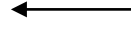


DİLEK ÖZTÜRK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

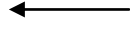
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2014

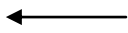


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak.



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**P-GLİKOPROTEİN SUBSTRATI TALİNOLOLÜN DİŞİ VE
ERKEK FARELERDEKİ FARMAKOKİNETİĞİ**

DİLEK ÖZTÜRK

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ALPER OKYAR**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Farmakoloji Programında Dilek Öztürk tarafından hazırlanan P-glikoprotein substratı talinololün dişi ve erkek farelerdeki farmakokinetiği başlıklı Yülsek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

07 / 01 / 2014

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. Sönmez UYDEŞ DOĞAN	<i>İstanbul Üniv. Farmakoloji</i>
2.Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU	<i>Marmara Üniv. Farmakoloji</i>
3.Doç. Dr. Alper OKYAR	<i>İstanbul Üniv. Farmakoloji</i>
4.	
5.	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dilek ÖZTÜRK



İTHAF

Sevgili Aileme ithafen...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel ve mesleki tecrübelerinden yararlandığım, manevi desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. B.Sönmez UYDEŞ DOĞAN’a,

Tez çalışmamın her aşamasında ve yüksek lisans eğitimim süresince büyük bir sabır ve titizlikle bana yardımcı olan ve yol gösteren; bilgi ve tecrübelerini paylaşan, anlayış ve hoşgörüsüyle her konuda desteğini hissettiğim çok değerli danışman hocam Sayın Doç.Dr. Alper OKYAR’a,

Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren, manevi desteğini her zaman hissettiğim sevgili hocam Sayın Arş.Gör.Dr. Zeliha PALA KARA’ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel tecrübelerinden yararlandığım ve yanırlarında eğitim almaktan gurur duyduğum Anabilim Dalımız Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ, Yrd. Doç. Dr. F. İlkay ALP YILDIRIM, Yrd. Doç. Dr. Selçuk TAKIR, Yrd. Doç. Deniz KALELİ DURMAN ve Arş.Gör.Dr. Nihan ÇARÇAK’a,

Tez çalışmalarımın istatistiki analizi konusunda destek sağlayan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. Mehmet N. ORMAN’a

Her türlü yardımları ve destekleri ile her zaman yanımda olan dostlarım ve değerli çalışma arkadaşlarım Arş.Gör. Narin ÖZTÜRK, Uzm.Ecz. Gülsev ÖZEN, Uzm.Ecz. İsmail Hakkı ALTUN, Ecz. Zeynep ORTAKÖYLÜ, Ecz. Selin YAMAKOĞLU ve Anabilim Dalı görevlimiz Erdal DOĞAN’a,

Tüm hayatım boyunca destek ve ilgileri ile hep yanımda olan, yüksek lisans eğitimim boyunca sabır ve anlayış gösteren, sıkıntılarımla paylaşan değerli AİLEME,

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31183.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. ABC Taşıyıcı Proteinleri.....	4
2.2. P-glikoprotein (P-gp, ABCB1, MDR1)	6
2.2.1. P-gp'nin Moleküler Yapısı.....	6
2.2.2. P-gp İzoformları.....	7
2.2.3. P-gp'nin Dokulardaki Ekspresyonu ve Fonksiyonu	8
2.3. P-gp'nin İlaç Farmakokinetiğindeki Rolü	10
2.3.1. İlaç Absorpsiyonundaki Rolü.....	10
2.3.2. İlaç Dağılımındaki Rolü.....	13
2.3.2.1. Kan – Beyin Bariyeri	13
2.3.3. İlaç Metabolizmasındaki Rolü	14
2.3.4. İlaç Atılımındaki Rolü	16
2.3.4.1. Safra İle Atılım.....	16
2.3.4.2. İdrar İle Atılım	18
2.4. Cinsiyete Bağlı Farklılıklar.....	19
2.4.1. ABC Taşıyıcı Proteinlerinin Ekspresyon ve Fonksiyonunda Cinsiyete Bağlı Farklılıklar.....	19
2.4.2. P-gp'nin Ekspresyonunda ve Fonksiyonunda Cinsiyete Bağlı Farklılıklar	22
2.4.2.1. Steroidler ve P-glikoprotein Regülasyonu	23

