastaya detaylı bir fizik muayene yapmak önem arz etmektedir. Bunlar yapıldıktan sonra hipertansiyonun primer ya sekonder kaynaklı olup olmadığı tespit edilmelidir. En son olarak, hastayı diğer hastalıkları ile birlikte değerlendirerek hedef organ hasarı olup olmadığı ve kardiyovasküler riski birlikte değerlendirilmelidir.

2.3.1. Sekonder hipertansiyon açısından araştırılması gereken durumlar

Hastanın yaşı, öyküsü, fizik muayenesi, temel laboratuvar incelemeleri sonucunda özellikle sekonder hipertansiyon düşündüren durumlar; 20 yaş altında ve 50 yaş üstünde hipertansiyon başlangıcı görülmesi, anamnezde özellikle ailede böbrek hastalığı olması, fizik muayenede abdominal üfürüm saptanması, ani başlayan hipertansiyonu olan hastalar, ilaç tedavisine yanıtı az olan hastalar, kan basıncı değerinin 180/110 mmHg'nin üzerinde olması, serum kreatininin ≥ 1,5 mg/dl olması, sebepsiz hipokalemi, taşikardi, tremor ya da terleme ile değişen kan basıncı örnek olarak verilebilir.

2.4. Hipertansiyonun Tedavisi

Sistolik kan basıncının (SKB) devamlı olarak >140 mmHg olması ya da diyastolik kan basıncının (DKB) devamlı olarak > 90 mm Hg olması ve ilaç tedavisi gerektiren hipertansiyon olarak tanımlanır. JNC 8 kılavuzuna bakıldığında yaşlı hipertansifler hastalar (60 yaş ve üzerinde olan) konusunda ise tedaviye başlamak için SKB değerinin 150 mmHg ve/veya DKB değerinin 90 mmHg ve üzerinde olması gerektiği söylenmektedir. Kronik böbrek yetmezliği, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve organ hasarı olan hastalara ilaç başlamak için basınçlar farklılık göstermektedir.

Antihipertansif ilaçlar diüretikler, beta blokörler, anjiotensin değiştirici enzim (ACE) inhibitörleri, kalsiyum kanal blokörleri, anjiotesin II reseptör blokörleri (ARB), alfa blokörler ve diğer antihipertansif ilaçlar olarak sınıflandırılabilir [36]

Antihipertansif ilaçlara örnek olarak diüretiklerden bumetanid, furosemid, hidroklorotiyazid, spironolakton, triamteren; beta blokörlerden atenolol, labetolol, metoprolol, nadolol, propranolol, timolol; ACE inhibitörlerinden benazepril, kaptopril,

enalapril, fosinopril, lizinopril, moeksipril, kinapril ve lamipril; anjiotensin II-reseptör blokörlerinden losartan, telmisartan, kandesartan; kalsiyum kanal blokörlerinden amlodipin, diltiazem, felodipin, isradipin, nikardipin, nifedipin, nisoldopin, verapamil; alfa blokörlerden; dokzasozin, prazosin, terazosin; diğerlerinden ise klonidin, diazoksid, hidralazin, labetol, alfa metil dopa, minoksidil ve sodyum nitroprusid örnek verilebilir [36].

2.4.1. Tiyazid diüretikler

Hidroklorotiyazid gibi tiyazid diüretik grubndaki ilaçlar sodyum ve su atılımının artırılmasını sağlayarak kan basıncını düşürürler. Spironolakton kalp yetmezliğinde oluşan kalbin yeniden yapılanmasının (remodelling) azaltılmasında ek yarar sağlamaktadır. Tiyazid diüretikler kan basıncını hem yatar pozisyonda hem de ayaktayken düşürmektedirler. Tiyazid diüretikler oral yoldan etkilidir. Tiyazid diüretikler hastaların yüzde yetmişinde hipokalemi ve hiperürisemiye neden olurken yüzde onunda da hiperglisemiye yol açarlar. Hipomagnezimiye de yol açabilirler [36].

2.4.2. Kıvrım diüretikleri

Böbrek işlevi yüksek derecede bozulmuş veya daha önce tiyazid diüretik ilaç kullanmış hastalarda veya diğer diüretiklerle tedaviye yanıt alınamayan hastalarda bile kıvrım diüretikleri güçlü etki gösterirler. Kıvrım diüretikleri böbrek vasküler direncini düşürerek böbrek kan akımını artırırlar [36].

2.4.3. Beta adrenoreseptör blokörleri

Günümüzde kalp yetmezliği gibi endike oldukları durumlarla birlikte hipertansiyon görüldüğünde beta blokörler ilk seçenek olarak tercih edilebilirler. Beta blokörler kalp debisini azaltarak kan basınıcını düşürme özelliklerine sahiptirler. Ayrıca merkezi sinir sisteminden sempatik sinir sistemi iletimini ve böbreklerden renin salımını azaltarak anjiotensin II'nin oluşumunu ve aldosteron hormonunun salgılanmasını azaltmaktadırlar. Beta blokörler supraventriküler taşiaritmi, geçirilmiş miyokard infarktüsü, anjina pektoris, kronik kalp yetmezliği ve migren baş ağrısı gibi hipertansiyona eşlik edebilecek hastalıkların tedavisinde de yararlıdırlar. Beta blokörler oral olarak alındıklarında etkilidirler. Hipotansiyona neden olabilirler ve bradikardi yapabilirler; lipid

metabolizmasını bozarak yüksek dansiteli lipoprotein konsantrasyonunu düşürebilir ve plazma triaçilgliserol konsantrasyonun artmasına neden olabilirler. Akut kalp yetmezliği ve astımı ya da periferal vasküler hastalığa sahip olan insanlarda beta blokör kullanımına dikkat etmek gerekir [36].

2.4.4. ACE inhibitörleri

ACE inhibitörleri kardiyak debiyi, atım hızını artırmadan ve kasılma gücüne etki etmeden periferik direncin azalmasını sağlayarak kan basıncını düşürürler. Bu ilaçlar anjiotensin I'i anjiotensin II (güçlü bir vazokonstriktör)'ye çeviren ACE'yi bloke ederler. Vazodilatasyon anjiotensin II'nin konsantrasyonunda azalmaya sebep olur ve vazokonstriksiyonun azalması ile artmış bradikinine bağlı güçlü vazodilatör etkinin sonucu olarak vazodilatasyon ortaya çıkar. ACE inhibitörleri diyabetik nefropatinin ilerleyişini yavaşlatırlar ve albüminüriyi azaltırlar. ACE inhibitörleri kronik kalp yetmezliği olan hastaların tedavisinde de etkilidirler. Sık rastlanan yan etkileri yaş olmayan tipte öksürük, ciltte döküntüler, ateş, tad almada değişiklik, hiperkalemi ve hipotansiyondur. ACE inhibitörleri teratojendir ve hamilelikte kullanılmaması gerekmektedir [36].

2.4.5. Kalsiyum kanal blokörleri

Kalsiyum kanal blokörleri genelde ilk seçenek ilaçların kontrendike olduğu veya tedavide yetersiz kalınan durumlarda tercih edilmektedir. Anjinası olan ya da hem diyabetik hem de hipertansif olan hastaların tedavisinde etkilidirler. Kalsiyum kanal blokörleri farmakokinetik ve klinik endikasyonları açısından üç gruba ayrılmaktadırlar.

Bunlardan ilki difenilalkilaminler olup verapamil bu grubun onaylanmış üyesidir ve en az seçici olanıdır. Anjina, supraventriküler taşiaritmiler ve migren tipi baş ağrısının tedavisinde kullanılırlar. İkinci grup ise benzodiyazepinler olup diltiazem bu ilaçlara örnek olarak verilebilir. Verapamil gibi diltiazem de kalp ve damar düz kas hücrelerinin her ikisini de etkiler ancak diltiazem verapamil ile karşılaştırıldığında daha düşük negatif inotropik etkiye sahiptir. Üçüncü grup olan dihidroprinlere örnek olarak, amlodipin, nikardipin, isradipin, felodipin verilebilir. Bu üçüncü grup kalsiyum kanal blokörleri farmakokinetik özellikleri, onaylanmış kullanım alanları açısından ve de ilaç etkileşimleri açısından diğerlerinden farklı olmakla beraber kalsiyum kanalları açısından bakıldığında kalpteki kalsiyum kanallarına daha yüksek bağlanma durumu göstermektedirler.

Kalsiyum kanal blokörleri, koroner arterler ile periferik damarların düz kaslarındaki ve kalpteki L-tipi kalsiyum kanallarına bağlanmak suretiyle kalsiyumun hücre içine girişini, engellerler. Bunun sonucunda damar düz kasları gevşer ve özellikle arteriyoller genişler. Bu ilaçlar özellikle diyabet, anjina, periferik damar hastalığı ya da astım hastalığı olan kişilerin tedavisinde fayda sağlarlar. Nadir olarak görülse de bu ilacın kullanımına bağlı olarak bazı hastalarda kabızlık gelişebilir. Negatif inotropik etkiye sahip olduğu bilinen verapamilin özellikle konjestif kalp yetmezliğine sahip olan hastalarda kullanılmaması gerektiği unutulmamalıdır [36].

2.4.6. Alfa adrenerjik blokaj yapan ilaçlar

α_1- adrenoreseptörleri kompetitif olarak bloke eden terazosin, dokzasozin ve prazosin; periferik vasküler direnci azaltma yolu ile arter ve ven kaslarını gevşeterek arteriyel kan basıncının düşmesini sağlarlar. Kısa dönemde oluşabilecek refleks taşikardiyi gidermek için beraberinde ß-blokörlerin kullanımı gerekebilir [36].

2.4.7. Santral etkili adrenerjik ilaçlar

Santral etkili ilaçlardan ilki olan klonidin α_2-agonisti bir ilaç olup santral adrenerjik uyarı çıkışını azaltarak etki eder. Klonidin genellikle sadece diüretikler kullanıldığında tedaviye yeterli yanıt alınamayan hafif ve orta derece hipertansiyon hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Klonidinin önemli özelliklerinden birisi de böbrek kan akımını ve glomerüler filtrasyonu azaltamaz ve de böbrek hastalığına bağlı tedavinin güçleştiği hipertansif hastalarda tedavide yararlıdır. Klonidinin ani kesilmesine bağlı olarak rebound hipertansiyon gelişebilmektedir. İkinci olarak sıklıkla kullanılan α-metildopadır. Bu ilaç α_2 agonist özelliği sayesinde total periferik direnci ve kan basıncını düşürerek etki eder. Bu hastalarda kalp debisi azalmaz ve de hayati öneme haiz organların kan akımında azalma olmaz. Bu ilaç böbrek kan akımını da azaltmadığı için böbrek yetmezliği ve de hipertansiyonu olan hastaların tedavisinde kullanılabilir. [36].

2.4.8. Vazodilatörler

Vazodilatörler ilaçlardan en sık bilinen ikisi hidralazin ve minoksidildir. Bu ilaçlar doğrudan hipertansiyon hastalarında ilk seçenek olarak kullanılmamaktadırlar. Bu ilaçların etki mekanizması damar düz kaslarını gevşeterek direnci ve kan basıncını düşürerek olur.

Aynı zamanda bu ilaçlar plazma renin konsantrasyonunun artışına neden olarak sodyum ve su tutulumuna yol açabilir. Hidralazin, özellikle arter ve arteriyoller üzerinde etki göstererek doğrudan vazodilatasyona yol açar. Bu etki sayesinde periferik direncin düşmesine ve de refleks yol ile kalp atım hızı ve de kalp atım hacminin artmasına neden olur. Genelde daima refleks taşikardiye neden olduğundan dengelemek amacı ile bir ß-blokör ve de sodyum tutulumunu azaltmak için bir diüretik ile beraber kullanılır.

Minoksidil ise rezistans damarlarında yani arteriyollerde dilatasyona yol açarak tansiyonun düşmesini sağlar, venüller üzerinde etkisizdir. Minoksidil, diğer ilaçlara yanıt vermeyen ağır ve malign hipertansiyon tedavisinde tercih edilen bir ilaçtır. Minoksidil sodyum ve su tutucu etkisinden dolayı vücutta sıvı birikimine, ödem ve konjestif kalp yetmezliğine neden olabilir.

2.4.9. Anjiotensin (AT) II-reseptör blokörleri

AT1 reseptör blokörleri ya da diğer adıyla sartanlar veya ARB olarak bilinmektedirler. ACE inhibitörleri kullanılmaya başlamadan önce saralasinin (ARB grubu bir ilaç) tansiyonu düşürdüğü gösterilmiştir. Anjiyotensin II'nin iki reseptörü olduğu 1990'lı yıllarda tespit edilmiştir.

Anjiotensin Tip I (AT1) alttipi anjiyotensin II'nin vücuttaki etkilerinin önemli kısmını gerçekleştiren reseptördür. AT reseptörleri incelendiğinde fonksiyonları ve sinyal mekanizmaları açısından fark olduğu görülmüştür. Zıt etkileri açısından bakıldığında kan basıncı üzerine etkileri ve hücre çoğalmasıdır. Bu mekanizmalar ve etkiler incelenerek hipertansiyon tedavisi için seçici AT1 reseptör antagonistleri geliştirilmiştir. ACE inhibitörleri ARB'ler ile kıyaslandığında retiküler aktive edici sistemin baskılanmasında daha etkili ve orijinal olduğu gösterilmiştir. Yakın zamandaki çalışmalara bakıldığında AT-II sentezinde ACE haricindeki enzimlerle de olduğu saptanmıştır. ACE haricindeki enzimler ile AT-II sentezinin fizyolojik koşullarda olduğu tartışmalıdır. Bununla birlikte, ilaç tedavisi sırasında ve nefrektomiden sonra görülmektedir. Cathepsin G, doku plazminojen aktivatörü 8 ve tonin, AT'yi AT-II'ye doğrudan dönüştürür. Cathepsin G, kimaz, kimostatin ve tonin AT-II'yi sentezleyen enzimlerin bununla brilikte AT-I'in AT-II'ye dönüşünü sağladığı bilinmektedir. Bu sebeple, ACE inhibitörleriyle AT-II'nin sentezlenmesi ve etkileri tamamen engellenememektedir. Bahsedilen nedenlerden dolayı

ARB kullanılmasıyla reseptörlerin tam bloke edilmesinden dolayı ACE inhibitörlerine göre AT-II'nin daha fazla engelleneceği düşünülmektedir.

ARB'ler de tıpkı ACE inhibitörleri gibi AT-II'nin oluşturduğu vazokonstriktör etkide azalmaya sebep olarak çevresel vasküler direnci düşürür. Böylece oluşan antihipertansif etki atım hacminde, glomerüler filtrasyonun hızında ve kalp atım hızında azalmaya sebep olmaz. AT- II'nin dokudaki reseptörlerine bağlanmasının engellenmesi vazodilatör etkiyle birlikte kardiyovasküler ve renal etkilerin ortaya çıkmasına sebep olur [37].

ARB'ler antihipertansif etkisi retiküler aktive edici sistemin aktive olmasına bağlı olarak gösterir. ARB'ler, AT-I'e AT-II'nin bağlanarak etki etmesini engelleyerek, aksi yönde etkilere neden olan AT-II reseptörlerine bağlanmalarına sebep olurlar. Sonuçta, AT-II reseptörlerinin stimulasyonundan dolayı vazodilatasyon artar. [37].

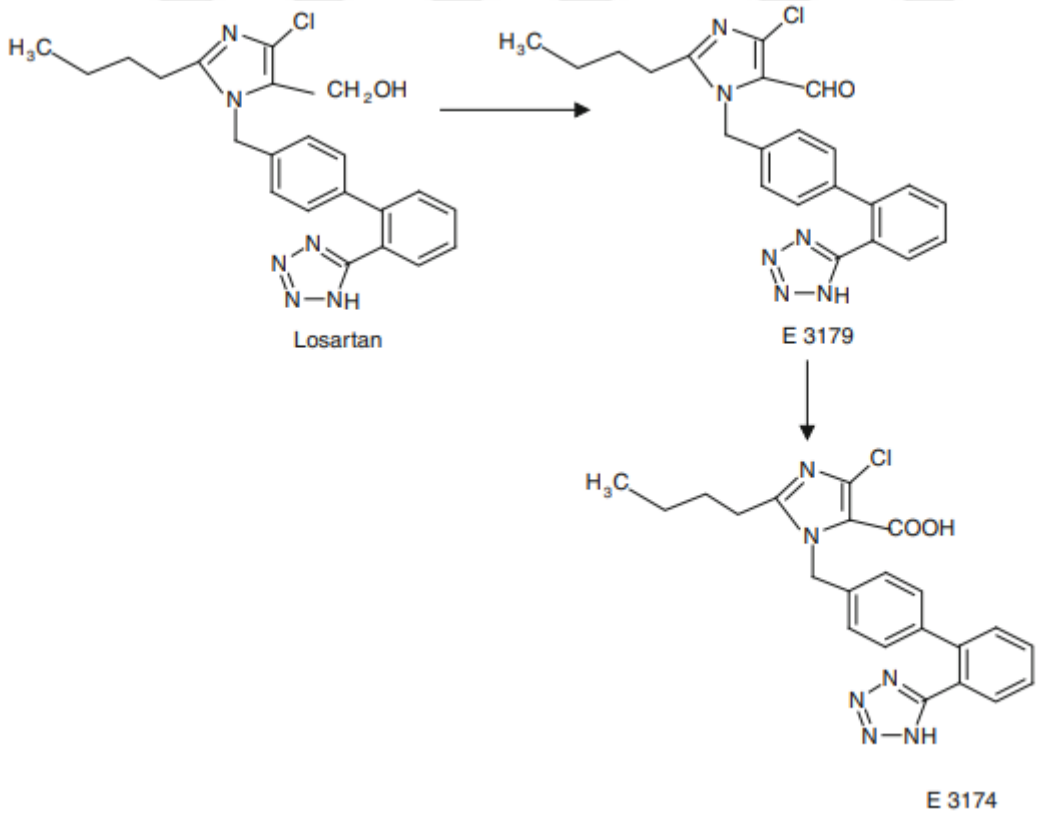
ARB'ler, peptid ve non-peptid yapıları, potansiyel etkileri ve metabolizmaları farklı olan analoglardır. Oral biyoyararlanımı keşfedilen ilk ARB, losartandır (LS). Birçok diğer ARB losartandan türetilerek elde edilmiştir. ARB'ler; molekül yapısına göre: nonbifenil tetrazol türevleri (telmisartan), bifenil tetrazol türevleri (eprosartan, kandesartan sileksetil, irbesartan, olmesartan, losartan potasyum, medoksomil) ve nonheterosiklik türevler (valsartan) şeklinde sınıflandırılır. ARB'ler aynı zamanda AT-II'ye olan antagonist etkilerine göre yarışmalı (eprosartan, LS) ve yarışmasız (kandesartan-sileksetil, valsartan, irbesartan,olmesartan, telmisartan) olarak sınıflandırılmaktadırlar [38].

