



Alexandria University  
Institute of Graduate Studies and Research  
Department of Biotechnology



# **Response to Warfarin in Egyptian Patients: A Clinical Pharmacogenetics Study**

A thesis Submitted to the Department of Biotechnology,  
Institute of Graduate Studies and Research,  
Alexandria University

**In partial fulfillment of the requirements of**

**PhD Degree**

**In**

**Biotechnology**

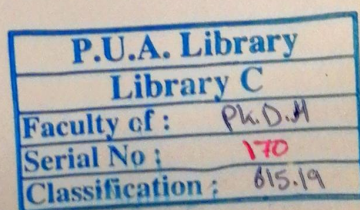
**Presented By**

**Lamia Said Mahmoud Kandil**

Bs.c of Pharmaceutical Sciences-Faculty of Pharmacy, Alexandria University, 2007.  
Master of Biotechnology - Institute of Graduate Studies and Research, Alexandria  
University, 2012

**Department of Biotechnology  
Institute of Graduate Studies and Research,  
Alexandria University**

2015



## الملخص العربي

الوارفارين هو الدواء الأكثر استخداماً للوقاية من الجلطات الوريدية والسكتة الدماغية، فإنه يصنف أيضاً عالية بين الأدوية التي تسبب آثار جانبية خطيرة. المؤشر العلاجي الضيق إلى جانب التباين الكبير في جرعة الوارفارين بين الأفراد يضع المرضى في خطر متزايد للأحداث النزفية، وقد يرجع التغيير في متطلبات الجرعة إلى الاختلافات بين الأفراد في العوامل الطبيعية والشخصية والوراثية. السيتوكروم CYP 450 2C9 - هو انزيم الاساسي الذي ينهي التأثير المضاد للتجلط للوارفارين وذلك عن طريق تحفيز تحويل أكثر S warfarin الاكثر فاعليه لعنصره الخاملة. الوارفارين يمارس تأثير مضاد للتجلط عن طريق الحد من تجديد فيتامين من K فيتامين K إيبوكسيد في دورة K فيتامين، من خلال تثبيط اختزال فيتامين K إيبوكسيد. يتم ترميز هذا البروتين مؤخرًا إلى الجين (VKORC1 vitamin K epoxide reductase complex 1 subunit 1). وقد أجريت هذه الدراسة على 100 حالة في بداية العلاج بالوارفارين. تم الحصول على الموافقة المسبقة من كل مريض قبل المشاركة في هذا العمل. تم حساب متوسط الجرعة اليومية للوارفارين (ملغ) من السجلات الطبية للمريض. لكل مريض، كان التباين في جرعة الوارفارين > 10٪ والنسبة المستهدفة الدولية (INR) ضمن النطاق المستهدف العلاجي (2-3) وبالنسبة للمرضى بعد استبدال صمام و الانسداد الرئوي المتكرر (2.5-3.5)، كان مطلوباً لمدة 3 أشهر على الأقل واحد من المؤشرات التالية (تجلط الأوردة العميقة والانسداد الرئوي، والسكتة الدماغية واحتشاء عضلة القلب) قبل إدراجها في الدراسة. وقد أجريت الدراسة الوراثية الجزيئية لتحديد الأشكال الوراثة CYP2C9 \* 2، CYP2C9 \* 3، و VKORC1 > A1639. تم تحديد الأنماط الجينية مع tetraprimer التضخيم نظام طفرة الحرارية (T-ARMS) باستخدام بادئات الخارجي والداخلي محددة. تم تحليل الوارفارين في البلازما باستخدام فحص fluorescence السريع. كان متوسط جرعات الوارفارين في المرضى الذين يعانون من النمط الجيني AA أقل بكثير (2.0 ± 1.04) مقارنة مع النمط الجيني GG، p < 0.001. ومن ناحية أخرى، لم تظهر ترابط ذات دلالة إحصائية للافيدل للـ CYP2C9. و اثبتت النتائج أن حاملي الالفيل البديل