2.4.2.2. Cinsiyet ve İlaç Etkisi	25
2.5. P-gp Substratları.....	27
2.6. P-gp İnhibitörleri.....	29
2.7. Talinolol.....	33
2.7.1. Tanımı ve Tarihçesi	33
2.7.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	33
2.7.3. Farmakodinamik Özellikleri	34
2.7.4. Farmakokinetik Özellikleri	35
2.7.4.1. Absorpsiyonu	35
2.7.4.2. Dağılımı.....	36
2.7.4.3. Metabolizması.....	36
2.7.4.4. Eliminasyonu.....	37
2.7.5. Endikasyonları	37
2.7.6. Kontrendikasyonları.....	38
2.7.7. Yan Etkileri	38
2.7.8. Dozu ve Veriliş Yolu	38
2.7.9. İlaç Etkileşmeleri	39
2.7.10. Müstahzarları	39
2.8. Zosukidar	40
2.8.1. Tanımı ve Tarihçesi	40
2.8.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	40
2.8.3. Farmakodinamik Özellikleri	41
2.8.3.1. Sitokrom P-450 Üzerine Etkileri.....	42
2.8.3.2. Zosukidarın İn vivo etkinliğinin değerlendirilmesi.....	42
2.8.4. Farmakokinetik Özellikleri	44
2.8.5. Dozu ve Veriliş Yolu	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Deney Hayvanları	46
3.2. Kullanılan İlaçlar ve Formülasyonu.....	46
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	47
3.4. Kullanılan Aletler.....	47
3.5. Bilgisayar Programları	48
3.6. İn vivo çalışmalar.....	48

3.7. Talinololün Fare Plazmasından Ters Faz Kromatografi İle Tayini	49
3.7.1. Analitik Tayin Metodu.....	49
3.7.2. Mobil Fazın Hazırlanışı	50
3.7.3. Biyoanalitik Yöntemin Validasyonu.....	50
3.7.4. Talinololün Plazmadan Ekstraksiyonu.....	50
3.8. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması	51
3.9. İstatistiksel Analiz.....	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. Biyoanalitik Yöntem Validasyonuna Ait Bulgular.....	52
4.1.1. Talinolol Standartlarına ait Kromatogram Örnekleri.....	52
4.1.2. Tayin Sınırları	52
4.2. Talinololün Zosukidar Varlığında Dişi ve Erkek Farelerdeki Bulguları	54
4.3. In vivo çalışmalarda ilaç uygulaması sonrası farelerde gözlenen davranış ve aktivite değişiklikleri	62
5. TARTIŞMA	63
6. KAYNAKLAR	69
ETİK KURUL KARARI	85
ÖZGEÇMİŞ	86