2.5. Losartan Potasyum (LP)

Losartan potasyum [metanol monopotasyum (2-bütil-4-kloro-1-{[2-(1H-tetrazol-5-il) bifenil-4-il] metil}-1H-imidazol-5- il)] yapısındadır. Molekül ağırlığı 461,00 g/moldür. C22H23ClKN6O şeklinde kapalı formül ile gösterilir. LP, beyaz ya da kirli beyaz-grimsi, kristal tuz yapısındadır. Alkol ve sudaki çözünürlüğü yüksektir. Bununla beraber, organik çözücülerdeki çözünürlüğü iyi değildir. [39]. Erime sıcaklığı 183,5 – 184,5°C aralığındadır. pH değeri 7,0-8,5'dur. LP için başlangıç dozu genellikle 50 mg olarak bilinmektedir. Bu doz için ortalama aktivite süresi 24 saat olarak bilinir. İstenenen tansiyon düşürücü etki ortaya çıkmazsa günde iki doz olarak kullanılabilmektedir [40]. Daha önce yapılmış bir çalışmada, LP'nin günlük tek seferde 100 mg alımı ile günlük dozun iki parça halinde 50 mg'lık alımı karşılaştırılmış ve her iki kullanımda aynı tansiyon düşürücü etkiyi

gösterdiği bulunmuştur [41]. Oral yoldan alınan losartanın yaklaşık %14 'ü, losartandan çok daha güçlü olduğu düşünülen AT_1 reseptör antagonisiti, 5-karboksilik asit metaboliti olan EXP3174'e dönüşür. Losartanın inaktif metabolitleri de vardır. İnaktif metabolitlerine dönüşmesini sağlayan CYP2C9 ve CYP3A4'tür. Losartan oral alınımından 1 (bir) saat sonra, EXP3174 ise 3 (üç) saat içerisinde doruk plazma düzeyine ulaşmaktadır. Losartanın plazma ömrü yaklaşık 2,5 saat, EXP3174'ün yaklaşık 6-9 saat arasındadır.

Plazma klirenslerine bakıldığında ise losartanın plazma klerensi 600 ml/dk ve EXP3174'ün 25ml/dk'dır. Losartanın böbrek klerensi 75 ml/dk, EXP3174'ün 25 ml/dk'dır. Her ikisi de karaciğerde metabolize olduktan sonra safra yolu ile atılmaktadırlar. Losartan ve EXP3174'ün böbrek yetmezliği olan hastalarda plazma klerensleri etkilenmezken; karaciğer yetersizliğinde her ikisi de etkilenmektedir. Losartan anjotensin blokörü olmasının yanı sıra, tromboksan A_2 reseptörlerinin de kompetetif antagonisti olup, trombosit agregasyonunu azaltmaktadır [42]. Bunların dışında losartanın aktif metaboliti olan EXP3174, COX-2 mRNA up-regülasyonunu ve COX'a bağımlı prostoglandin üretimini azaltmaktadır [43].



Şekil 2.1. Losartan, EXP3179 ve EXP3174 metabolitlerinin yapısı- Sica ve ark. (2004)' ten değiştirilerek.

2.6. P-glikoprotein

2.6.1. Tanımı

P-glikoprotein (P-gp)'nin amino-asit sayısı 1280 ve molekül ağırlığı 170 kDa olan aktif transport ile maddelerin hücre dışına atılmasını sağlayan bir transport proteinidir [41]. Aktif ilaç taşınması için gerekli enerji amino-asitt zincirindeki Adenozin Trifosfat (ATP) hidrolizi ile sağlanır. İnsanda ilaçların biyolojik membranlardan geçişinden sorumlu olan 48 proteinin tanımlandığı ve "*ATP Binding Cassette (ABC)*" familyasının bir üyesi olarak bulunmaktadır.

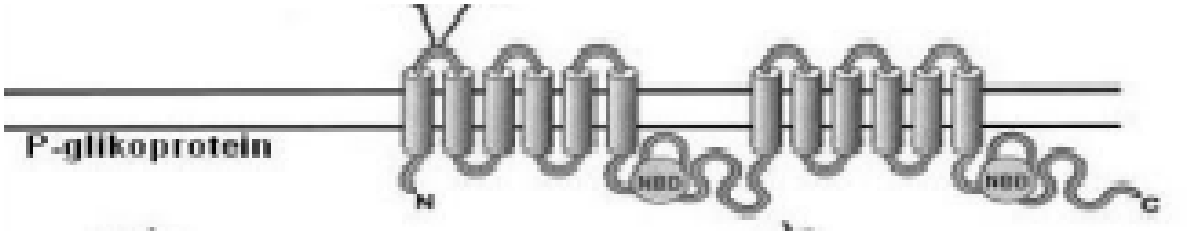
İnsanlarda p-glikoprotein 7. kromozomun 7q 21.1 bölgesinde bulunan *MDR (ABCB1)* geniyle kodlanmaktadır [44]. P-glikoprotein kanserojen ve ksenobiyotik maddelere karşı doğal bir koruyucu işlevi görmektedir. Ayrıca bu maddelerin vücuttan atılması görevini üstlenmektedir [45]. Bununla birlikte p-gp fonkisyonunun ve ekspresyonunun değişmesi ile birlikte, substratı olan ilaçların emilimi, dokulardaki dağılımı ve tedaviye cevap da değişebilmektedir [46]. Bu sebeple p-glikoprotein polimorfizmi ilaç tedavisine karşı oluşan yanıtta önem arz etmektedir.

MDR geninde görülen bu polimorfizm, taşıyıcı sistemin hem fonksiyonunu hem de ekspresyonunu etkileyebilir 1989 yılında yapılan çalışmalarla MDR1 genindeki polimorfizmler insan adrenal bezinde tanımlanan G2677T varyantında bulunmuştur [47]. Son yapılan çalışmalarla birlikte 50'den fazla genetik polimorfizm saptanmıştır. Ayrıca değişik etnik gruplar ele alınarak MDR geninin sıklığı ve fonksiyonel önemi araştırılmıştır.

2.6.2. P-glikoprotein yapısı

P-gp yapısına bakıldığında, nükleotid bağlama sekansı içeren homolog iki yarıdan ve 6 transmembran bölümünden oluşmaktadır ve toplam olarak bakılıdğında 1280 aminoasite sahip olduğu saptanmıştır. Molekülün N-terminalinin yarısının ekstrasellüler bölgesinde tek glikolizasyon bölgesi bulunmaktadır. N ucundan glikolize edilmiş p-glikoproteinin polipeptid zincirinde 2 transmembranal kısım ve bu transmembranal kısımlara bağlı iki nükleotid kısımdan oluşmaktadır [48].

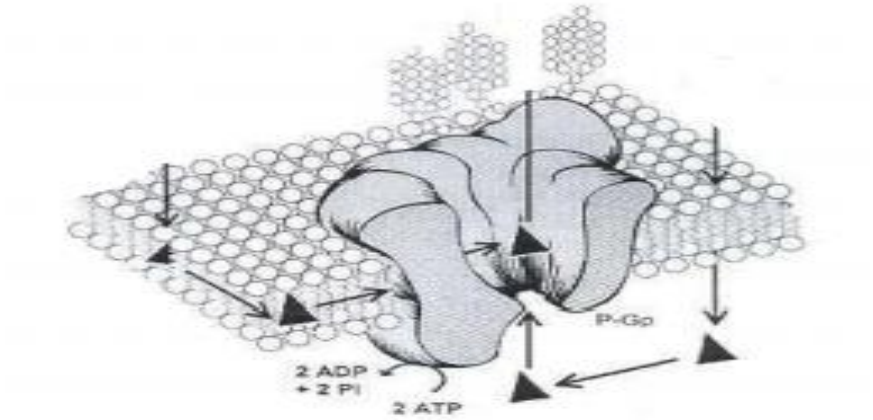
Elektron mikroskobisi kullanılarak yapılan yapı analizine göre, insan p-glikoproteini yaklaşık olarak 8 nm uzunluğunda, 10 nm çapında olan bir silindir yapıdan oluşmakta, bu molekülün yarısı membran içinde bulunmaktadır [49].



Şekil 2.2. P-glikoprotein yapısı- Shinkel ve ark. (2003)' ten değiştirilerek.

2.6.3. Yeri ve görevleri

P-glikoprotein, hücre içindeki substratlarını saptayan, hücre içi ve dışı bölgelerden gelen ksenobiyotikleri ve ilaçları atabilen dışa atım pompası olarak görev yapmaktadır. Tam olarak mekanizması açıklanamasa da 2 nükleotid bağlayan kısma 2 ATP molekülünün bağlanması ve bunların hidrolize edilmesi ile transmembranal kısma aktarılan sinyallerin proteinde konformasyonel değişime yol açarak ilaçların hücre dışına atılmasını sağladığı düşünülmektedir [50-56].



Şekil 2.3. P- glikoproteinin çalışma mekanizması- Marzolini ve ark. (2004)' ten değiştirilerek.

P- glikoproteinin çalışma mekanizmasına dair 3 farklı teori bulunmaktadır. Bunlardan ilki, substratı olan moleküllerin hücre dış bölgesinden hücre iç bölgesine difüzyonu sırasında, hücre membranında hapsedilmesi ve böylece hücre dışına atılmasını sağlamasıdır. Buna

“vakum temizleme modeli” denilmektedir. İkinci mekanizma, hücre membranında flipaz aktivitesi oluşturarak substratın membranın iç kısmından dış kısmına kaymasını sağlayarak substratın sekresyonu oluşturmaktır. Son mekanizma ise hücre içi ve dışı arasında bir kanal oluşturarak sekresyonu sağlamaktır [50,57].

P-glikoprotein, özellikle tümör hücrelerinde çeşitli antineoplastik ilaçlara karşı direnç göstermesi nedeniyle de önem taşımaktadır. P-glikoproteinin sadece tümör hücrelerinde değil normal insan dokularında da bulunmaktadır. İnsanlarda P-glikoprotein, yumşak kaslar ve deride, böbrek üstü bezlerinde, yumurtalık, testis, kalın barsak, mide, ince barsak, rektum, böbrek, pankreas, karaciğer, idrar kesesi, prostat ve plasentada, akciğerlerde, beyinde, özefagus, timus, dalak, ilik, kalpte bulunmaktadır ve birçok fizyolojik fonksiyona aracılık etmektedir [58,61]. Bulunma düzeyleri yüksek, orta ve düşük olarak sınıflandırıldığında; yumşak kaslar, deri, kalp, yumurtalık, testis, özefagus ve beyinde düşük seviyede bulunmaktadır. Pankreas, karaciğer, böbrek, idrar kesesi ve plasentada orta seviyede bulunurken; en yüksek böbrek üstü bezlerinde bulunmaktadır. İnce barsakta bulunan P-glikoprotein epitel hücrelerin luminal zarında yer almakta olup, barsak kanalına ilaçların salıverilmesini sağlamaktadır.

P-glikoproteinlerin fizyolojik ve farmakolojik fonksiyonları bulunmaktadır. Fizyolojik olarak besinlerle alınan doğal toksinlerin emilmesini engelleyerek sistemik dolaşıma karışan bu toksinlerin sistemden atılmasını; böbrek üstü bezinde yani adrenal bezde, gebelik döneminde endometriumda ve plasentada kortikosterodilerin, aldosteron ve kortizolün hücre dışına taşınmasını; hemapoetik sistem hücreleri ve kemik iliği hücrelerinin farklılaşmasından sorumlu petidlerin hücre membranı dışına atılmasını; hücrenin şişmesi ile aktif hale gelen klor kanallarının aktivitesinin düzenlenmesini, fosfoditilkolin gibi bazı endojen fosfolipidlerin taşınmasına aracılık edilmesini sağlar.

Farmakolojik olarak P-glikoproteinin birincil fonksiyonu, oral yoldan alınan ilaçların gastrointestinal sistemden emiliminin azaltılmasıdır. Eritrositlerin lümeninde ise ilaçların lümene atılımını azaltarak ilaçların absorbsiyonunu kısıtlar. İkinci olarak aktif ilaç eliminasyonu mekanizmasını kullanır. Sistemik dolaşıma karışmış olan ilaçların atılımını hızlandırır. Bunu hem böbrek proksimal tubulus hücrelerinin luminal membranından hem de hepatositlerin kanaliküler membranından uygular ve böylece idrar ve safra yolu ile ilaçların atılımını hızlandırmış olur. En son düşünülen mekanizması ise ilaçların sistemik dolaşımdan dokulara penetrasyonunu azaltmak şeklindedir. Sistemik dolaşımdaki ve kan

beyin bariyerine ulaşan ilaçların beyin, fetüs, lenfositler gibi dokulara penetrasyonunu sınırlandırır. P-glikoproetinin plasentadaki lokalizasyonunun, potansiyel olarak zararlı bileşiklere fetal maruziyette, fetal toksisitede önemli rol oynadığını göstermektedir [62].

2.6.4. İnhibitörleri, indüktörleri ve substratları

P-glikoproteinin oldukça büyük bir sayıda substrat seçiciliği olduğu bilinmektedir ve yapısal açıdan bakıldığında çok farklı bileşenleri taşıdığı bilinmektedir. Bu maddelere bakıldığında genelde hidrofobik ve amfipatik özellikte oldukları, molekül ağırlığı 300 Daltondan büyük, fizyolojik pH'da katyonik olma eğiliminde olan ve pasif difüzyon yoluyla hücrelere giren ilaçlardan oluştukları görülmektedir. P-glikoprotein substratları aşağıdaki çizelge 2.4'te verilmiştir [53,54,63-65].

Çizelge 2.4. P- glikoprotein substratları

Antibiyotikler	Klaritromisin
	Levofloksasin
	Tetrasiklin
	Rifampin
Antiviraller	İndinavir
	Amprenavir
	Ritonavir
	Sakinavir
Analjezik	Asimodilin
	Morfin
Proton Pompa İnhibitörleri	Lansoprozol
	Omeprazol
	Pantoprozol
H1-reseptör blokörleri	Fexofenadine
	Desloratadine
H2-reseptör blokörleri	Ranitidin
	Simetidin
Antilipidemikler	Atorvastatin
	Lovastatin
Antiaritmetikler	Kinidin

Çizelge 2.4. (devam) P- glikoprotein substratları

Antidepresanlar	Amitriptilin Venlafaksin Paroksetin Nortriptilin
Nöroleptikler	Risperidon Aripiprozol Fenotiazin Klorpromazin
Antiepileptikler	Karbamazepin Fenobarbital Lamotrijin Felbamat
İmmunsupresifler	Siklosporin A Takrolimus Sirolimus
Kalsiyum Kanal Blokörleri	Diltiazem Verapamil
Anjiotensin-Reseptör Blokörleri	Losartan
Beta Blokörler	Seliprolol Tanilolol
Kardiyok Glikozidler	α-metil digoksin ß-metil digoksin Digoksin Digitoksin
Kanser İlaçları	Doksorubisin Etopozid Mitomisin C Paklitaksel Topotekan
Antimikotikler	Mikonazol Ketokanazol

P-glikoprotein inhibitörleri ya da modülatörlerinin olması ve de bunlara bağlı aktivitesinin değişebilir olması, substratı olan ilaçların farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerini etkilemektedir ve bu değişimler bazı ilaçlara karşı direnç geliştirmesine neden olmaktadır. Direnç gelişen ilaç tedavilerine p-glikoprotein inhibitörlerinin eklenebileceği konusundaki araştırmalar önem arz etmeye başlamıştır. Bu inhibtörler 3 gruba ayrılmıştır. Birinci grupta kullanılan ilaçlar terapötik dozda etki etmezler sadece toksik dozda p-glikoprotein inhibisyonu oluşturmaktadırlar. Bu nedenle inhibitör olarak kullanılamazlar. Bu ilaçlara örnek olarak amiadoron, bepidril, klomipramin, siklosporin, kinin, kinidin vb. verilebilir.

İkinci kuşakta yer alan ilaçlar ilk kuşak değiştiricilere kıyasla daha etkin ve daha az toksik olan bileşikler olup; bu ilaçlara örnek olarak deksverapamil, gallopamil, Ro-11293, siklosporin A analoğu olan valspodar (PSC 833) verilebilir. Üçüncü kuşak olan inhibitörler ise çok düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olabilen, P-glikoproteinlere afiniteleri yüksek, farmakodinamik aktiviteden yoksun olan bileşiklerdir ve örnek olarak diketopiperazin (XR9051), akridinkarboksamid (GF120918), lopropildibenzosüberin (LY335979) verilebilir ve üçüncü kuşaktaki ilaçlar geliştirilme aşamasındadır (54).