لل-cyp2c9 يكون تركيز الوارفارين في البلازما أعلى من حاملي لالفيل البري. أظهرت النتائج أن CYP2C9 \* 2/3 يؤدي إلى زيادة خطر النزيف، وزيادة الخطر مع المرضى مماثل للالفيل البديل CYP2C9 الذي ربما ربط إلى زيادة خطر الإصابة INR فوق العلاجية ومن ناحية أخرى الالفيل البديل VKORC1 لا يرتبط بزيادة كبيرة في خطر النزيف. و استنتج من دراستنا أيضاً أن وجود الالفيل البديل VKORC1 أو CYP2C9 ارتبط مع زيادة كبيرة في مخاطر الإصابة بالجلطات الوريدية وأيضاً مزيداً من الوقت لتحقيق جرعات مستقرة والوصول إلى INR العلاجي بالمقارنة مع النوع البري. في هذه الدراسة، الجرعة الموصى بها من الوارفارين تسبب انخفاض ملحوظ في نشاط DMN dI بنسبة 23٪ (\* P = 0.007) في المجموعة التي تلقت العلاج بجرعة واحدة والجرعات المتكررة من الوارفارين تسببت زيادة ملحوظة في نشاط DMN dI بنسبة 31٪ لتأكيد نتائج هذا الاختبارم القيام باللطخة الغريبه ووجد أن الجرعات المتكررة الموصى بها من الوارفارين تحفز من التعبير عن CYP2E1. بالمقارنة مع مجموعة المراقبة، إلا أن جرعة واحدة من الوارفارين أثبتت هذا التعبير مقارنة بالمجموعة الضابطة وهو ما يتفق مع النشاط DMN dI. في هذه الدراسة، فقد انخفض نشاط AHH بنسبة 51٪ بعد علاج الفئران بجرعة متكررة من الوارفارين لمدة 11 يوماً متتالية في هذه الدراسة، تسببت جرعة الوارفارين (P < 0.05) في زيادة كبيرة في نشاط ECOD بنسبة 51٪ و 151٪ مع قيمة \* P = 0.004 ، P2 < 0.001 لمجموعات الجرعة الواحدة والمتكررة على التوالي. كانت اللطخة الغريبه للـ CYP2B1 / 2 والتي تمثل CYP2B6 البشري يؤكد نتائج هذا الاختبار ووجد أن الجرعات الموصى بها من الوارفارين من الجرعة الواحدة كما الجرعات المتكررة تحفز التعبير عن CYP2B1 / 2 عن CYP2E1. بالمقارنة مع مجموعة المراقبة و كانت هذه النتيجة متفقة مع زيادة نشاط ECOD. وفي هذه الدراسة، انخفض نشاط NADPH CYTOCHROME C REDUCTASE بنسبة 30٪ بعد علاج الفئران بجرعات متكررة من الوارفارين لمدة 11 يوماً متتالية و تم التحقيق في هذه الدراسة في تأثير الوارفارين على التعبير عن CYP3A4 و CYP2C6 و اثبتت النتائج أن الوارفارين يحفز من التعبير عن و كان التحفيز بصورة أكبر في المجموعة المتكرره. و يرجع ذلك ربما إلى تفعيل constitutive (PXR) pregnane X receptor (CAR). androstane receptor (CAR). في هذه الدراسة تم تقييم النشاط GST في المجموعات الثلاث التي شملتها الدراسة. وأظهرت ازداد نشاط GST في مجموعة الجرعة المتكررة بنسبة 26.5٪ وفي هذا الإطار، كان هناك انخفاض في مستويات [TBARS] بنسبة 19٪ لمجموعة الجرعة الواحدة بينما لم يتأثر المستوى بعد العلاج بالجرعات المتكرره. وأظهرت الدراسة ان مستوى الجلوتاثيون لم يتأثر بعد العلاج بالجرعات المتكرره او الواحده من الوارفارين. في هذه الدراسة تم تقييم نشاط GPX وأظهرت النتائج أن هناك انخفاضاً كبيراً ذا دلالة إحصائية في نشاط GPX بعد العلاج بجرعه واحده من الوارفارين بنما لم يتأثر نشاط هذا الانزيم بالجرعات المتكرره. ولكن هذه الدراسة تظهر أن Glutathione reductase زاد بعد استخدام جرعات متكرره من الوارفارين لمدة 11 يوماً متتالي