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: İnsanda ABC üst familyasına ait proteinlerin sınıflandırılması.....	5
Tablo 2-2: İnsanlarda ve kemirgenlerde P-gp izoformları.....	8
Tablo 2-3: P-gp'nin dokulardaki ekspresyonu ve fonksiyonu.....	9
Tablo 2-4: ABC familyasına dahil bazı taşıyıcı proteinlerin cinsiyete bağlı farklılıkları.	20
Tablo 2-5: P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre gruplandırılması.....	28
Tablo 2-6: P-glikoprotein inhibitörlerinin (MDR modülatörlerinin) sınıflandırılması	32
Tablo 2-7: 12 sağlıklı gönüllüye oral yoldan tek doz halinde 50 mg dozda uygulanan talinolole ait farmakokinetik parametreler.....	37
Tablo 2-8: Kanser hastalarında yapılan Faz I çalışmasında i.v. infüzyon ile verilen zosukidarın farmakokinetik özellikleri	45
Tablo 3-1: Deney grupları.....	48
Tablo 3-2: Talinololün fare plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar	49
Tablo 4-1: C57BL/6J dişi ve erkek farelere 20 mg/kg dozda i.p. uygulanan talinolole ait hesaplanan farmakokinetik veriler.....	56
Tablo 4-2: C57BL/6J dişi ve erkek farelere talinololün tek başına ve zosukidar ile birlikte i.p uygulanmasını takiben saptanan talinolole ait plazma konsantrasyon verileri..	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: ABC taşıyıcı proteinlerinden P-gp'nin efluks (dışa atım) fonksiyonu.....	6
Şekil 2-2: İnce bağırsak epitel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC taşıyıcı proteinlerinin lokalizasyonu.	12
Şekil 2-3: Beyin kapiller endotel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları.	14
Şekil 2-4: İnsan enterositlerinde intestinal CYP3A4 ve P-glikoprotein fonksiyonel etkileşimi.....	15
Şekil 2-5: Karaciğerde P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu - http://www.solvobiotech.com 'dan değiştirilerek.	17
Şekil 2-6: Böbrekte P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu.	18
Şekil 2-7 : Talinololün kimyasal yapısı	34
Şekil 2-8: Zosukidar'ın açık kimyasal formülü.	40
Şekil 4-1: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (boş plazma numunesinin ekstraksiyonu).....	53
Şekil 4-2: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (1µg/ml'lik numune ekstre edilmiştir).	53
Şekil 4-3: Talinololün metanoldeki standart çözeltisine ait kromatogram (1µg/ml).....	54
Şekil 4-4: TAL (erkek) ve TAL+ZSQ (erkek) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama ± SE).	58
Şekil 4-5: TAL (dişi) ve TAL+ZSQ (dişi) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama ± SE).....	58
Şekil 4-6: TAL (erkek) ve TAL (dişi) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama ± SE).	59
Şekil 4-7: TAL+ZSQ (erkek) ve TAL+ZSQ (dişi) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama ± SE).	59
Şekil 4-8: TAL (erkek) ve TAL+ZSQ (erkek) grubunda talinolole ait plazma AUC _{0-5.saat} değerleri (ortalama ± SE; µg.sa/ml).....	60
Şekil 4-9: TAL (dişi) ve TAL+ZSQ (dişi) grubunda talinolole ait plazma AUC _{0-5.saat} değerleri (ortalama ± SE; µg.sa/ml).....	60

Şekil 4-10: TAL (erkek) ve TAL+ZSQ (erkek) grubunda talinolole ait plazma C_{maks} değerleri (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$)	61
Şekil 4-11: TAL (dişi) ve TAL+ZSQ (dişi) grubunda talinolole ait plazma C_{maks} değerleri (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$)	61
Şekil 4-12: C57BL/6J soyu bir fare.	62

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABC: ATP-bağlayıcı kaset (ATP-binding cassette)

ABCB1: P-glikoprotein (insanda)

abcb1a/1b: P-glikoprotein (kemirgende)

ABCC1: Çoklu ilaç rezistansı ilişkili protein 1, MRP1 (insanda)

ABCG2: Meme kanseri rezistans proteini, BCRP (insanda)

ACTH: Adrenokortikotropik Hormon

ATP: Adenozin trifosfat

AUC: Plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altında kalan alan (Area Under The Curve)

BCRP: Meme kanseri rezistans proteini, insanda (breast cancer resistance protein)

BOS: Beyin omurilik sıvısı

BSEP: Safra tuzu atılım pompası (bile salt exporting protein)

Caco-2: İnsan kolon adenokarsinom hücre dizisi

CCRF-CEM: İnsan akut lenfoblastik lösemi T hücreleri

CD56(+): Doğal öldürücü hücre

CEM/VLB₁₀₀: İlaça dirençli insan akut lenfoblastik lösemi hücreleri

C57BL/6J: C57 black (siyah) farelerin 6J soyu

CHOP: Siklofosfamid, Doksorubisin, Vinkristin, Prednison kombine tedavisi

CL_{tot} : Total klerens

CL_{cr}: Kreatinin klerensi

C_{maks}: Maksimum konsantrasyon

CV: Değişim katsayısı (Coefficient variation)