P-glikoprotein indüktörlerinden en çok bilinenler rifampisin ve sarı kantaron (St. Johns Wort) olup, intestinal ve hepatik P-glikoproteini indükleyerek bu meknizma ile taşınan ilaçların farmokokinetiğini etkileyebilmektedirler. Sağlıklı gönüllülere yapılan bir çalışmada rifampisin uygulandıktan sonra sarı kantaron uygulaması yapılmış ve P-glikoprotein ekspresyonunun 1,4 kat arttığı tespit edilmiştir [66]. P-glikoprotein indüktörlerine başka örnekler olarak sisplatin, insülin, deksametazon, retinoik asit, klorambusil, morfin, verapamil, vinkristin sayılabilir.

2.6.5. P-glikoprotein (MDR1) poliformizmleri

MDR1 genine ait ilk genetik polimorfizm Kioka ve ark. tarafından tanımlanmıştır ve 28 ekzondan oluştuğu tespit edilmiştir [68]. MDR1 genine için tanımlanmış tek nükleotid polimorfizmi 29'dur. Bunlardan 26. ekzon'daki C3435T ve 21. ekzon'daki G2677T tek nükleotid poliformizmleri P-glikoproteinin substrat özgünlüğünü değiştirip taşıyıcı proteinin işlevinin yok olmasına sebep olabilir. [67,69]. Etnik farklılık gösteren C3435T ve G2677T tek nükleotid polimorfizmleri, P-glikoproteinin substratı olan ilaçların dağılımını, oluşturabildikleri etkileri, bazı hastalıkların görülebilme durumunu ve sıklığını, ilaç tedavisine karşı olan yanıtla birlikte hastalığın prognozunu değiştirebilir. C3435T polimorfizminin ekzon 26'sında oluşan mutasyona bağlı Avrupa kökenli gönüllülerde rifampin indüksiyonu altında digoksinin plazma düzeyi artırmıştır. Ayrıca C3435T mutasyonunun, sağlıklı Japon gönüllülerde duodenal biyopsilerde daha yüksek bir MDR1 mRNA ekspresyonu seviyesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. G2677T polimorfizmi olan Japon gönüllülerde digoksin seviyesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır [68].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Klinik İzlem

3.1.1. Araştırma tasarımı

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı ve Pamukkale Üniversitesi Acil Tıp Anabilim Dalı acil servislerinde JNC8 kılavuzuna göre Hipertansif Atak (60 yaş altı 140/90 mmHg ve üzeri tansiyon ile 60 yaş üstü 150/90 mmHg ve üzeri tansiyon ile başvuran hastalar) ile başvuran P-glikoprotein substratı olan losartan ile antihipertansif tedavisi almakta olan 50 hasta ile kontrol grubu olarak losartan tedavisi kullanmakta iken hipertansiyon dışında bir nedenle acil servise başvuran 50 gönüllü dahil edilmiştir. Çalışmaya katılma ve dışlama kriterleri Çizelge 3.1'de bulunmaktadır.

Çalışma GÜTF Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca 23.10.2017 tarih ve 496 sayı ile onaylanmıştır. Hasta ve kontrol grubu bireyleri "bilgilendirilmiş gönüllü olur formu "nu imzalamaları halinde çalışmaya kabul edilmişlerdir.

3.1.2. Kontrol ve hasta grubu

Çizelge 3.1. Çalışma katılma-dışlama kriterleri

KATILMA (İÇLEME) KRİTERLERİ
1. Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar
2. 18 yaş ve üzeri hastalar
3. En az altı hafta ve günde en az 25 mg losartan tedavisi almakta olan HT hastaları
4. Hasta grubu: JNC8 kılavuzuna göre "Hipertansif Atak" tanısı alan hastalar (60 yaş altında olup 140/90 mmHg ve üzeri tansiyon; 60 yaş üstünde olup 150/90 mmHg ve üzeri tansiyon ile başvuran hastalar)
5. Kontrol grubu: Hipertansif atak dışında bir şikayetle acil servise başvuran hastalar
DIŞLAMA KRİTERLERİ
1. Çalışmaya katılmayı kabul etmeyen hastalar
2. 18 yaşından küçük hastalar
3. Gebe ve laktasyon döneminde kadın hastalar
4. Hemodinamik olarak stabil olmayan hastalar (ortalama arteryel basınç <65mmHg)
5. Böbrek transplantasyonu olmuş hastalar
6. Karaciğer yetmezliği (CHİLD PUGH sınıf C ve üzeri hastalar) veya böbrek yetmezliği (GFR<60) olan hastalar
7. Losartan dışında başka antihipertansif ajan kullanmakta olan hastalar

3.2. Terapötik İlaç Monitorizasyonu (TİM)

Hastalardan bir kez 20 ml periferik venöz kan alındı. Alınan kanın 10ml'lik kısmı Etildiamintetraasetikasit (EDTA)'li tüpe aktarıldı ve -20 derecede DNA izolasyonu yapılancaya kadar saklandı. 10ml'lik kan ise santrifüj edilerek elde edilen plazma eppendorflara aktarıldı ve -20 derecede TİM yapılana kadar saklandı.

3.2.1. Plazmada losartan ve exp3174 düzeylerinin tandem mass yöntemi ile tayini:

Hastalardan bir kez 10 ml periferik venöz kan EDTA'lı tüpe alındı. 3500 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Elde edilen plazmalar eppendorflara aktarıldı ve yeterli hasta sağlanıncaya ve terapötik ilaç izlemi yapılıncaya kadar -20 derecede saklandı. Kalibrasyon eğrisi hazırlamak için losartan stok solüsyonundan 10 µg/mL'lik ve 100 µg/mL'lik örnekler hazırlandı. Kalibrasyon eğrisi noktaları oluştumak için 5, 10, 50, 100, 500, 1000 ng/mL konsatrasyonlarda losartan plazma solüsyonu hazırlandı. Kalite kontrol noktaları oluşturmak için 5, 25, 75, 250, 750, 1000 ng/mL konsatrasyonlarda losartan plazma solüsyonları hazırlandı. Donmuş plazma numuneleri eritilip oda sıcaklığına getirildi. 200 µL Plazma polipropilen tüpe alındı. 200 µL Asetonitril ilave edilerek 15 saniye 3000 rpm'de vortekslendi. 100 µL İç Standart (40 µg/mL Repaglinide) ilave edilerek, 25 saniye 2500 rpm'de vortekslendi. 1000 µL Asetonitril ilave edilerek 45 saniye 3000 rpm'de vortekslendi. 4500 rpm, 10 dakika, 15 °C'de santrifüjlendi. 1000 µL Supernatant 0.45 µm PTFE şırınga filtresinden süzüldü. Elde edilen numune tandem mass cihazından geçirilerek losartan ve EXP3174 konsantrasyonlarının ölçümü yapıldı.

Analiz Sistemi:

Agilent Technologies Triple Quadrupole 6460 LC-MSMS Cihazı (Kalifikasyon Geçerlilik Tarihi 17.02.2022)

LC-MSMS Parametreleri:

Enjeksiyon Hacmi: 5 µL
Akış Hızı: 0.6mL/min
Kromatografik Kolon: (4.6 x 100mm, 2.7µm) C18 Poroshell
Kolon Sıcaklığı: 35 °C
İç standart olarak Repaglinide kulanılmıştır.

Losartan:

Losartan Ana İyon: 423.3
Losartan Parçalanma Ürünü: 207.1
m/z: 423.3 207.1
Dwell Time: 50
Fragmentor Voltage: 130 V
Collision Energy: 23 V
Cell Accelerator Voltage: 7 V
Polarity: Positive

EXP 3174 Metabolit:

EXP 3174 Ana İyon: 437,3
EXP 3174 Parçalanma Ürünü: 235,1
m/z: 437.3 235.1
Dwell Time: 50
Fragmentor Voltage: 117 V
Collision Energy: 12 V
Cell Accelerator Voltage: 7 V
Polarity: Positive

İç Standart Repaglinide:

Repaglinide Ana İyon: 453,4
Repaglinide Parçalanma Ürünü: 162,3
m/z: 453.4 162.3
Dwell Time: 50
Fragmentor Voltage: 120 V
Collision Energy: 15 V
Cell Accelerator Voltage: 7 V
Polarity: Positive

Ortak kaynak parametreleri:

Gas Temperature: 300 °C
Gas Flow: 12 L/min

Nebulizer: 45 psi
Sheath Gas Temperature: 300 °C
Sheath Gas Flow: 11 L/min
Capillary Voltage: 4500 V
Nozzle Voltage: 1000 V
Mobil faz: (85:15) (LC-MS Grade Asetonitril : 50mM Amonyum Asetat) (Her iki kimyasal da Merck Marka)
Kullanılan Saf Su: Merck Millipore Integral 3 Ultra Saf Su Cihazından Alınmıştır.

3.2.2. Cihazlar

-Santrifüj (Hettich, Westphalia, Almanya)
-Thermal cycler PCR System 9700 (GeneAmP, Massachusetts, ABD)
-Mikrofüj Combi-Spin (Boeco, Hamburg, Almanya)
-Elektroforez tankı (Apollo, New York, ABD)
-Güç kaynağı (Labnet, New Jersey, ABD)
-Ultraviyole transluminatör (Syngene, Cambridge, İngiltere)
-Sıcak su banyosu (Memmert, Schwabach, Almanya)
-Hassas terazi (Schimadzu, Kyoto, Japonya)
-Vorteks (Fine-PCR, Gyeonggi-do, Kore)
-Etüv (Sanyo, Osaka, Japonya)
-Mikro pipetler (Labnet, New Jersey, ABD)

3.2.3. Kimyasallar

-Primer sentezleri (Fermantas, Massachusetts, ABD)
-PCR tamponu (Fermantas, Massachusetts, ABD)
-dNTP karışımı (Fermantas, Massachusetts, ABD)
-Taq DNA polimeraz (Fermantas, Massachusetts, ABD)
-Tris (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
-NaCl (Koçak Farma, İstanbul, Türkiye)
-EDTA (Etildiamintetraasetikasit) (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
-Proteinaz K (Fermantas, Massachusetts, ABD)
-SDS (Sodyum dodesil sülfat) (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
-Agaroz (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)

- Borik asit (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
- $MgCl_2$ (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
- Gliserol (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
- Orange G (Sigma-aldrich, Massachusetts, ABD)
- Moleküler ağırlık belirteci PBR322/Haelll (Bioron, Rhein, Almanya)

3.3. Genotipleme Çalışması

3.3.1. Spin kolon metoduyla çevresel kandan genomik DNA izolasyonu

Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)'li tüplerde -20ºC'de muhafaza edilen 10 ml periferik (çevresel) venöz kan örnekleri oda sıcaklığına ısıtıldı.

QIAamp DNA Blood Mini Kiti (QIAGEN, Düsseldorf, Almanya) ile üretici firma önerileri doğrultusunda izolasyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

1. 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 20 µl QIAGEN Proteaz (Proteinaz K) solüsyonu konuldu.
2. Üzerine 200 µl kan örneği eklendi.
3. 200 µl buffer AL ilave edilerek mikrosantrifüj tüpünün kapağı kapatıldı ve maksimum hızda 15 sn vortekslendi ve önceden hazırlanan ısı bloğunda 56ºC'de 10 dk inkübe edildi.
4. Mikrosantrifüj tüpü 3-4 sn santrifüj edildi.
5. Üzerine 200 µl etanol (%96-100) eklendi ve maksimum hızda 15 sn vortekslendikten sonra 3-4 sn santrifüj edilerek karışımın tüpün altında toplanması sağlandı.
6. Karışım, 2 ml toplayıcı tüp içerisine yerleşik spin kolona (QIAamp Mini Spin Column, Qiagen, Düsseldorf, ALMANYA) aktarıldı. Spin kolon 8000 rpm'de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edilerek hücresel artıkların pellet oluşturması sağlandı. Bu kısım atıldıktan sonra spin kolon, 2 ml toplayıcı tüpe yerleştirildi.
7. Spin kolonların üzerine 500 µl buffer AW1 eklendi ve 8000 rpm'de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplayıcı tüp altındaki sıvı atıldı ve spin kolon 2 ml'lik yeni bir toplayıcı tüpe yerleştirildi.
8. Spin kolonların üzerine 500 µl buffer AW2 eklendi. 14000 rpm'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplayıcı tüp altındaki sıvı atıldı ve spin kolon yeni bir

2 ml'lik toplayıcı tüpe yerleştirildi ve 14000 rpm'de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi.

9. Toplayıcı tüpteki sıvı atılarak spin kolon temiz 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve üzerine 200 µl buffer AE eklendi. Oda sıcaklığında 1 dk bekletildikten sonra 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilerek genomik DNA elde edildi.

3.3.2. Genomik DNA konsantrasyonunun belirlenmesi

Örneklerdeki genomik DNA konsantrasyonunu belirlemek için Qubit® dsDNA HS Assay Kiti (Life Technologies, Massachusetts, ABD) kullanıldı ve sonuçlar Qubit 2.0 Fluorometer (İnvitrogen, ABD) cihazı ile ölçüldü.

Qubit® dsDNA HS Assay Kiti floresan ölçümüne dayanarak DNA konsantrasyonunu doğru ve kolay şekilde belirleyen bir sistemdir. Test 10 pg/µL ile 100 ng/µL arasındaki konsantrasyonları yüksek doğrulukla ölçtüğü bilinmektedir [70].

1. 0,5 ml ince duvarlı Qubit® assay tüpleri (Life Technologies) standartlar (2 standart) ve her bir örnek için bir tane olacak şekilde hazırlandı.
2. Her standart ve örnek için ayrı 200 µl çalışma solüsyonu Qubit® dsDNA HS Reagent 1/200 oranında Qubit® dsDNA HS Buffer'da seyreltilerek (1 örnek için 1 µl Qubit® dsDNA HS Reagent; 199 µl Qubit® dsDNA HS Buffer) plastik bir tüpe hazırlandı.
3. Her standart ve örnek için Qubit® assay tüpün son hacmi 200 µl olacak şekilde (190 µl çalışma solüsyonu, 10 µl Qubit dsDNA HS Standart 1; 190 µl çalışma solüsyonu, 10 µl Qubit dsDNA HS Standart 2; 199 µl çalışma solüsyonu, 1 µl örnek) hazırlandı.
4. Tüm tüpler 2-3 sn vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildi.
5. Standart 1 ve 2 sırayla Qubit 2.0 Fluorometer cihazına yerleştirildi. Her biri için okuma tamamlanınca (yaklaşık 3 saniye) cihaz iki standart arasındaki ilişkiye dayalı bir konsantrasyon verisi oluşturdu.
6. Örneklere ait tüpler sırayla Qubit 2.0 Fluorometer cihazında numune haznesine yerleştirildi. "Curve-fitting" algoritmasına göre örneklerin konsantrasyonu belirlendi.

3.3.3. Rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 tek nükleotid polimorfizmlerinin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi

Tek nükleotid polimorfizmlerinin (TNP) belirlenmesi için TagMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Massachusetts, ABD) Real Time PCR kiti kullanıldı. Çalışma yapılıncaya kadar Real Time PCR Kitinin TagMan 2X Universal PCR Master Mix bileşeni +4ºC'de; diğer bileşenlerin tümü -20ºC'de bekletilmeye alındı.

3.3.4. Metodun esasları

TagMan SNP Genotyping Assay Real Time PCR Kiti çeşitli floresan boyalar yardımıyla TNP'leri saptamaya olanak sağlamaktadır. Bu yöntemde, PCR'ın aşamalarından biri olan uzatma (extension) sırasında çift işaretli bir floresan probunu parçalamak için Taq Polimeraz'ın 5'-ekzonükleaz aktivitesinden yararlanılır. Çoğaltılmak istenilen DNA bölgesinin komplementeri olan, normal ve mutant allele uyum gösteren ve floresanla işaretlenmiş iki farklı TagMan probu kullanılır. Floresan işaretli probun 5'- ucunda "reporter (raportör) boya" (Mutant allel için VIC; Normal allel için FAM) ve 3'- ucunda "quencher (baskılayıcı) boya" (TAMRA) bağlıdır. 3'- uçtaki baskılayıcı TAMRA boyası, 5'- uçtaki FAM/VIC boyasının sinyal oluşturmasını engellemektedir.

Amplifikasyon sırasında her bir prob TNP'nin iki allelinden birine bağlanır. PCR'ın primer uzatma (extension) aşamasında probun bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3 ekzonükleaz aktivitesi ile FAM/VIC boyasını probdan ayırmakta ve bu sırada reporter, quencher'ın baskılayıcı etkisinden kurtulduğu için floresan sinyal açığa çıkmaktadır. Hedef bölgede hibridize olan probların amplifikasyonu arttıkça ışıma doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş zamanlı olarak hassas bir biçimde tespit edilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre mutant ya da normal allel, heterozigot ya da homozigot bulunmasına bağlı olarak yorumlanmakta, hasta ve kontrol grubunun genotipleri ve allelik dağılımları belirlenmektedir.

Rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 polimorfizmlerinin belirlenmesi: TaqMan SNP genotip belirleme sistemi (TaqMan SNP Genotyping Assay) (Applied Biosystems, USA) kullanılarak üretici firmanın belirlediği protokoller doğrultusunda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time Polimerase Chain Reaction, RT-PCR) yapıldı. *MDR1* genindeki rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 TNP'lerinin allel ve genotip

bilgileri ile primer dizileri (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/) Çizelge 3.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 TNP'lerinin erişim numarası (SNP ID), primer dizileri, kromozom 7 üzerindeki konumu, allel ve genotipleri

TNP	Dizi	Pozisyonu	Genotipler	Alleler
rs2032582 (G2677T/A)	F: 5′-TGCAGGCTATAGGTTCCA-3′ R: 5′-TTTAGTTTGACTCACCTTCCCG-3′ 5′-TGCAGGCTATAGGTTCCAGG- 3′ 5′-GTTTGACTCACCTTCCCAG- 3′	chr7:87531302	GG/GT/TT/GA/TA/ AA	G/T/A
rs1045642 (C3435T)	F: 5′-TGTTTTCAGCTGCTTGATGG-3′ R: 5′-AAGGCATGTATGTTGGCC TC-3′	chr7:87509329	CC/CT/TT	C/T
rs1128503 (C1236T)	F: 5′-TGGACTGTTGTGCTCTTCCC-3' R: 5′-TGTCACTTTATCCAGCTCTCCA- 3′	chr7:87550285	CC/CT/TT	C/T

HotStar Taq DNA Polimeraz enzimi "thermus aquaticus'' isimli yüksek ısıya dayanıklı bir bakteriden elde edilen enzim olup, 94 kDa'luk rekombinant DNA polimerazın modifiye edilmiş bir formudur. Bu enzimin 95ºC'de 15 dakika süresince yapılan inkübasyon sonucunda aktif forma dönüşme özelliği ile işlem sırasında çıkabilecek sorunların önüne geçilmektedir [71].

Optimizasyon işlemlerinde sadece DNA miktarı üzerinde değişimlerle optimal DNA miktarı belirlendi. Standart termal döngü kullanıldı.

3.3.5. Protokol

Tüm kit bileşenleri kullanılmadan önce oda ısısına getirildi. Çalışılacak örnek sayısı kadar 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpünde hazırlanan karışım homojenize edildikten sonra her bir reaksiyon için 9,25 µl olacak şekilde 96 kuyucuğa dağıtıldı. Son olarak örnek DNA'ları her bir kuyuya numara sırasıyla pipetaj yapılarak eklendi. Negatif kontrol için DNA örneği yerine "nükleaz free su" kullanıldı. Kontaminasyonu önlemek için üzerleri özel mikroplak kapatıcısı ile sıkıca kapatılarak The Applied Biosystems® StepOnePlusTM (Applied Biosystems, ABD) Real Time PCR Sistem cihazına yerleştirildi. Her bir örnek için hazırlanan PCR karışımının bileşeni Çizelge 3.3 'te bulunmaktadır.

Çizelge 3.3. RT-PCR Reaksiyonu bileşenleri

Reaksiyon karışımı	Kullanılan Miktar (µl)*
Primer/Probe Mix	0.5 µl
TagMan 2X Universal PCR Master Mix	5 µl
Nükleaz free su	3.75 µl
Örnek DNA	0.75 µl
Toplam Hacim	10 µl

***** Değerler yalnızca bir örnek için verilmiştir.

Hazırlanan örnekler rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 analizleri "The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, ABD) Real Time PCR Sistem" cihazı ile gerçekleştirildi. Sistemin doğru çalışabilmesi için öncelikle çalışmaya 'ad' verildi ve 'genotipleme' işlemi işaretlendi. TagMan Reaktifleri ile Standart hızda (~ 2 saat) bir çalışma olacağı bilgileri kontrol edilerek çalışmanın düzgün bir şekilde ilerleyeceğinden emin olundu. Çalışılacak olan TNP'lerinin 'rs'numarası ve allel bilgileri kayıt altına alındı. Kullanılacak filtre çiftleri olan VIC ve FAM seçildi. Örnekler ve negatif kontrol kuyucuklarının tanımlanması yapıldı ve her bir kuyucuktaki reaksiyon volümü bilgileri kayıt altına alındı. Standart döngü bilgileri tekrar kontrol edildikten sonra 96 kuyucuktan oluşan mikropleyt cihaza yerleştirilerek reaksiyonun başlaması sağlandı. Kullanılan PCR koşulları Çizelge 3.4 'de bulunmaktadır. Sonuçların analizi; SDS software version 2.3 (ABI/Life Technologies) ile yapıldı. Allel farklılık grafikleri, GraphPad Prism version 5.0'da oluşturuldu.

Çizelge 3.4. RT-PCR Döngüleri

Basamaklar		Hedef Isı	Süre	Döngü
PrePCR plak okuma		60^0C	30 sn	
Polimeraz enzim aktivasyonu		95^0C	10 dk	Bekleme
PCR	Denatürasyon	95^0C	15 sn	40
	Bağlanma/Uzatma	60^0C	1 dk	40
PostPCR plak okuma		60.0 ^{0}C	30 sn	

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda edinilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirmesi SPSS software version 22 istatistik programı kullanılarak elde edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu analitik ve görsel metodlarla (Shapiro-Wilk testleri, Kolmogorov-Smirnow,) degerlendirildi. Normal dağılım gösteren veriler için tanımlayıcı analizler, ortalama ve standart sapmalar kullanılarak verildi. Kategorilendirilmiş grup verilerinde ki-kare testinin varvasyonları kullanıldı. Normal dağılıma uyan verilerde Bağımsız (İndependent) t testi, uymayan verilerde Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testleri yapıldı. Hasta ve kontrol grubunun plazma konsantrasyonları ve tek nükleotit polimorfizmleri iki yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) ile değerlendirildi. p değeri $\leq$ 0,05'in olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma gruplarında *MDR1* geninin farklı polimorfizmleri, hastaların klinik belirtileri, plazma losartan düzeyi ve metabolit düzeyi karşılaştırıldı. Çalışma grubunun demografik özellikleri, losartan tedavi dozu ve süresini gösteren veriler Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Çalışma grubunun demografik ve temel özellikleri

Değişkenler	
Yaş (Ort±SS)	67,2±11,5
Cinsiyet, n (%) Erkek Kadın	 46 (%46,0) 54 (%54,0)
İlaç mg, n (%) 50 mg 100 mg	 71 (%71,0) 29 (%29,0)
Losartan Kullanım Süresi Ortalama±SS (yıl)	 7,09±4,9

Çalışmaya dahil edilen bireylerin (67±11,5 ortalama yaş) 54'ü (%54) kadın, 46'sı (%46) erkekti. Bu bireylerin %71'i 50 mg losartan kullanırken, %29'u 100 mg losartan kullanmaktaydı ve ortalama losartan tedavisi alma süresi 7,09±4,9 yıldı (Çizelge 4.1). Kontrol ve hasta grubunun demografik özellikleri, losartan kullanım süreleri ve sıfırıncı dakikadaki sistolik ve diyastolik arteriyel tansiyon ölçüm değerleri Çizelge 4.2 'de verilmektedir.

Çizelge 4.2**.** Kontrol ve hasta grubunun demografik ve temel özellikleri

Değişkenler		**Hasta grubu**	**Kontrol grubu**	**p**
Cinsiyet, n (%) Erkek Kadın		 18 (36,0) 32 (64,0)	 28 (56,0) 22 (44,0)	0,071[a]
Yaş (Yıl) Ort±SS Aralık		 66,18±13,3 37-89	 68,26±9,5 47-89	0,373[b]
Losartan dozu (mg), n (%) 50 mg 100 mg		 38 (76,0) 12(24,0)	 33 (66,0) 17 (34,0)	0,378[a]
0. Dakika Sistolik Tansiyon (mmHg)	**Ort**±SS	188,8±19,3	119,5±15,5	**<0,001[c]**
0.Dakika Diastolik Tansiyon (mmHg)	**Ort**±SS	101,36±13,42	74,46±11,01	**<0,001[b]**
	Ortanca	100,50	76	
	25. ve 75. Çeyrekler (Çeyreklerarası Fark)	94-110 16	64-84,25 20,25	

p [a] Yates Ki-Kare (Continuity Correction) testinden elde edildi.
p [b] Mann Whitney U testinden elde edildi.
p [c] Bağımsız Gruplarda T (Independent Samples t-Test) testinden elde edildi.

Çalışmaya dahil edilen kontrol ve hasta grupları arasında cinsiyet ve yaş dağılımları bakımından anlamlı fark bulunmadı *(p>0,05).* Kontrol grubundaki gönüllülerin 33 (%66)'ü 50 mg losartan kullanırken, 17 (%34)'si 100 mg losartan kullanmaktaydı. Hasta grubunun 38 (%76)'i 50 mg losartan kullanırken, 12 (%24)'si 100 mg losartan kullanmaktaydı. Kullanılan günlük losartan tedavi dozuna göre (50 mg ve 100 mg) kontrol ve hasta grupları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktaydı *(p>0,05).* Ancak hastaneye başvurularındaki (sıfırıncı dakika) sistolik tansiyon ortalamaları açısından hasta grubu (192±19,38 mmHg) ve kontrol grubu (119,5±15,51 mmHg) arasında istatistiksel olarak fark tespit edildi *(p<0,001).* Hastaneye başvuru sırasında (sıfırıncı saatte) ölçülen ortalama diyastolik tansiyonlarında, hasta grubu (101,36±13,42 mmHg) ve kontrol grubu (74,46±11,01 mmHg) arasında anlamlı fark saptandı *(p<0,001)* **(**Çizelge 4.2). Kontrol ve hasta gruplarında hipertansiyon ile ilişkili komplikasyonların varlığı Çizelge 4.3 'de bulunmaktadır.

Çizelge 4.3. Kontrol ve hasta gruplarında hipertansiyonla ilişkili komplikasyonların varlığı

Değişkenler	**Total (n)**		
Sol ventrikül hipertrofisi Nefropati SVH Retinopati	11 (%11,0) 3 (%3,0) 2 (%2,0) 1 (%1,0)		
	Hasta	**Kontrol**	**p**
Sol ventrikül hipertrofisi	11 (%22,0)	0	**0,001[d]**
Nefropati	3 (%6,0)	0	0,242[d]
SVH	2 (%4,0)	0	0,495[d]
Retinopati	1 (%2,0)	0	1,000 [d]

p [d] Fisher Kesin Ki-Kare testinden elde edildi. SVH: Serevrovasküler Hastalık.

Hipertansiyon ile ilişkili komplikasyonlar açısından incelendiğinde en sık sol ventrikül hipertrofisi (n=11) görülürken, 3 kişide nefropati, 2 kişide serebrovasküler hastalık (SVH), 1 kişide ise retinopati mevcuttu. Bir kişide SVH ve sol ventrikül hipertrofisi birlikte bulunmaktaydı. Hipertansiyon ile ilişkili komplikasyonların hipertansif atak geçiren hastalarda görüldüğü dikkat çekerken, sol ventrikül hipertrofisi varlığında kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) (Çizelge 4.3).

Çalışmaya dahil olan hasta ve kontrol gruplarının rs2032582 (G2677T/A) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımları Çizelge 4.4'te verilmektedir.

Çizelge 4.4. Kontrol ve hasta gruplarında rs2032582 (G2677T/A) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımı

Genotip	**Hasta n (%)**	**Kontrol n (%)**	**p**
GG	13 (26,0)	17 (34,0)	0,513[a]
TT	13 (26,0)	8 (16,0)	0,326[a]
TA	0 (0,0)	2 (4,0)	0,495[d]
GT	21 (42,0)	22 (44,0)	1,000[a]
GA	3 (6,0)	1 (2,0)	0,617[d]
AA	0 (0,0)	0 (0,0)	
Alleller			
G	50 (50,0)	57 (57,0)	0,321[e]
T	47 (47,0)	40 (40,0)	0,318[e]
A	3 (3,0)	3 (3,0)	1,000[d]

p[a] Yates Ki-Kare(Continuity Correction) testinden elde edildi.
p [d] Fisher Kesin Ki-Kare testinden elde edildi.
p [e] Pearson Ki-Kare testinden elde edildi.

Rs2032582 TNP'nde GG, GT, GA, TA ve TT genotip sıklıklarında kontrol ve hasta grupları arasında istatistiksel fark saptanmadı *(p>0,05)*. Hasta grubunda G, T ve A allellerinin frekansları sırasıyla, %50, %47 ve %3; kontrol grubunda ise %57, %40 ve %3 olarak belirlendi. Allel frekansları açısından istatiksel fark bulunmadı (*p>0,05*) (Çizelge 4.4).

Hasta ve kontrol gruplarında rs1045642 (C3435T) polimorfizminin genotip ve allel frekansları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Kontrol ve hasta gruplarında rs1045642 (C3435T) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımı

Genotip	**Hasta n (%)**	**Kontrol n (%)**	**p**
CC	17 (34,0)	17 (34,0)	1,000[a]
CT	18 (36,0)	28 (56,0)	0,071[a]
TT	15 (30,0)	5 (10,0)	**0,024[a]**
Alleller			
C	52 (52,0)	62 (62,0)	0,153[e]
T	48 (48,0)	38 (38,0)	

p[a] Yates Ki-Kare(Continuity Correction) testinden elde edildi.
p[e] Pearson Ki-Kare testinden elde edildi.

Hasta grubunda C ve T allel görülme oranı sırasıyla %52 ve %48 iken, kontrol grubunda %62 ve %38 olarak belirlendi. Allelik dağılımı bakımından istatistiksel anlamlı fark yoktu (*p>0,05*) TT grupları açısından hasta ve kontrol grupları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi.(*p<0,05*) (Çizelge 4.5).Hasta ve kontrol gruplarında rs1128503 (C1236T) polimorfizminin genotip ve allel frekansları Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Hasta ve kontrol gruplarında rs1128503 (C1236T) polimorfizminin genotipik ve allelik dağılımı

Genotip	**Hasta n (%)**	**Kontrol n (%)**	**p**
CC	14 (28,0)	10 (20,0)	0,482[a]
CT	23 (46,0)	34 (68,0)	**0,043[a]**
TT	13 (26,0)	6 (12,0)	0,126[a]
Alleller			
C	51 (51,0)	54 (51,0)	0,671[e]
T	49 (49,0)	46 (46,0)	

p [a] Yates Ki-Kare(Continuity Correction) testinden elde edildi.
p [e] Pearson Ki-Kare testinden elde edildi.

Kontrol ve hasta grupları arasında rs1128503 CT genotipi açısından istatistiksel fark mevcuttu (*p<0,05*). Hasta grubunda C ve T allel görülme oranı sırasıyla %51 ve %49, kontrol grubunda %54 ve %46 olup, istatistiksel fark yoktu (*p>0,05*) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7. Gruplar arasında rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki (Yabanıl tip referans alınarak)

	Hasta N=50 (%)	**Kontrol N=50 (%)**	**OR**	**CI (%95)**	**p**
rs2032582					
Genotip					
GG	13 (26,0)	17 (34,0)	1	Referans	
GT	21(42,0)	22 (44,0)	1,248	0,489-3,188	0,643[f]
TT	13 (26,0)	8 (16,0)	2,125	0,680-6,637	0,195[f]
GA	3 (6,0)	1 (2,0)	3,923	0,365-42,202	0,259[f]
TA	0 (0,0)	2 (4,0)	-	-	-
AA	0 (0,0)	0 (0,0)	-	-	-
Allel					
G	50 (50,0)	57 (57,0)	1	Referans	
T	47 (47,0)	40 (40,0)	1,339	0,759-2,363	0,313[f]
A	3 (3,0)	3 (3,0)	1,140	0,220-5,905	0,876[f]
rs1045642					
Genotip					
CC	17 (34,0)	17 (34,0)	1	Referans	
CT	18 (36,0)	28 (56,0)	0,643	0,262-1,575	0,334[f]
TT	15 (30,0)	5 (10,0)	3	0,890-10,111	0,076[f]
Allel					
C	52 (52,0)	62 (62,0)	1	Referans	
T	48 (48,0)	38 (38,0)	1,506	0,858-2,645	0,154[f]
rs1128503					
Genotip					
CC	14 (28,0)	10 (20,0)	1	Referans	
CT	23 (46,0)	34 (68,0)	0,483	0,183-1,273	0,141[f]
TT	13 (26,0)	6 (12,0)	1,548	0,438-5,470	0,498[f]
Allel					
C	51 (51,0)	54 (54,0)	1	Referans	
T	49 (49,0)	46 (46,0)	1,128	0,647-1,965	0,671[f]

p [f] Binary lojistik regresyon analizinden elde edildi.

Gruplar arasında rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları açısından, normal allel (wild type) referans alınarak (Binary lojistik regresyon analizi ile) bakıldığında istatiksel fark yoktu (*p>0,05*) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8. Tüm gönüllü grubu, sıfırıncı dakika sistolik ve diyastolik tansiyon değerlerinin rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi

	0. Dakika* Sistolik Tansiyonlar (Ortalama±SS)	**p**	**0. Dakika* Diyastolik Tansiyonlar (Ortalama±SS)**	**p**
rs2032582				
Genotip				
GG	149,3±39,53	0,374 [g]	86,60±18,35	0,871 [g]
GT	150,14±42,68		87,41±19,34	
TT	164,80±36,84		89,14±16,12	
GA	164±34,94		98,5±22,93	
TA	123,5±13,43		84,566	
AA	-		-	
rs1045642				
Genotip				
CC	152,08±35,02	**0,015[g]**	89,79±18,10	0,121[h]
CT	144,46±43,70		84,10±18,77	
TT	173,90±32,65		93,45±15,86	
rs1128503				
Genotip				
CC	158,83±38,59	**0,014[g]**	91,83±20,84	0,178[h]
CT	144,52±41,30		84,96±17,92	
TT	170,73±31,73		91,79±14,39	

p [g] Kruskal-Wallis testinden elde edilmiştir.

p [h] Tek yönlü varyans analizi(ANOVA) elde edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin acil servise başvuruları sırasında elde edilen ilk arteriyel tansiyon ölçümleri sıfırıncı dakika olarak kabul edilmiştir. Sıfırıncı dakika tansiyon değerleri *MDR1* genotipleri ile karşılaştırıldığında, rs1045642 TT ve rs1128503 TT genotiplerinde konrol ve hasta grupları arasında istatistiksel farklılık saptanmıştır.($p<0,05$). Çalışma gruplarında sıfırıncı dakika sistolik ve diyastolik tansiyon değerlerinin rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi Çizelge 4.8'de bulunmaktadır.