CYP450: Sitokrom P450 enzim sistemi

CYP3A4: Sitokrom P450 3A4 izoenzimi

F: Biyoyararlanım

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (U.S. Food and Drug Administration)

HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus)

HLB: Hidrofilik lipofilik denge (Hydrophilic lipophilic balance)

HPLC: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)

i.p. : İntraperitoneal

i.v. : İntravenöz

k_{el}: Eliminasyon hız sabiti

LLC-PK1: Domuz böbrek epitel hücreleri

LY335979: Zosukidar

MDCK: Madin-Darby köpek böbrek epitel hücreleri

MDR: Çoklu ilaç rezistansı (multidrug resistance)

MDR1: İnsanda çoklu ilaç rezistans proteini 1 (P-glikoprotein)

mdr1a/1b: Kemirgende çoklu ilaç rezistans proteini 1a/1b (P-glikoprotein)

mdr2: Kemirgende fosfolipid taşınmasından sorumlu P-gp izoformu (abcb4)

MDR3 (MDR2): İnsanda fosfolipid taşınmasından sorumlu P-gp izoformu (ABCB4)

mRNA: Mesajcı RNA

MRP1: Çoklu ilaç rezistansı ilişkili protein 1 (multidrug resistance associated protein 1)

NBD: Nükleotid bağlayan domain

P388/ADR: Lenfoma hücreleri

P-gp: P-glikoprotein

PXR: Pregnan X reseptörü

SD: Standart sapma (Standart deviation)

SE: Standart hata (Standart error)

SPE: Katı Faz Ekstraksiyonu (Solid Phase Extraction)

t_{1/2}: Eliminasyon yarılanma ömrü

t_{maks}: Maksimum konsantrasyona ulaşma zamanı

TAL: talinolol

TMD: Transmembranal domain

UCLA-P3: İnsan akciğer adenokarsinom hücre dizisi

UV/VIS: Ultraviyole / Vizibl

Vd: Sanal dağılım hacmi

X: Ortalama

ZSQ: Zosukidar

ÖZET

Öztürk, D. (2013). P-glikoprotein substratı talinololün dişi ve erkek farelerdeki farmakokinetiği. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

ABC (ATP-binding cassette) taşıyıcı üst familyasına ait ilaç taşıyıcı proteinler ilacın farmakokinetiğinde değişikliğe yol açan önemli bir faktördür, dolayısıyla taşıyıcıların ekspresyonlarında ve aktivitelerinde cinsiyete bağlı farklılık oluşması, ilacın farmakolojik etkisinde değişikliğe yol açabilir. Çalışmanın amacı; bir ilaç efluks proteini olan P-glikoprotein (P-gp) substratı talinololün erkek ve dişi C57BL/6J farelerdeki farmakokinetiğini in vivo olarak incelemektir. Çalışmada dişi ve erkek farelere i.p. yoldan 20 mg/kg talinolol ve/veya P-gp inhibitörü 30 mg/kg zosukidar gündüz periyodunda (ZT3) uygulanmıştır. Talinolol uygulamasını takiben farelerden 30, 60, 120, 240 ve 300. dakikalarda kan alınmış ve plazma talinolol konsantrasyonları valide edilmiş HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Zosukidar uygulaması ile erkek farelerde, kontrol grubuna göre talinolol C_{maks} ve AUC_{0-5sa} değerleri sırasıyla %57 ve %69 artış göstermiştir. Dişi farelerde ise, zosukidar uygulaması ile talinolol C_{maks} ve AUC_{0-5sa} değerleri kontrol grubuna göre sırasıyla %78 ve %102 artmıştır. Verilerin çift yönlü ANOVA kullanılarak yapılan istatistiki analizine göre, cinsiyetin talinololün AUC ve C_{maks} parametreleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p=0,97$ ve $p=0,49$). Zosukidarın, talinolol AUC değerleri üzerinde anlamlı şekilde yorumlanabilecek bir artış yaptığı ($p=0,05$) fakat C_{maks} üzerinde anlamlı bir artışa yol açmadığı görülmüştür ($p=0,25$). Çalışmamızın bundan sonraki aşamasında, talinololün dokulardaki düzeyinin belirlenmesi ve aynı deney prosedürünün gece periyodunda (ZT15) tekrar edilerek, zamana bağlı bir farmakokinetik farklılığın değerlendirmesi ile devam edilmesi planlanmaktadır. Çalışmamızın sonuçları, P-gp ile taşınan ilaçların farmakokinetiğinde cinsiyet farkının öneminin ortaya konması ve bu konuda yapılacak olan klinik çalışmalara temel teşkil etmesi yönlerinden önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: P-glikoprotein, talinolol, farmakokinetik, cinsiyete bağlı farklar, zosukidar.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31183.