Çizelge 4.9. Kontrol ve hasta grubunun ortalama plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri

	n	**Plazma Losartan Konsantrasyonu (ng/ml)**	**p**	**Plazma EXP3174 Konsantrasyonu (ng/ml)**	**p**
Hasta *(Ortanca)*	50	114,25	0,912 [b]	16,95	0,130 [b]
Kontrol *(Ortanca)*	50	113,61		19,87	

p [b] Mann-Whitney U testinden elde edilmiştir.

Hasta ve kontrol grubunun plazma losartan ve EXP3174 konsantrasyonları Çizelge 4.9 ’da verilmiştir. Gruplar arasında plazma ortalama losartan düzeyi ve onun metaboliti olan EXP3174 düzeyi açısından istatistiksel fark bulunmamıştır (*p>0,05*) (Çizelge 4.9)

Çizelge 4.10. Kontrol ve hasta gruplarında plazma losartan konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi

rs2032582	**Genotip**					
	GG	TT	TA	GT	GA	p
Kontrol (n)	17	8	2	22	1	0,320[g]
Plazma Losartan konsantrasyonu (Ortanca)	112,44	192,14	113,09	111,88	521,35	
Hasta (n)	13	13	0	21	3	
Plazma Losartan konsantrasyonu (Ortanca)	271,53	41,01	-	123,94	23,44	0,277[g]
rs1045642	**Genotip**					
	CC	TT	CT			p
Kontrol (n)	17	5	28			
Plazma Losartan konsantrasyonu (Ortanca)	59,11	63,66	15,15			0,102 [g]
Hasta (n)	17	13	17			
Plazma Losartan konsantrasyonu (Ortanca)	47,59	22,01	14,15			0,513 [g]
rs1128503	**Genotip**					
	CC	TT	CT			p
Kontrol (n)	10	34	6			
Plazma Losartan konsantrasyonu (Ortanca)	114,03	112,29	192,14			0,806 [g]
Hasta (n)	14	23	13			
Plazma Losartan konsantrasyonu (Ortanca)	203,95	57,21	41,03			0,735 [g]

p [g] Kruskal-Wallis analizinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.11. Kontrol ve hasta gruplarında plazma EXP3174 konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi

rs2032582	**Genotip**					
	GG	TT	TA	GT	GA	p
Kontrol (n)	17	8	2	22	1	0,266[g]
Plazma EXP3174 konsantrasyonu (Ortanca)	18,28	59,68	28,45	203,95	604,65	
Hasta (n)	12	11	0	21	3	
Plazma EXP3174 konsantrasyonu (Ortanca)	16,93	22,02	-	17,23	2,33	0,647[g]
rs1045642	**Genotip**					
	CC	TT	CT			p
Kontrol (n)	17	5	28			
Plazma EXP3174 konsantrasyonu (Ortanca)	59,11	63,66	15,15			0,102 [g]
Hasta (n)	17	13	17			
Plazma EXP3174 konsantrasyonu (Ortanca)	47,59	22,01	14,15			0,513 [g]
rs1128503	**Genotip**					
	CC	TT	CT			p
Kontrol (n)	10	34	6			0,343 [g]
Plazma EXP3174 konsantrasyonu (Ortanca)	18,78	19,54	64,48			
Hasta (n)	13	23	11			0,538 [g]
Plazma EXP3174 konsantrasyonu (Ortanca)	16,95	15,75	28,94			

p [g] Kruskal-Wallis analizinden elde edilmiştir.

Hasta ve kontrol grubunda belirlenen *MDR1* polimorfizmlerinin ortalama plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri ile ilişkisi Çizelge 4.10 ve 4.11'de gösterilmiştir. Plazma losartan

ve EXP3174 konsantrasyonları rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri açısından istatiksel fark göstermemiştir (p>0,05*)* (Çizelge 4.10-4.11).

Çizelge 4.12. Plazma losartan konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi

Genotip	**n**	**Plazma Losartan Düzeyi (Ortanca)**	**p**
rs2032582			
GG	30	144,97	0,837 [g]
TT	21	110,73	
TA	2	113,09	
GT	43	112,43	
GA	4	64	
rs1045642			
CC	34	214,43	0,278 [g]
TT	20	215,70	
CT	46	110,54	
rs1128503			
CC	24	163,95	0,779 [g]
TT	19	153,93	
CT	57	112,16	

p [g] Kruskal-Wallis analizinden elde edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin *MDR1* genotiplerine göre plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri Çizelge 4.12 ve 4.13'te verilmiştir. Plazma losartan düzeyi rs2033582 genotipleri açısından karşılaştırıldığında GA genotipinde losartan düzeyinin diğer genotiplere göre yaklaşık 2 kat daha düşük olduğu görülmekle birlikte, istatiksel fark izlenmemiştir (p>0,05). Rs1045642 CT genotipinde belirlenen plazma losartan düzeyleri diğer genotiplere göre 2 kat daha düşük olmakla beraber, istatistiksel fark saptanmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.13. Plazma EXP3174 konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi

Genotip	**n**	**Plazma EXP3174 Düzeyi (Ortanca)**	**p**
rs2032582			
GG	29	17,07	0,979 [g]
TT	19	56,21	
TA	4	28,46	
GT	43	19,75	
GA	2	86,55	
rs1045642			
CC	34	54,77	0,144 [g]
TT	18	59,94	
CT	45	14,15	
rs1128503			
CC	23	18,28	0,686 [g]
TT	17	63,15	
CT	57	18,38	

p [g] Kruskal-Wallis analizinden elde edilmiştir.

Rs2033582 genotipleri plazma EXP3174 düzeylerine göre karşılaştırıldığında GA genotipinde ortanca diğer genotiplerden fazla olmakla birlikte istatistiksel fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Rs1045642 CC ve TT genotiplerinde belirlenen EXP3174 ortanca düzeyleri CT genotipine göre yaklaşık 4 kat yüksek olmakla beraber, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Aynı şekilde, rs1128503 TT genotipinde EXP3174 ortanca değeri, CC ve CT genotiplerine göre yaklaşık 3 kat daha yüksek saptandı; ancak istatistiksel fark bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.14. Plazma losartan/EXP3174 konsantrasyonlarının rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri ile ilişkisi

	n	**Plazma Losartan/EXP3174 Düzeyi**	
Genotip		**Ortanca**	**%95 Cl**
rs2032582			
GG	29	3,22	0,26-50,52
TT	19	3,75	0-47,72
TA	2	2,5	0,66-4,35
GT	43	1,94	0,05-104,10
GA	4	1,15	0,14-44,76
rs1045642			
CC	34	2,29	0,14-104,10
TT	45	1,94	0,05-65,92
CT	18	4,44	0-47,72
rs1128503			
CC	23	2,59	0,14-104,10
TT	57	1,94	0,05-65,92
CT	17	3,75	0-47,72

p [g] Kruskal-Wallis analizinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.14'de rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma losartan/EXP3174 düzeylerine göre dağılımı görülmektedir. Rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotipleri arasında plazma losartan/EXP3174 düzeyleri açısından istatiksel fark izlenmemiştir ($p>0,05$). (Çizelge 4.14).

Çalışmaya dahil edilen bireylerde hipertansif atak varlığı, plazma losartan düzeyleri ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin ortak etkisi açısından çift yönlü varyans analizi ile karşılaştırılmış olup, ilgili veriler Çizelge 4.15 ve 4.16'da sunulmuştur.

Çizelge 4.15. Hipertansif atak ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma losartan düzeyi üzerindeki ortak etkisi

	Kareler Toplamı	**Serbestlik Derecesi**	**Kareler Ortalaması**	**F**	**p**
Varyansın Kaynağı					
rs2032582					
HxR	3,37	2	1,68	1,99	0,140[1]
Hata	77,71	92	0,84		
Toplam	414,55	100			
R^2=0,073 (Düzeltilmiş R^2= 0,003					
rs1045642					
HxR	0,21	2	0,10	0,12	0,880 [1]
Hata	81,31	94	0,86		
Toplam	414,55	100			
R^2=0,030 (Düzeltilmiş R^2= -0,021					
rs1128503					
HxR	0,088	2	0,044	0,509	0,603 [1]
Hata	82,077	94	0,873		
Toplam	414,55	100			
R^2=0,021 (Düzeltilmiş R^2= -0,031					

H:Hasta olup/olmama
R:Rs2032582, Rs1045642,Rs1128503 genotipleri
p [1] İki yönlü varyans (Two- way ANOVA) analizinden elde edilmiştir(non-parametrik değerler logaritması alınarak parametrik değerlere dönüştürülmüştür)

Hipertansif atak ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma losartan düzeyi üzerine ortak etkisi gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.16. Hipertansif atak ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma EXP3174 düzeyi üzerindeki ortak etkisi

	Kareler Toplamı	**Serbestlik Derecesi**	**Kareler Ortalaması**	**F**	**p**
Varyansın Kaynağı					
rs2032582					
Genotip					
HxR	2,56	2	1,28	1,77	0,176[1]
Hata	64,43	89	0,72		
Toplam	276,65	97			
R^2=0,089 (Düzeltilmiş R^2= 0,018					
rs1045642					
Genotip					
HxR	0,26	2	0,13	0,18	0,829 [1]
Hata	65,06	91	0,71		
Toplam	276,65	97			
R^2=0,080 (Düzeltilmiş R^2= 0,030					
rs1128503					
Genotip					
HxR	0,796	2	0,398	0,543	0,583 [1]
Hata	66,66	91	0,733		
Toplam	276,65	97			
R^2=0,058 (Düzeltilmiş R^2= -0,006					

H:Hasta olup/olmama
R:Rs2032582, Rs1045642,Rs1128503 genotipleri
p [1] İki yönlü varyans (Two- way ANOVA) analizinden elde edilmiştir

Hipertansif atak ile rs2032582, rs1045642 ve rs1128503 genotiplerinin plazma EXP3174 düzeyi üzerine ortak etkisi gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.16).

5. TARTIŞMA

İlaç metabolizması için önemli proteinlerden olan ve birçok ilaca direnç fenotipinden sorumlu olduğu bilinen P-glikoprotein (P-gp), fosfoglikoprotein yapısından ATP'ye bağımlı bir integral membran proteini olup; MDR1 (Mulitdrug Resistance 1, *ABCB1*) geni tarafından kodlanmaktadır[7,8]. Bu protein esas olarak böbrek proksimal tübülünde, barsak, plasenta, santral sinir sistemi, pankreas, testis, karaciğer ve kanser hücrelerinde ifade edilmektedir. Antihipertansifler, antineoplastik, immunsupresan ve anti aritmik ajanlar gibi birçok ilaç molekülü *MDR1* substratıdır[58,61]. Oldukça polimorfizm içerdiği bilinen *MDR1* genindeki varyasyonlara bakıldığında bu ilaçların emilimini, dokulardaki dağılımını ve bu ilaçlarla tedaviye yanıtı etkileyebilmektedir. MDR1 ekspresyonunu/aktivitesini değiştirerek ilaç transport edebilme fonksiyonunu ve dolayısıyla kişinin tedaviye cevap yanıtını etkilediği bu nedenle yüksek klinik öneme sahip olduğu belirtilmektedir. *MDR1* geninde, kodlayan bölgelerden 12.ekzonda yer alan C1236T, Ekzon 21'de yer alan G2677T/A (Ala893Ser/Thr) ve ekzon 26'da yer alan C3435T polimorfizmlerinin P-gp'nin ilaç duyarlılığı ve biyokimyasal fenotipi ile ilişkili olduğu düşünülerek araştırmacılar için primer odak noktası olmuştur. Bireyin genotipine ve ilacın dozuna da bağlı olarak değişebilen P-gp aktivitesi nedeniyle, ilacın hücre içine alınması engellenebilmekte ya da hücreden atılması sağlanarak tedaviye direnç oluşmakta, bu durum da değişken fenotiplere neden olabilmektedir [72,73].

Çalışmamızda, antihipertansif ajan olan losartan ile tedavi edilmekte iken hipertansif atak ve hipertansiyon dışı nedenlerle acil servise başvuran hastalarda *MDR1* geninde yaygın olarak görülen üç polimorfizm (G2677T/A, C3435T ve C1236T) ile losartan ve onun metaboliti olan EXP3174'ün plazma düzeyleri birlikte değerlendirilerek, belirlenen varyantların antihipertansif tedavideki önemi araştırıldı.

Bu amaçla, losartan tedavisi altında iken acil servise hipertansif atak ile başvuran 50 hasta (32 kadın ve 18 erkek, yaş ortalamaları 66,18±13,33) hasta grubu olarak; hipertansiyon dışı nedenlerle acil servise başvuran ve hali hazırda antihipertansif tedavi olarak losartan kullanmakta olan 50 birey (22 kadın ve 28 erkek, yaş ortalamaları 68,26±9,56) kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildikten sonra genotipik, fenotipik özellikleri, plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri değerlendirildi.

Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri istatiksel fark göstermezken, kontrol grubu hipertansif atakla başvurmadığı için, acil servise başvuru anında (sıfırıncı dakikadaki)

ölçülen sistolik ve diyastolik arteriyel tansiyon değerleri beklenildiği gibi anlamlı fark göstermekteydi.

MDR1 C3435T, G2677T/A VE C1236T polimorfizmleri çalışma gruplarımızda genotipik ve allellik dağılımlarına göre değerlendirildiğinde 3435TT genotipi ve 1236CT genotipi gruplar arasında anlamlı fark göstermekteydi. C3435T sessiz bir polimorfizm olarak bilinmektedir (Ile-Ile). Ancak, bu varyantın alternatif splicing yoluyla daha kısa P-gp protein oluşmasına neden olduğu, ayrıca polimorfik allelin, diğer varyantlarda (G2677T/A ve T-129C) etkileşerek P-gp aktivitesini etkileyebildiği ileri sürülmektedir [73-76].

Türk popülasyonunda 3435C allel sıklığının %40, T allel sıklığının %60 olduğu ve daha yüksek T allel sıklığı nedeniyle bazı hücereye toksik olan ajanlara karşı daha hassas olunabileceği rapor edilmiştir. G2677T/A polimorfizmi, alanin amino asitinin threonin veya serin amino asiti ile yer değiştirmesine yol açarak oluşan polipeptid zincirinin geometrik yapısını değiştirmektedir. 2677TT genotipine sahip bireylerin düşük P-gp aktivitesine sahip olduğu gösterilmekle birlikte, Türk toplumunda G allel görülme oranının fazla olduğu bildirilmiştir [77]. Göktaş ve ark.[8] tarafından yapılan bir çalışmada C1236T genotiplerinde sistolik kan basınçları açısından anlamlı bir ilişki saptanmazken C3435T polimorfizmi için sistolik kan basınçları açısından bakıldığında CT ve TT genotiplerinde sistolik kan basıncının daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda G2677T ve C1236T genotipleri ile sistolik kan basıncı arasında bu ilişki gözlenmemiştir. Ancak C3435T TT genotipinde daha yüksek sistolik kan basıncı olduğu saptanmıştır. Literatürde yer alan bazı araştırmalarda C3435T genotiplerinin losartan metabolizmasını önemli ölçüde etkilemediği ifade edilmekle birlikte [78,80], bir başka çalışmada ise C3435T polimorfizminin P-gp'nin salınımı ve ilaç taşıma fonksiyonunu değiştirdiği, CC genotipinde aktivitesi artarken, CT genotipinde orta düzeyde olduğu ve TT genotipinde ise P-gp aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir [8,75] Mevcut çelişkili sonuçlar losartan kullanım süresi ve dozuyla ilişkili olabilir. Çalışmamızda losartan ortalama kullanım süresi 7,09±4,67 yıl, Göktaş ve arkadaşlarının çalışmasında bu süre ortalama 6 hafta olup losartan tedavisi sonrasında ilacın tansiyon değerleri üzerindeki etkinliği değerlendirilmiştir[8].Göktaş ve ark. tarafından tespit edilen ve çalışmamız ile benzerlik gösteren 3435TT genotipinde daha yüksek sistolik tansiyon değerlerinin belirlenmesinin, azalmış P-gp aktivitesi ile ilişkili olduğu ifade edilebilir. Diyastolik kan basınçları açısından değerlendirildiğinde ise Göktaş ve ark'nın verilerinde diyastolik kan basıncı 6 hafta verilen tedavi sonrası bizim çalışmamızdaki gönüllülerin diyastolik kan basınçlarına

göre daha düşük çıkmıştır. Guo ve ark. C3435T genotiplerinin telmisartan farmakokinetiği üzerinde etkisi olmadığını [79], amlodipinin plazma konsantrasyonlarını ise önemli ölçüde etkilemekle beraber [81], antihipertansif yanıtın değişmediğini bildirmektedir. Cai ve ark. [78] da C3435T polimorfizminin hipertansif hastalarda amlodipin ve valsartanın terapötik yanıtını etkilemediğini belirtmektedir. Çalışmamızda kontrol grubunun 3435CT genotipinde plazma losartan düzeyi daha düşük bulunmuştur fakat EXP3174 düzeyleri açısından C3435T genotipleri arasında fark saptanmamıştır. Diğer genotipler açısından bakıldığında da plazma EXP3174 düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Buna göre 3435CT genotipinde orta düzeyde olduğu bilinen P-gp aktivitesinin, losartan ve metaboliti EXP3174'ün plazma düzeyleri üzerinde doğrudan ya da tek başına etkili olmadığı söylenebilir. Hipertansif hastalarda adrenokortikal bir endojen madde olan ouabainin daha yüksek plazma konsantrasyonlarına sahip olduğu ve bu durumun hipertansiyon patofizyolojisinde önemli bir faktör olabileceği bildirilmektedir[82]. Dolayısıyla dokulardaki losartan dağılımının C3435T genotipleri endojen ouabain ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Antihipertansif tedavi verilmeyen hipertansiyon hastalarında 3435CT veya TT genotiplerin varlığında önemli ölçüde daha yüksek plazma endojen ouabain düzeyleri bildirilmiştir [83]. Çalışmamızda 3435TT genotipinde sistolik tansiyon daha yüksek belirlenmekle birlikte, bu durumun endojen ouabain düzeyi ile ilişkisi bilinmemektedir. Kan basıncı normal olan 3435TT genotipine sahip bireylere anjiotensin II uygulamasından sonra plazma aldosteron düzeylerinin önemli ölçüde değiştiği ifade edilmektedir [84].