ABSTRACT

Öztürk, D. (2013). Pharmacokinetics of P-glycoprotein substrate talinolol in female and male mice. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology. Master Thesis. Istanbul.

The member of the ABC (ATP-binding cassette) superfamily transport proteins are important players leading to change of drug pharmacokinetics. Therefore sex-related differences in expression and function of transport proteins may change the pharmacological effects of drugs. The aim of this study is to investigate in vivo pharmacokinetics of talinolol as a P-glycoprotein substrate in female and male C57BL/6J mice. In the study, 20 mg/kg talinolol and/or 30 mg/kg zosuquidar were administrated i.p. to female and male mice at day period (ZT3). Following talinolol administration blood samples were taken at 30, 60, 120, 240 and 300 min from mice. Plasma concentrations of talinolol were determined by using validated HPLC method. As a result of zosuquidar administration, in male mice talinolol C_{max} and AUC_{0-5h} values increased 57% and 69%, respectively as compared to control group. In female mice, talinolol C_{max} and AUC_{0-5h} values increased 78% and 102%, respectively as the stuff combined with zosuquidar. According to two way ANOVA, gender has no remarkable effect on talinolol AUC and C_{max} ($p= 0.97$ and $p= 0.49$) although zosuquidar almost significantly increased talinolol AUC values ($p= 0.05$). However, no significant effect was observed in C_{max} . ($p= 0.25$). In the next stage of our study, we plan to determine talinolol in tissues and evaluate time-dependent differences of pharmacokinetics via repetition the same experimental procedure at night period (ZT15). The result of our study is important as it revealed the importance of sex-related differences in pharmacokinetics of drugs transported by P-gp and it will provide basic knowledge on related clinical studies.

Key words: P-glycoprotein, talinolol, pharmacokinetics, sex-related differences, zosuquidar

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No.31183.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlaç etkinliğinin ve ilaca bağlı cevabın değişkenlik göstermesinde önemli bir faktör olarak görülen cinsiyete bağlı değişiklikler, sadece ilaç metabolizmasından sorumlu enzimler için değil, ABC (ATP-binding cassette) taşıyıcı üst familyasına ait ilaç taşıyıcı proteinler için de gösterilmiştir. ABC taşıyıcı üst familyası çeşitli ilaçların, ksenobiyotiklerin ve endojen bileşiklerin, biyolojik membranlardan taşınmasını sağlayan membran proteinlerinden oluşmaktadır. ABC proteinleri, substratlarını aktif olarak membranlardan pompalamak için ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan primer aktif taşıyıcılardır. Bu taşıyıcılar başlıca bağırsak segmentleri, karaciğer, böbrek gibi ilaç emilimi, metabolizması ve atılımından sorumlu organlarda eksprese olmaktadır. Taşıyıcıların ekspresyon ve fonksiyonel aktivitelerinde cinsiyete bağlı değişikliklerin oluşması, ilacın farmakolojik etkilerini, toksisitesini ve farmakokinetiğini değiştirebilen önemli etkenler olarak görülmektedir.

İlaç efluks taşıyıcılarından biri olan ve *ABCB1* (*MDR1*) geni tarafından kodlanan P-glikoprotein (P-gp), ilacın vücutta farmakolojik bariyerlerden geçişini sınırlandıran önemli bir araçtır. P-gp'nin doku spesifik lokalizasyonu, önemli bölgeler başta olmak üzere tüm vücudun zararlı ksenobiyotiklere karşı korunmasını sağlar (Chen ve ark. 2012).