Çalışmamızda 3435TT genotipinde belirlenen daha yüksek sistolik kan basıncı değerleri de dikkat çekicidir. Bu nedenle, 3435T allel taşıyıcıları losartan ile antihipertansif tedaviye daha duyarlı olabilir. Yaşar ve ark. [80] oral tek doz 25 mg losartan verilen hastalarda, losartan ve EXP3174 plazma konsantrasyonları üriner losartan atılımı ve atılan üriner losartan/EXP3174 oranında genotipler açısından anlamlı fark saptanmadığını belirtmektedirler. Çalışmamızda da hasta grubunda plazma losartan düzeyi, plazma EXP3174 düzeyi ve plazma losartan/EXP3174 oranında genotipler açısından anlamlı fark saptanmazken, kontrol grubunda CT genotipinde sadece plazma losartan düzeylerinin %75 civarında daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sitokrom P450 2C9 (CYP2C9) enzimi, losartan oksidayonu yapan ve katalize eden bir enzimdir. EXP3174 ise losartan oksidasyonu sonucu oluşan aktif bir metabolitdir ve

anjiotensin blokajı üzerinden etki göstermektedir. CYP2C9'un farklı polimorfik varyantlarının losartan metabolizmasını değişen derecelerde etkilediği gösterilmiştir[72]. Soldner ve ark.[85] tarafından yapılan *in vitro* bir çalışmada losartanın aynı zamanda ABCB1 taşıyıcısı için bir substrat olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, losartanın hücrede bazolateral bölgeden apikal bölgeye aktif taşınmasının *MDR1* inhibitörlerinden etkilenebileceği, ancak *MDR1* polimorfizmlerinin ise bu transporta etkisinin olmadığı bildirilmiştir[85].

Shin ve ark. [86] C3435T ve G2677T polimorfizmlerinin losartan ve EXP3174'ün plazma düzeylerini değiştirmediğini, ancak bu polimorfizmlerin losartanın erken faz emilimini önemli ölçüde artırabildiğini ifade etmektedirler. Çalışmamızda da C3435T, G2677T/A ve C1236T polimorfizmlerinin plazma losartan ve EXP3174 düzeylerini etkilemediği gösterilmekle birlikte, çalışmaya dahil edilen hastaların uzun süredir losartan tedavisi altında olması nedeniyle bu polimorfizlerin ilacın erken faz emilimi üzerine etkileri konusunda değerlendirme yapılamamaktadır.

Sekino ve ark. [88] tarafından sağlıklı erişkine 25 mg losartan verilerek yapılan bir çalışmada CYP2C9*3 alleline sahip olan bireylerde belirlenen plazma losartan EXP3174 düzeylerinin, CYP2C9*1 alleline sahip olan bireylere göre önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur ve heterozigot CYP2C9*3 alleli varlığında, EXP3174'ün Cmax değerini azalttığı ayrıca normotansif sağlıklı deneklerde hipotansif etkisi olmadığı ileri sürülmüştür. Çalışmamızda *CYP2C9* genotipleri değerlendirilmemiş olmakla birlikte, losartan tedavisi sırasında oluşan aktif metabolitin plazma düzeyinin ölçülmesi yoluyla ilacın klinik etkisinin yorumlanması amaçlandı. Sonuç olarak hipertansiyon hastası olup losartan tedavisi altında iken hipertansif atak geçirmeyen hastalarda 3435CT genotipleri istatiksel açıdan farklı bulundu.

Literatürde, plazma losartan ve EXP3174 düzeylerinin değerlendirildiği çalışmalar gözden geçirildiğinde birbirinden farklı sonuçlar ile karşılaştırılmaktadır. Sasaki ve ark'nın [87] gönüllülere 9 gün süresince 50 mg losartan vererek kan basıncı takibi yaptıkları çalışmalarında, uygulamadan 4 saat sonra losartanın antihipertansif etkisi azalmış, 8.saatte plazma losartan düzeyindeki düşüşe rağmen antihipertansif etkinin arttığı ve EXP3174 düzeyinin losartan düzeyine göre takip süresi boyunca daha yüksek seyrettiği belirtilerek, EXP3174'ün losartanın antihipertansif etkisine katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Çalışmamızda ise hasta ve kontrol gruplarının her ikisinde plazma EXP3174 düzeylerinin

losartan düzeylerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Losartanın inaktif metabolitleri de vardır. İnaktif metabolitlerine dönüşmesini sağlayan CYP2C9 ve CYP3A4'tür. Bizim çalışmamızda MDR1 polimorfizminden dolayı losartanın transportunda değişime bağlı olarak plazma EXP3174 düzeylerinin azaldığı düşünülmektedir. Rutin antihipertansif tedavide ise en az 6 haftalık losartan kullanımından sonra terapötik etki oluştuğu için çalışmamızda yapılan losartan ve EXP3174 düzeyi ölçümlerinin kararlı durum konsantrasyonu açısından güvenilir olduğu söylenebilir. Losartanın kararlı konsantrasyona ulaşabilmesinde etkili olması muhtemel diğer genlerin doğrudan etkisi, gen-gen etkileşimi ve gen-çevre etkileşiminin losartan metabolizmasındaki etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Genlerin ilaç metabolizmasına etkisine göre, çevresel etkilerin gen ya da metabolizma etkisine göre kararlı losartan konsantrasyonunun değişebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır[16].

Kalp yetmezliği olan hastalar ve sağlıklı bireylere oral losartan verildikten 36 saat sonra plazma losartan ve EXP3174 düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada her iki grupta da plazma losartan düzeyleri, plazma EXP3174 düzeyinden daha düşük bulunmakla beraber, bu fark istatiksel olarak anlamlı olmamıştır[90]. Çalışmada plazma losartan düzeylerinin EXP3174 düzeyinden daha düşük bulunmasının son oral dozdan 24-36 saat sonra kan örneklerinin alınması sebebiyle olduğu ve sadece 11 gönüllü ile yapılması da istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmamasının nedeni olarak düşünülebilir.

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalara ve sağlıklı bireylere 7 gün 100 mg oral losartan verildikten sonra altmışıncı saatte plazma losartan ve EXP3174 düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada da istatiksel fark bulunmamakla birlikte, her iki grupta plazma EXP3174 düzeylerinin losartan düzeylerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır[91]. Böylece, son dönem böbrek yetmezliğinin plazma EXP3174 düzeyleri üzerinde sağlıklı gruba göre fark yaratmadığı görülmektedir. Losartan esas olarak böbrek dışı yollarla metabolize edilmekle beraber, EXP3174 hem böbrek hem de böbrek dışı yollardan elimine edilmektedir[42].

Kappert ve ark. [89] 2 ay ve daha fazla süreyle 100 mg losartan ile tedavi edilen hastaların plazma losartan düzeylerini EXP3174 düzeylerine göre yaklaşık 2 kat yüksek belirlemişlerdir. Çalışmamızda losartan tedavisi altındayken hipertansif atakla başvuran hasta grubu ve hipertansif atak geçirmeyen kontrol grubu arasında plazma losartan ve

EXP3174 düzeyleri arasında istatiksel olarak fark bulunmamış, ancak plazma EXP3174 düzeyi losartan düzeyine göre daha düşük bulunmuştur.

Bu dört çalışmada belirlenen plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri arasındaki fark ilacın kullanım süresi ile ilişkili olabilir. Losartanın tam kararlı konsantrasyonuna yaklaşık 6-8 hafta arasında ulaştığı bilinmektedir[87,89-91]. Genel olarak çalışmalardan edilen kanaate göre losartanın kısa süre kullanımında plazma EXP3174 düzeyleri daha yüksek iken, uzun süre kullanımında plazma losartan düzeyi daha yüksek belirlenmektedir. Burada ilacın kısa süreli ve uzun süreli kullanımında plazma kararlı konsantrasyona ulaşmasını etkileyebilecek ilaç metabolizmasından sorumlu diğer genler, epigenetik durumlar ve çevresel etkenler gibi diğer faktörlerin de göz önünde bulundurulması önemlidir[16,92].

Bitkisel ürün-ilaç etkileşimleri, ilaçların farmakokinetik özelliklerini etkileyerek efikasitelerinde ve advers etkilerinde değişikliklere yol açabileceği için büyük endişe kaynağı olarak görülmektedir. 100 mg/kg dozda 1 hafta süre ile kurkumin verilen farelerde, kurkuminin losartan ve metaboliti EXP3174'ün plazma düzeylerini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir [93]. Benzer şekilde, Berberis Vulgaris (Karamuk) ekstresinin çeşitli sağlık sorunları olan bireylerde alternatif tedavi olarak kullanıldığı, özellikle yaşla birlikte gelişen nöropatide kullanılabildiği ve tansiyon düşürücü etkisinin de olduğu bilinmektedir[94,95]. Losartan ile antihipertansif tedavi altındaki deneklere ilave olarak berberis vulgaris verilmesi sonrasında losartan ve matabolitі EXP3174'ün farmakokinetiğinin araştırıldığı bir çalışmada losartanın plazma düzeylerinin arttığı ve EXP3174 düzeylerinin ise azaldığı rapor edilmektedir [97]. Bu çalışmalar, kurkumin veya berberis vulgaris gibi maddelerin losartanın farmakokinetiği üzerinde etkili olabileceğini göstermekle beraber, ilaç farmakokinetiği ve farmakodinamiğinin araştırıldığı çalışmaların hastane koşullarında, kontrollü tedavi ile birlikte yapılmasının sonuçların güvenilirliği açısından daha efektif olacağını da gündeme getirmektedir. Bir başka çalışmada altın kök (Rhodiola Rosea) bitkisi verilen deneklerde plazma losartan düzeyleri kontrol grubuna göre istatiksel olarak farklı bulunurken; plazma EXP3174 düzeyleri açısından herhangi bir fark görülmemiştir[96]. Flavanoid ailesinin bir üyesi olan Kuersetin (Quercetin) antioksidan etkisi nedeniyle besin takviyesi olarak kullanılmaktadır [98]. Kuersetinin losartan ve EXP3174'ün farmakokinetiği üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, kuersetin kullanımı sonrasında losartanın plazma düzeyinin arttığı, EXP3174'ün plazma düzeyinin ise azaldığı gösterilmiştir[103]. Kuersetinin P-gp veya CYP450 enziminin aktivtesini inhibe ederek EXP3174'ün plazma düzeyini azaltabileceğini ileri sürülmektedir.

Losartan ile antihipertansif tedavi altında olan hastalardan oluşan çalışma grubumuzdaki bireylerin kullandıkları ek ilaçlar ve bitkisel ürünler acil servise başvuru sırasında sorgulanmış ve losartan ile etkileşime girme potansiyeli bulunan alternatif ilaç/madde kullanımını bildiren hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Bu nedenle sonuçlarımızı etkileyebilicek bitki-ilaç etkileşimi olasılığı dışlanmaya çalışılmıştır.

Hidroksi-metil glutaril koenzim A (HMG-KoA) redüktaz inhibitörleri (statinler), kolesterol düşürücü etkileri nedeniyle dislipidemi tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadırlar[99-102]. HMG-KoA redüktaz inhibitörelerinin P-gp ve CYP3A4 aktivitesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada losartan ile birlikte HMG-KoA redüktaz inhibitörlerinin verildiği deneklerde losartan ve EXP3174'ün farmakokinetiği değerlendirilmiştir.Losartanın plazma konsantrasyonu özellikle statin kullanımına bağlı artmaktadır. Bunun sebebinin ise losartanın simvastatin tarafından renal eliminasyonundan ziyade, ince bağırsakta ve/veya karaciğerde losartanın CYP3A aracılı metabolizmasının inhibisyonuna ve ince bağırsakta P-gp akış pompasının inhibisyonuna bağlı olabileceği düşünülmektedir [104]. Bizim çalışmamızda da statin kullanan hasta vardı fakat statin kullanan hasta az olması sebebi ile tam bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Antihipertansif etkisini anjiotensin II reseptör blokajı yaparak gösteren diğer anjiotensin II reseptör antagonistlerinin plazma düzeylerine çeşitli gen polimorfizmlerinin ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar da literatürde bulunmaktadır. Kurland ve ark. [105] tarafından *AT1R*
polimorfizmlerinin anjiotensin II tip 1 reseptör (AT1R) anatagonisti olan irbesartanın plazma düzeylerine ve kan basıncı üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, *AT1R* polimorfizmlerinin kan basıncı yanıtı ile ilişkili olmadığı, ancak 12 haftalık tedavi sonrasında C5245T polimorfizminde sistolik kan basıncında anlamlı azalma olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, *AT1R* 5245TT genotipine sahip bireylerde irbesartanın plazma düzeylerinin sistolik kan basıncındaki değişiklikle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Çalışmamızda losartan tedavisi altında iken hem kontrol hem de hasta grubunda başvuru anında yani sıfırıncı dakikadaki sistolik ve diyastolik tansiyon değerleri *MDR1* 3435TT ve 1236TT genotiplerine sahip hastalarda daha yüksek görülmüştür.

Hallberg ve ark. [106] irbesartan ile tedavi edilen hastalarda diyastolik kan basıncı değerlerinin *CYP2C9* genotiplerine göre fark gösterdiğini ileri sürmektedir. Bu çalışmada diyastolik kan basıncı değerlerinin CYP2C9*1/CYP2C9*1 genotipine sahip hastalarda

%7,5, CYP2C9*1/CYP2C9*2 genotipine sahip hastalarda ise daha düşük bulunduğu belirtilmektedir(p>0,05).
Diyastolik kan basıncı 95 mmHg'nin üzerinde olan hastalara ek olarak yüksek doz (16 mg) ve düşük doz (8 mg) kandesartan verilerek yapılan bir araştırmada tedaviye pozitif yanıt alındığı, *CYP11B2* promotör polimorfizminin tedaviye olumlu yanıt üzerinde etkili olduğu ileri sürülmüştür [107].

Hong ve ark. [108] tarafından Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada CYP2C9*3 allel taşıyıcılarının irbesartan uygulamasından 6 ve 24 saat sonra diğer genotiplere göre önemli ölçüde daha yüksek plazma irbesartan düzeylerinin belirlendiği, CYP2C9*3 allelik ile irbesartanın esansiyel hipertansiyon üzerindeki terapötik etkisi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı belirtilmektedir. İnsan karaciğer mikrozomlarında homozigot CYP2C9*1 (Ile 359/Ile 359) alleli ve heterozigot CYP2C9*1/*3 (Ile359/Leu359) allelleri varlığında kandesartanın kinetik analizinin incelendiği, çalışma sonuçlarında CYP2C9*3 allelinin metabolik aktivitenin yanı sıra inhibitör duyarlılığı da değiştirebileceği belirtilmektedir [109].

Mevcut literatür verilerine göre çalışmamız, hipertansif atakla acil servise başvuran hastalarda losartan ve EXP3174 plazma düzeylerinin *MDR1* G2677, C3435T ve C1236T polimorfizmleri ile ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma olma niteliğindedir. C3435T TT genotipinde hipertansif atak daha sık gözlenirken, C1236T CT genotipinde daha az gözlenmektedir. Kontrol grubunun C3435T genotiplerinde plazma losartan düzeyi sayısal değer olarak 2 kata yakın fark bulunmakta fakat bu genotipe sahip gönüllü sayısı az olması sebebiyle istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Kan basıncını etkileyen parametreler çok faktörlüdür. Çalışmamıza her ne kadar ilaç uyumu olan ve hipertansiyon açısından diyet programına uyduğunu belirten hastalar alınmış olsa da hiçbir zaman tüm faktörleri dışlamak mümkün değildir. Şüphesiz hastaların ilaç uyumu, beslenme alışkanlıkları ve hayat biçimleri tansiyon değerlerini etkilemektedir. Daha büyük gruplarda bu değerlerin etkisi minimuma indirilebilir fakat hiçbir zaman tamamen dışlamak mümkün değildir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Prospektif, kesitsel olarak tasarlanan bu çalışma ile ilk kez, losartan tedavisi altındayken hipertansif atak geçiren ve bu şikayetle acil servise başvuran hastalarda, ilaç direncini açıklayabilmek için, p-glikoproteini kodlayan ve çoklu ilaç direncinde rol alan *MDR1* gen polimorfizmleri ile losartan ve EXP3174 (aktif-metabolit) plazma düzeylerinin ilacın terapötik etkinliği ile ilişkilerinin araştırılması amaçlanmış ve losartan tedavisi altında iken hipertansif atak geçirmeyen ve acil servise başka şikayet ile başvuran kontrol grubu ile de karşılaştırılmıştır.

Çalışma sonuçlarımız, hasta ve kontrol grubu arasında sıfırıncı dakikada belirlenen tansiyon değerlerinin istatiksel olarak farklı olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte hipertansif atakla başvuran hastaların losartan ve EXP3174 plazma konsantrasyonları (sırasıyla 113,61 ng/ml ve 19,87 ng/ml, ortanca cinsinden) kontrol grubunun plazma losartan ve EXP3174 konsantrasyonlarından (sırasıyla 114,25 ng/ml ve 16,95 ng/ml, ortanca cinsinden) farklı bulunmamıştır. Bu nedenle, tedaviye yanıtsızlık ilaç düzeyleri ile açıklanamaz.

Farmakogenetik analizlere bakılacak olursa, ilaç direnci açısından *MDR1* geninde G2677T, C3435T ve C1236T varyantları değerlendirilmiştir. Kontrol ve hasta grupları arasında G2677T genotipleri bakımından farklılık yoktur. C3435T ve C1236T polimorfizmlerinde sırasıyla, TT ve CT genotiplerinde anlamlı fark tespit edilmiştir. Hipertansif atak C3435T TT genotipinde fazla, C1236T CT genotipinde daha az izlenmiştir. Kontrol grubunun C3435T genotiplerinde plazma losartan düzeyi fark göstermekle birlikte, anlamlı ilişki bulunamamıştır. Plazma losartan ve EXP3174 düzeyleri ile G2677T, C3435T ve C1236T genotipleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Hasta grubunda hipertansiyon ile ilişkili komplikasyonlardan sol ventrikül hipertrofisi en sık görülen komplikasyondur.

Sonuç olarak bu çalışmada, *MDR1* polimorfizmleri ile antihipertansif tedavi alan hastalarda plazma losartan/EXP3174 düzeyleri arasında doğrudan bir ilişki olmadığı gözlenmiştir, ancak hipertansif atağın C3435T TT genotipinde daha sık görülmesinin altında yatan nedenler ileri araştırmaları gerektirmektedir. *MDR1* genindeki diğer polimorfizmlerin ve ilaç metabolizmasından sorumlu CYP450 enzimlerini kodlayan genlerdeki varyantların birlikte yorumlanarak genotip-fenotip korelasyonu yapılması önemlidir. Bunun yanı sıra gen-çevre etkileşimi de göz önünde bulundurularak ilaç

direncinin daha kapsamlı değerlendirilmesinin gelecekte bireyselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin uygulanmasına daha fazla katkı sağlanacağı düşünülmektedir. Özellikle dünyada en sık gözlenen kardiyovasküler sistem hastalığı olan hipertansiyonda, düzenli tedaviye rağmen hipertansif atak geçiren hastaların daha kapsamlı değerlendirilebilmesi için farmakogenetik araştırmalar yol gösterici olabilir

KAYNAKLAR

1. Torrellas C., Carril J.C., Torrellas R.C. (2014). Benefits of Pharmacogenetics in the Management of Hypertension. *Journal Pharmacogenomics Pharmacoproteomics,5*,2.

2. GBD 2015 Risk Factors Collaboratorfs (2016). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet,388* (10053), 1659–1724.

3. World Health, O., (2013). A global brief on hypertension: silent killer, global public health crisis: World Health Day 2013,1-39.

4. Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Casey, D. E., Jr, Collins, K. J., Dennison Himmelfarb, C., DePalma, S. M., Gidding, S., Jamerson, K. A., Jones, D. W., MacLaughlin, E. J., Muntner, P., Ovbiagele, B., Smith, S. C., Jr, Spencer, C. C., Stafford, R. S., Taler, S. J., Thomas, R. J., Williams, K. A., Sr, Williamson, J.D., Wright,J.T.,Jr.(2018). ACC/AHA/ AAPA/ABC/ ACPM/AGS/ APhA/ ASH/ ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension,71*(6), 1269–1324.

5. Chobanian, A. V., Bakris, G. L., Black, H. R., Cushman, W. C., Green, L. A., Izzo, J. L., Jr, Jones, D. W., Materson, B. J., Oparil, S., Wright, J. T., Jr, Roccella, E. J., National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, and National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee (2003). The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*, *289*(19), 2560–2572.

6. Lewington, S., Clarke R., Qizilbash N., Peto R., Collins R. (2002).Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: A meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet, 360 (9349),* 1903–1913.

7. Byeon, J. Y., Kim, D. H., Lim, H. J., Lee, C. M., Kim, Y. H., Lee, S.Y. (2016). Effects of ABCB1 Genetic Polymorphism on the Oral Absorption of Losartan. *Clinical therapeutics, 38(10),* 22.

8. Göktaş M.T., Pepedil F., Karaca Ö., Kalkışım S., Cevik L., Gumus E., Guven G.S., Babaoglu M.O., Bozkurt A.,Yasar U. (2016). Relationship between genetic polymorphisms of drug efflux transporter MDR1 (ABCB1) and response to losartan in hypertension patients. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 20(11):*2460-2467.

9. Ozbey G., Celikel F.C., Cumurcu B.E., Kan D., Yucel B., Hasbek E., Percin F., Guzey I.C., Uluoglu C. (2017). Influence of ABCB1 polymorphisms and serum concentrations on venlafaxine response in patients with major depressive disorder. *Nordic Journal of Psychiatry, 71(3):*230-237.

10. Cascorbı I., Gerloff T., Johne A., Meısel C., Hoffmeyer S., Schwab M., Schaeffeler E., Eıchelbaum M., Brınkmann U., Roots I. (2001). Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in White subjects. *Clinical pharmacology and therapeutics, 69*: 169-174.

11. Kannel, W.B. (1996). Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA, 275(20):*1571-6.

12. Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., de Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G. ESC Scientific Document Group (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European heart journal*, *39(33),* 3021–3104.

13. Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N. A., Poulter, N. R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G. S., Tomaszewski, M., Wainford, R. D., Williams, B., and Schutte, A. E. (2020). 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines. *Journal of hypertension*, *38(6)*, 982–1004.

14. Onusko E. (2003). Diagnosing secondary hypertension. *American family physician, 67(1),* 67–74.

15. Omura, M., Saito, J., Yamaguchi, K., Kakuta, Y.,and Nishikawa, T. (2004). Prospective study on the prevalence of secondary hypertension among hypertensive patients visiting a general outpatient clinic in Japan. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*, *27(3)*, 193–202.

16. Kaplan N.M., Lieberman E. (1998). *Clinical Hypertension*, *7*,34-8.

17. Forman, J.P. (2009). Diet and Lifestyle Risk Factors Associated With Incident Hypertension in Women. *JAMA, 302(4):*401.

18. Sonne-Holm, S., Sørensen, T. I., Jensen, G.,and Schnohr, P. (1989). Independent effects of weight change and attained body weight on prevalence of arterial hypertension in obese and non-obese men. *BMJ (Clinical research ed.), 299(6702),* 767–770.

19. Staessen, J. A., Wang, J., Bianchi, G.,and Birkenhäger, W. H. (2003). Essential hypertension. *Lancet*, *361(9369),* 1629–1641.

20. Wang, N. Y., Young, J. H., Meoni, L. A., Ford, D. E., Erlinger, T. P., and Klag, M. J. (2008). Blood pressure change and risk of hypertension associated with parental hypertension: the Johns Hopkins Precursors Study. *Archives of internal medicine*, *168*(6), 643–648.

21. Carson, A. P., Howard, G., Burke, G. L., Shea, S., Levitan, E. B., and Muntner, P. (2011). Ethnic differences in hypertension incidence among middle-aged and older adults: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Hypertension*, *57*(6), 1101–1107.

22. Ferreira, I., Peeters, L. L., and Stehouwer, C. D. (2009). Preeclampsia and increased blood pressure in the offspring: meta-analysis and critical review of

the evidence. *Journal of hypertension*, *27*(10).

23. Appel, L. J., Brands, M. W., Daniels, S. R., Karanja, N., Elmer, P. J., Sacks, F. M., and American Heart Association (2006). Dietary approaches to prevent and treat hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*, *47*(2), 296–308.

24. Brook, R. D., Appel, L. J., Rubenfire, M., Ogedegbe, G., Bisognano, J. D., Elliott, W. J., Fuchs, F. D., Hughes, J. W., Lackland, D. T., Staffileno, B. A., Townsend, R. R., Rajagopalan, S., and American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Epidemiology and Prevention, and Council on Nutrition, Physical Activity (2013). Beyond medications and diet: alternative approaches to lowering blood pressure: a scientific statement from the american heart association. *Hypertension*, *61*(6), 1360–1383.

25. 2013 ESH/ESC Arteriyel Hipertansiyon Kılavuzu. (2013). Avrupa Hipertansiyon Derneği (ESH) ve Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) arteriyel hipertansiyon görev grubu,1-72.

26. James, P. A., Oparil, S., Carter, B. L., Cushman, W. C., Dennison-Himmelfarb, C., Handler, J., Lackland, D. T., LeFevre, M. L., MacKenzie, T. D., Ogedegbe, O., Smith, S. C., Jr, Svetkey, L. P., Taler, S. J., Townsend, R. R., Wright, J. T., Jr, Narva, A. S., and Ortiz, E. (2014). 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*, *311*(5), 507–520.

27. Astarita, A., Covella, M., Vallelonga, F., Cesareo, M., Totaro, S., Ventre, L., Aprà, F., Veglio, F., and Milan, A. (2020). Hypertensive emergencies and urgencies in emergency departments: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hypertension*, *38*(7), 1203–1210.

28. Mayer, S. A., Kurtz, P., Wyman, A., Sung, G. Y., Multz, A. S., Varon, J., Granger, C. B., Kleinschmidt, K., Lapointe, M., Peacock, W. F., Katz, J. N., Gore, J. M., O'Neil, B., Anderson, F. A., and STAT Investigators (2011). Clinical practices, complications, and mortality in neurological patients with acute severe hypertension: the Studying the Treatment of Acute hyperTension registry. *Critical care medicine*, *39*(10).

29. Padilla Ramos, A., andVaron, J. (2014). Current and newer agents for hypertensive emergencies. *Current hypertension reports*, *16*(7).

30. "Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19·1 million participants. (2017). *Lancet, 389(10064),* 37–55.

31. Onat A, Sansoy V., Yıldırım B., Keleş İ., Çetinkaya A., Aksu, H. (1999) Erişkinlerimizde kan basıncı: 8-yıllık seyri, tedavi oranı, koroner kalp hastalığı ile bazı etkenlerle ilişkileri. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, 27*, 136-43.

32. Onat A., Şenocak M., Örnek E., Gözükara Y., Şurdum Avcı G., Karaaslan Y.(1991). Türkiye'de erişkinlerde kalp hastalığı ve risk faktörleri sıklığı

taraması: 5. Hipertansiyon ve sigara içimi. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, 19*,169-77.

33. Onat A., Doğan Y., Uyarel H., Ceyhan K., Uzunlar B., Yazıcı M.(2002). Erişkinlerimizde kan basıncı ve kontrol altında tutulması yönünde gelişme. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, 30*,749-57.

34. Houle, S. K., Padwal, R., Poirier, L., and Tsuyuki, R. T. (2014). The 2014 Canadian Hypertension Education Program (CHEP) guidelines for pharmacists: An update. *Canadian pharmacists journal : CPJ = Revue des pharmaciens du Canada : RPC*, *147*(4), 203–208.

35. Parati, G., Ulian, L., Santucciu, C., Omboni, S., and Mancia, G. (1998). Difference between clinic and daytime blood pressure is not a measure of the white coat effect. *Hypertension*, *31*(5), 1185–1189.

36. Howland R.D., Mycek M.J. (2009). Lippincott's Illustrated Reviewes Farmakoloji (3). Nobel Yayınevi, ,213-225.

37. Miroglu, E. *Farmasötik preparatlarda losartan potasyumun spektrofotometrik yöntem ile analizi,* Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bölümleri Enstitüsü, 7-9.

38. Yilmaz R., Erdem Y. (2006). Anjiyotensin II reseptör blokerleri ve yeni bir ajan: olmesartan medoksomil. *Dahili Tıp Bilimleri Dergisi, 13*, 176-182.

39. Jeb S., Pickard M.D. (2001). Losartan Potassium: A review of its suitability for use in military aircrew, *Defense Technical Information Center*, 139-143.

40. Smith R., Sweet C., Goldberg A. (1995). Timmermans P. Losartan Potassium (Cozaar (R)): A Nonpeptide Antagonist of Angiotensin II. *Drugs of Today, 31*, 463-498

41. Hamada H., Tsuruo T. (1986) Functional role for the 170- to 180-kDa glycoprotein specific to drug-resistant tumor cells as revealed by monoclonal antibodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)*, 83(20), 7785-9

42. Hamada, H., and Tsuruo, T. (1986). Functional role for the 170- to 180-kDa glycoprotein specific to drug-resistant tumor cells as revealed by monoclonal antibodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *83*(20), 7785–7789.

43. Levy, P. J., Yunis, C., Owen, J., Brosnihan, K. B., Smith, R., and Ferrario, C. M. (2000). Inhibition of platelet aggregability by losartan in essential hypertension. *The American journal of cardiology*, *86*(11), 1188–1192.

44. Krämer, C., Sunkomat, J., Witte, J., Luchtefeld, M., Walden, M., Schmidt, B., Tsikas, D., Böger, R. H., Forssmann, W. G., Drexler, H., and Schieffer, B. (2002). Angiotensin II receptor-independent antiinflammatory and antiaggregatory properties of losartan: role of the active metabolite EXP3179. *Circulation research*, *90*(7), 770–776.

45. Fojo A, Lebo R, Shimizu N, Chin JE, Roninson IB, Merlino GT, Gottesman MM ve Pastan I. (1986) Localization of multidrug resistance-associated DNA

sequences to human chromosome 7. *Somatic Cell and Moleculer Genetics,12*(4), 415-20.

46. Kusuhara H, Suzuki H ve Sugiyama Y. (1998) The role of P-glycoprotein and canalicular multispecific organic anion transporter in the hepatobiliary excretion of drugs, *Journal of Pharmaceutical Sciences,87(9),* 1025-40

47. Babaoglu M.O., Bayar B., Aynacioglu A.S., Kerb R., Abali H., Celik I., Bozkurt A. (2005) Association of the ABCB1 3435C and gt;T polymorphism with antiemetic efficacy of 5-hydroxytryptamine type 3 antagonists, *Clinical Pharmacology and Therapeutics,78(6),* 619-26.

48. Kioka N., Tsubota J., Kakehi Y., Komano T., Gottesman M.M., Pastan I., Ueda K. (1989) P- glycoprotein gene (MDR1) cDNA from human adrenal: normal P-142 glycoprotein carries Gly185 with an altered pattern of multidrug resistance, *Biochemical and Biophysical Research Communications,162(1),* 224-31.

49. Schinkel A.H.(1999). P-Glycoprotein, a gate keper in the blood -brain barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews, 5;36(2-3):*179-194.

50. Fromm MF. (2002). The influence of MDR1 polymorphisms on p-glycoprotein expression and function in humans. *Advanced Drug Delivery reviews, 54:* 1295-1310.

51. Stein W.D. (1997). Kinetics of multidrug transporter (P-glycoprotein) and its reversal. Physiological Reviews, 77(2):545-90.

52. Germann, U. A., Willingham, M. C., Pastan, I., andGottesman, M. M. (1990). Expression of the human multidrug transporter in insect cells by a recombinant baculovirus. *Biochemistry*, *29*(9), 2295–2303.

53. Safa, A. R., Stern, R. K., Choi, K., Agresti, M., Tamai, I., Mehta, N. D., and Roninson, I. B. (1990). Molecular basis of preferential resistance to colchicine in multidrug-resistant human cells conferred by Gly-185----Val-185 substitution in P-glycoprotein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *87*(18), 7225–7229.

54. Kim R. B. (2002). Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. *Drug metabolism reviews*, *34*(1-2), 47–54.

55. Loo, T. W., Bartlett, M. C., and Clarke, D. M. (2006). Transmembrane segment 7 of human P-glycoprotein forms part of the drug-binding pocket. *The Biochemical journal*, *399*(2), 351–359.

56. Rosenberg M.F., Velarde G.,Ford R.C., Martin C., Berridge G., Kerr I.D., Callaghan R., Schmidlin A., Wooding C, Linton K.J., Higgins C.F. (2001).Repacking of the transmembrane domains of P-glycoprotein during the transport ATPase cycle. *The EMBO Journal, 20(20),*5615-25.

57. Sauna, Z. E., and Ambudkar, S. V. (2000). Evidence for a requirement for ATP hydrolysis at two distinct steps during a single turnover of the catalytic cycle of human P-glycoprotein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(6), 2515–2520.

58. Matheny, C. J., Lamb, M. W., Brouwer, K. R., and Pollack, G. M. (2001). Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein

modulation. *Pharmacotherapy*, *21*(7), 778–796.

59. Cordon-Cardo, C., O'Brien, J. P., Boccia, J., Casals, D., Bertino, J. R., and Melamed, M. R. (1990). Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, *38*(9), 1277–1287.

60. Sugawara, I., Kataoka, I., Morishita, Y., Hamada, H., Tsuruo, T., Itoyama, S., and Mori, S. (1988). Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug-resistant gene as revealed by a monoclonal antibody, MRK 16. *Cancer research*, *48*(7), 1926–1929.

61. Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M. M., Pastan, I., and Willingham, M. C. (1987). Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *84*(21), 7735–7738.

62. Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M. M., Pastan, I., and Willingham, M. C. (1989). Immunohistochemical localization in normal tissues of different epitopes in the multidrug transport protein P170: evidence for localization in brain capillaries and crossreactivity of one antibody with a muscle protein. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, *37*(2), 159–164.

63. Mölsä, M., Heikkinen, T., Hakkola, J., Hakala, K., Wallerman, O., Wadelius, M., Wadelius, C., and Laine, K. (2005). Functional role of P-glycoprotein in the human blood-placental barrier. *Clinical pharmacology and therapeutics*, *78*(2), 123–131.

64. Dantzig, A. H., de Alwis, D. P., and Burgess, M. (2003). Considerations in the design and development of transport inhibitors as adjuncts to drug therapy. *Advanced drug delivery reviews*, *55*(1), 133–150.

65. Dietrich, C. G., Geier, A., and Oude Elferink, R. P. (2003). ABC of oral bioavailability: transporters as gatekeepers in the gut. *Gut*, *52*(12), 1788–1795.

66. Marzolini, C., Paus, E., Buclin, T., and Kim, R. B. (2004). Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clinical pharmacology and therapeutics*, *75*(1), 13–33.

67. Marchetti, S., Mazzanti, R., Beijnen, J. H., and Schellens, J. H. (2007). Concise review: Clinical relevance of drug drug and herb drug interactions mediated by the ABC transporter ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *The oncologist*, *12*(8), 927–941.

68. Kioka, N., Tsubota, J., Kakehi, Y., Komano, T., Gottesman, M. M., Pastan, I., and Ueda, K. (1989). P-glycoprotein gene (MDR1) cDNA from human adrenal: normal P-glycoprotein carries Gly185 with an altered pattern of multidrug resistance. *Biochemical and biophysical research communications*, *162*(1), 224–231.

69. Schwab M., Eichelbaum M., Fromm M.F. (2003) Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *43*,285-307.

70. Molecular probes by life technologies. Qubit® dsDNA HS Assay Kits User Guide. For use with the Qubit® Fluorometer (all models). (2015)Catalog nos. Q32851, Q32854,

71. Erkal B. Klinefelter Hastalarında PAI-1 Geni Varyantlarının Trombofili Gelişimi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi.İstanbul:İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik AD,2017.

72. M.T.Göktaş, F.Pepedil, Ö.Karaca, S. Kalkışım, L. Cevik, E. Gumus, G.S.Guven, M.O. Babaoglu, A.Bozkurt, U. Yasar. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2016;2460-2467.

73. Ambudkar S.V., Sarfaty C.K., Sauna Z. E. Ve ark. :P-glycoprotein: from genomics to mechanism, Oncogene 2003;22,7468-7485.

74. Ameyaw M.M., Regaterio F., Li T., ve ark. : MDR1 pharmacogenetics :frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. Pharmacogenetics 2001;11:217-221.

75. Hitzl M., Drescher S., Kuip H., ve ark.: The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of P glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. Pharmacogenetics 2001;11:293-298.

76. Tanabe M., Ieri I., Nagata N., ve ark.: Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR1) gene. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2001;297(3):1137-1143.

77. Kaya, P., Gündüz, U., Arpaci, F., Ural, A. U., & Guran, S. (2005). Identification of polymorphisms on the MDR1 gene among Turkish population and their effects on multidrug resistance in acute leukemia patients. *American journal of hematology, 80*(1), 26–34.

78. Cai J, Huang Z, Yang G, Cheng K, Ye Q, Mıng Y,Zuo X, Zhou P, Yuan H. Comparing antihypertensive effect and plasma ciclosporin concentration between amlodipine and valsartan regimens in hypertensive renal transplant patients receiving ciclosporin therapy. American Journal of Cardiovascular Drugs 2011; 11: 401-409.

79. Guo X, Chen Xp, Cheng Zn, Luo X, Guo R, Chen L, Chen J, Chen B, Peng J, Lı Yj. No effect of MDR1 C3435T polymorphism on oral pharmacokinetics of telmisartan in 19 healthy Chinese male subjects. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2009; 47: 38-43.

80. Yasar U, Babaoglu Mo, Bozkurt A. Disposition of a CYP2C9 phenotyping agent, losartan, is not influenced by the common 3435C > T variation of drug transporter gene ABCB1 (MDR1). Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology 2008; 103: 176-179.

81. Guo C, Peı Qı, Tan H, Huang Z, Yuan H, Yang G. Effects of genetic factors on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine in primary hypertensive patients. Biomedical Reports 2015; 3: 195-200

82. Blausteın Mp, Zhang J, Chen L, Hamılton Bp. How does salt retention raise blood pressure? American Journal of Physiology Regulative Integrative and Comperative Physiology 2006; 290: R514-523.

83. Trıpodı G, Cıtterıo L, Kouznetsova T, Lanzanı C, Florıo M, Modıca R, Messaggıo E, Hamlyn Jm, Zagato L, Bıanchı G, Staessen Ja, Manunta P. Steroid biosynthesis and renal excretion in human essential hypertension: association with blood pressure and endogenous ouabain. American Journal of Hypertension 2009; 22: 357-363.

84. Zolk O, Jacobı J, Pahl A, Fromm Mf, Schmıeder Re. MDR1 genotype-dependent regulation of the aldosterone system in humans. Pharmacogenetic Genomics. 2007; 17: 137-144.

85. Soldner A, Benet LZ, Mutschler E, Christians U. Active transport of the angiotensin-II antagonist losartan and its main metabolite EXP 3174 across MDCK-MDR1 and Caco- 2 cell monolayers.British Journal of Pharmacology 2000;129: 1235-43.

86. Shin HB, Jung EH, Kang P. Chang PL,Oh, KY, Cho, CK, Lee, Yun & Choi, Chang-Ik, Jang, CG, Lee, SY & Bae, JW. (2020). *ABCB1* c.2677G>T/c.3435C>T diplotype increases the early-phase oral absorption of losartan. *Archives of Pharmacology Research.* 43, 1187– 1196 (2020).

87. Sasaki, M., Fujimura, A., Harada, K., Sunaga, K., & Ebihara, A. (1996). Clinical pharmacology of multiple-dose losartan, an angiotensin II receptor antagonist, in patients with essential hypertension. *Journal of clinical pharmacology*, *36*(5), 403–408.

88. Sekino, K., Kubota, T., Okada, Y., Yamada, Y., Yamamoto, K., Horiuchi, R., Kimura, K., & Iga, T. (2003). Effect of the single CYP2C9*3 allele on pharmacokinetics and pharmacodynamics of losartan in healthy Japanese subjects. *European journal of clinical pharmacology*, *59*(8-9), 589–592.

89. Kappert K, Tsuprykov O, Kaufmann J, Fritzsche J, Ott I, Goebel M, Baehr NI, Haessle PL, Gust R, Fleck E, Unger T, Stawowy P, Kintscher U. Chronic treatment with losartan results in sufficient serum levels of the metabolite EXP3179 for PPARγ activation. Hypertension, 2009; *54*: 738–743.

90. Lo M,Toh J,Emmert S,Ritter M,Furtek C,Lu H,Colucci W,Uretsky B,Rucinska E. Pharmacokinetics of Intravenous and Oral Losartan in Patients with Heart Failure. Journal of Clinical Pharmacology. 1998;38:525-32.

91. Sica, D. A., Halstenson, C. E., Gehr, T. W., & Keane, W. F. (2000). Pharmacokinetics and blood pressure response of losartan in end-stage renal disease. *Clinical pharmacokinetics*, *38*(6), 519–526.

92. Z. Li, G. Wang, L.-S. Wang, W. Zhang, Z.-R. Tan, L. Fan, B.-L. Chen, Q. Li, J. Liu, J.-H. Tu, D.-L. Hu, Z.-Q. Liu and H.-H. Zhou (2009) Effects of the *CYP2C9*13* allele on the pharmacokinetics of losartan in healthy male subjects, Xenobiotica, 39:10, 788-793

93. Liu AC, Zhao LX, Xing J, Liu T, Du FY, Lou HX. Pre-treatment with curcumin enhances plasma concentrations of losartan and its metabolite EXP3174 in rats. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2012;35(2):145-50.

94. Fatehi-Hassanabad, Z., Jafarzadeh, M., Tarhini, A., & Fatehi, M. (2005). The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract from Berberis vulgaris fruit on hypertensive rats. *Phytotherapy research : PTR*, *19*(3), 222–225.

95. Pang, B., Zhao, L. H., Zhou, Q., Zhao, T. Y., Wang, H., Gu, C. J., & Tong, X. L. (2015). Application of berberine on treating type 2 diabetes mellitus. *International journal of endocrinology*, *2015*, 905749.

96. Spanakis M, Vizirianakis I, S, Batzias G, Niopas I: Pharmacokinetic Interaction between Losartan and Rhodiola rosea in Rabbits. Pharmacology 2013;91:112-116.

97. Hong Li, Lu Liu, Lei Xie, Dongmei Gan and Xiaoqing Jiang (2016) Effectsof berberine on the pharmacokinetics of losartan and its metabolite EXP3174 in rats and itsmechanism, Pharmaceutical Biology, 54:12, 2886-2894.

98. Sorata Y, Takahama U, Kimura M. Protective effect of quercetin and rutin on photosensitized lysis of human erythrocytes in the presence of hematoporphyrin. Biochimica et Biophysica Acta 1984;799:313–7.

99. Alberts, A. W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., Rothrock, J., Lopez, M., Joshua, H., Harris, E., Patchett, A., Monaghan, R., Currie, S., Stapley, E., Albers-Schonberg, G., Hensens, O., Hirshfield, J., Hoogsteen, K., Liesch, J., & Springer, J. (1980). Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *77*(7), 3957–3961.

100. Amin, D., Gustafson, S. K., Weinacht, J. M., Cornell, S. A., Neuenschwander, K., Kosmider, B., Scotese, A. C., Regan, J. R., & Perrone, M. H. (1993). RG 12561 (dalvastatin): a novel synthetic inhibitor of HMG-CoA reductase and cholesterol-lowering agent. *Pharmacology*, *46*(1), 13–22.

101. Alberts W: Discovery, biochemistry and biology of lovastatin. American Journal of Cardiology, 1988;62:10J–15J.

102. Fujioka, T., Nara, F., Tsujita, Y., Fukushige, J., Fukami, M., & Kuroda, M. (1995). The mechanism of lack of hypocholesterolemic effects of pravastatin sodium, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, in rats. *Biochimica et biophysica acta*, *1254*(1), 7–12.

103. Qingling Zhao, Jinlan Wei and Hongying Zhang (2019) Effects of quercetin on the pharmacokinetics of losartan and its metabolite EXP3174 in rats, Xenobiotica, 49:5, 563-568.

104. Yang S, -H, Choi J, -S, Choi D, -H: Effects of HMG-CoA Reductase Inhibitors on the Pharmacokinetics of Losartan and Its Main Metabolite EXP-3174 in Rats: Possible Role of CYP3A4 and P-gp Inhibition by HMG-CoA Reductase Inhibitors. Pharmacology 2011;88:1-9.

105. Lisa Kurland, Pär Hallberg, Håkan Melhus, Ulrika Liljedahl, Nashmil Hashemi, Ann-Christine Syvänen, Lars Lind, Thomas Kahan, The Relationship Between the Plasma Concentration of Irbesartan and the Antihypertensive

Response Is Disclosed by an Angiotensin II Type 1 Receptor Polymorphism: Results From the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs. Atenolol (SILVHIA) Trial *American Journal of Hypertension*. 2008,21(7): 836–839,

106. Hallberg, Pära; Karlsson, Juliaa; Kurland, Lisaa; Lind, Larsa,b; Kahan, Thomasc; Malmqvist, Karinc; Öhman, K. Peterb,d; Nyström, Fredrikd,e; Melhus, Håkana The CYP2C9 genotype predicts the blood pressure response to irbesartan: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial, Journal of Hypertension: 2002;20(10):2089-2093.

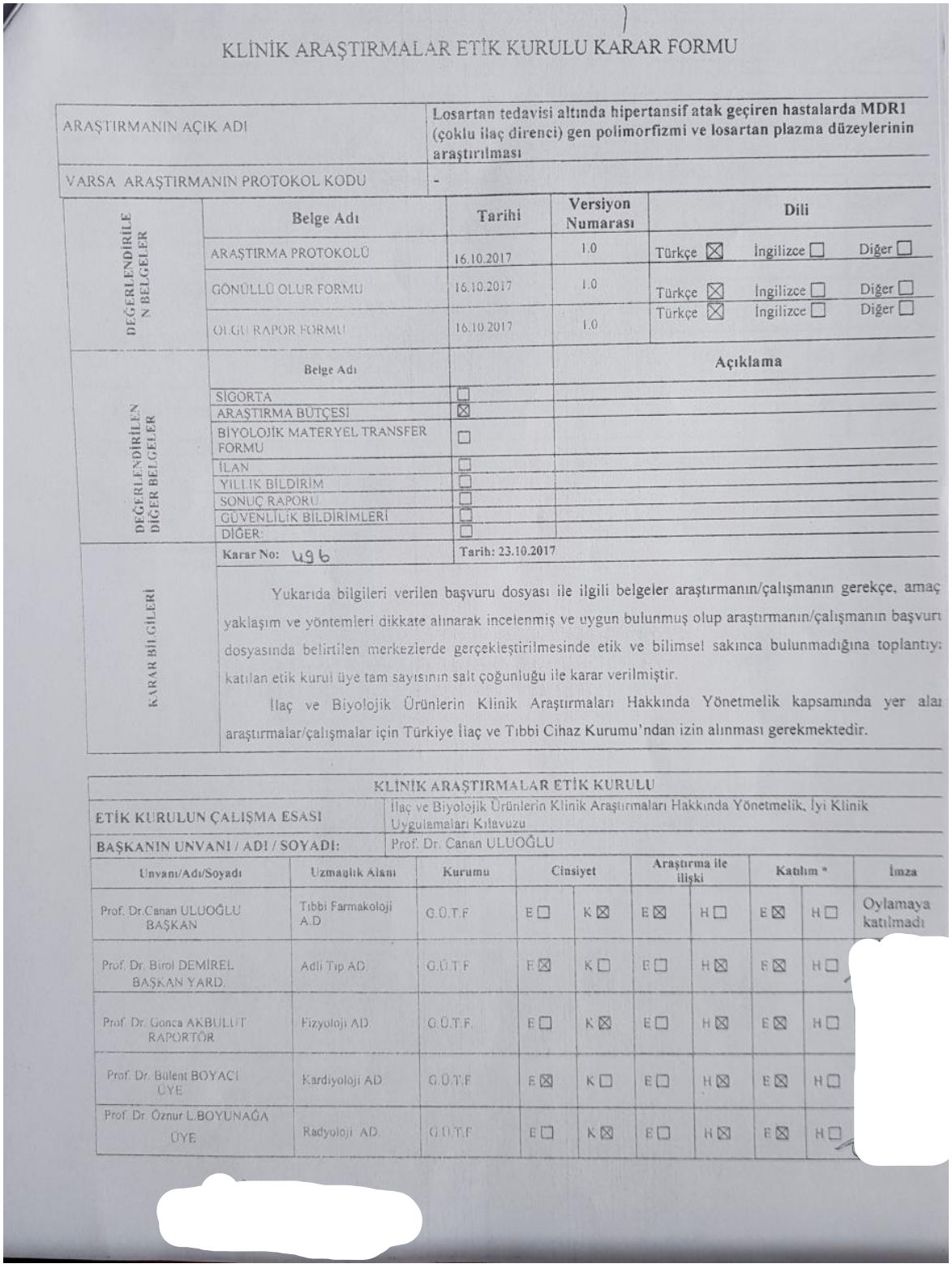
107. Jan R Ortlepp, Peter Hanrath, Vera Mevissen, Gerhard Kiel, Martin Borggrefe, Rainer Hoffmann, Variants of the CYP11B2 gene predict response to therapy with candesartan European Journal of Pharmacology 2002;445(1-2): 151-152.

108. Hong, X., Zhang, S., Mao, G., Jiang, S., Zhang, Y., Yu, Y., Tang, G., Xing, H., & Xu, X. (2005). CYP2C9*3 allelic variant is associated with metabolism of irbesartan in Chinese population. *European journal of clinical pharmacology*, *61*(9), 627–634.

109. Hanatani, T., Fukuda, T., Ikeda, M., Imaoka, S., Hiroi, T., Funae, Y., & Azuma, J. (2001). CYP2C9*3 influences the metabolism and the drug-interaction of candesartan in vitro. *The pharmacogenomics journal*, *1*(4), 288–292.

EKLER

EK 1.Etik Kurul Onayı



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Losartan tedavisi altında hipertansif atak geçiren hastalarda MDR1 (çoklu ilaç direnci) gen polimorfizmi ve losartan plazma düzeylerinin araştırılması**
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	16.10.2017	1.0	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	16.10.2017	1.0	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	16.10.2017	1.0	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

KARAR BİLGİLERİ

Karar No: 496 **Tarih: 23.10.2017**

Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Canan ULUOĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E☐	K☒	E☒	H☐	E☒	H☐	Oylamaya katılmadı
Prof. Dr. Birol DEMİREL BAŞKAN YARD.	Adli Tıp AD	G.Ü.T.F	E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Prof. Dr. Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji AD	G.Ü.T.F.	E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	
Prof. Dr. Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji AD	G.Ü.T.F	E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Prof. Dr. Öznur L.BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji AD.	G.Ü.T.F	E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı: ÇİMEN, Üzeyir

Uyruğu: T.C.

Eğitim Derecesi	**Okul/Program**	**Mezuniyet yılı**
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji	Devam ediyor
Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi	2011
Lise:	Eskişehir Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi	**Çalıştığı Yer**	**Görev**
2019- devam ediyor	Denizli Servergazi Devlet Hastanesi	Uzm.Dr.
2015-2019	Pamukkale Üniversitesi Hastanesi	Arş.Gör.Dr.
2014-2015	Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Asistan Dr.
2014-2014	Bayat Dr.Mete Tan İlçe Devlet Hastanesi	Tabip
2013-2014	Afyonkarahisar Bolvadin 4 Nolu Asm	Tabip
2012-2013	Emirdağ Gömü Asm	Tabip
2011-2012	Bayat Merkez Asm	Tabip
2011-2011	Bayat Dr.Mete Tan İlçe Devlet Hastanesi	Tabip

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar:

1. Cimen, U., Yilmaz, A., Cimen, Y. K., Seyit, M., Ozen, M., Erdur, B., Turkcuer, I., and Oncel, G. (2021). Comparative evaluation of intravenous dexketoprofen and paracetamol in the management of pain induced by sore throat. *International journal of clinical practice*, *75*(10), e14511. https://doi.org/10.1111/ijcp.14511
2. Oncel, G., Yilmaz, A., Sabirli, R., Cimen, Y. K., Ozen, M., Seyit, M., Turkcuer, I., and Cimen, U. (2021). Comparative evaluation of the efficacy of intravenous paracetamol and ibuprofen on the treatment of tonsillopharyngitis with fever: A prospective, randomized controlled, double-blind clinical trial. *Turkish journal of emergency medicine*, *21*(4), 177–183. https://doi.org/10.4103/2452-2473.329629



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