Cinsiyet arası farklılıklar ilaç etkisinin regülasyonunda, uzun süredir araştırılmaktadır (Ofotukun ve ark. 2007). Karaciğer ilaç metabolizmasındaki farklılıklardan kaynaklanan cinsiyet ayrımı da, ilaç cevabında cinsiyetler arası değişkenliğin moleküler temelini açıklamak amacı ile dikkate alınmıştır (Franconi ve ark. 2007). İlaç metabolizması ve ilaç efluksu arasındaki olası dinamik etkileşimde, ilaçların yapısı ve terapötik cevap açısından cinsiyet değişikliklerinin kavranmasında P-gp gibi ilaç taşıyıcılarının önemli rolü bulunmaktadır (Benet ve Cummins 2001; Benet ve ark. 2003).

Cinsiyet farklı ilaca maruz kalma, ilaç yanıtı ve toksisitesinde tedavi etkinliğinin belirleyicilerinden biridir. Bu farklılığa birbiri ile ilişkili çok yönlü bir dizi fizyolojik ve moleküler araçlar eşlik etmektedir. Bireyselleştirilmiş tedavileri geliştirmek amacıyla stratejik bir çaba olarak FDA, klinik çalışmalara çocuk doğurma potansiyeli olan kadınların da dahil edilmesini onaylamış ve cinsiyetin güvenlik, etkinlik ve doz belirleme çalışmalarında değerlendirilmesi çağrısında bulunmuştur. Bununla birlikte, ilaç farmakokinetik ve farmakodinamiğinde cinsiyet farklılığı ilaca bağlı cevapta göz önünde bulundurulması gereken önemli bir değişken olarak kabul edilmiştir (Bebawy ve Chetty 2009).

Beta reseptör blokörü olarak halen tedavide kullanılan talinolol çok düşük metabolik klirensi, geniş terapötik aralığı, plazma proteinlerine düşük oranda bağlanması gibi avantajlı farmakokinetik özellikleri nedeniyle P-gp aracılı intestinal transportun değerlendirilmesinde ve P-gp ile ilişkili ilaç etkileşme çalışmalarında model bir bileşik olarak kullanılmaktadır (Wetterich ve ark. 1996; Spahn-Langguth ve ark. 1998; Fischer ve ark. 2005; Tubic ve ark. 2006b).

Zosukidar, en potent P-gp modulatorlerinden biridir. Diğer üçüncü kuşak modulatorler gibi zosukidarın da başka farmakolojik etkisi yoktur ve P-gp'ye yüksek afinite göstermesi için geliştirilmiştir (Pfister ve ark. 1995; Dantzig ve ark. 1996; Starling ve ark. 1997). Zosukidar P-gp'ye selektiftir, diğer taşıyıcı proteinleri inhibe etmez. Zosukidarın selektif ve potent bir modulator olması çoklu ilaç rezistansı çalışmalarındaki klinik önemini arttırmaktadır (Dantzig ve ark. 2001).

Çalışmadaki amacımız, saf P-gp substratı olan talinololün erkek ve dişi C57BL/6J farelerdeki farmakokinetiğini in vivo olarak incelemektir. Çalışmamızda talinolol tek başına veya P-gp'nin spesifik ve güçlü bir inhibitörü olan zosukidar ile birlikte intraperitoneal (i.p) yoldan dişi ve erkek C57BL/6J farelere uygulanmış ve belirlenmiş zaman aralıklarında kan örnekleri alınmıştır. Plazmadaki talinolol konsantrasyonları valide edilmiş yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiştir. P-gp fonksiyonunun cinsiyete bağlı değişimi talinolol farmakokinetiğindeki

değişiklikler ile değerlendirilmiştir. Muhtemel bir cinsiyete bağlı farklılığın varlığı, P-gp ile taşınan ilaçların farmakokinetiğinde cinsiyet farkının öneminin ortaya konması ve bu konuda yapılacak olan klinik çalışmalara temel teşkil etmesi yönlerinden önem arz etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ABC Taşıyıcı Proteinleri

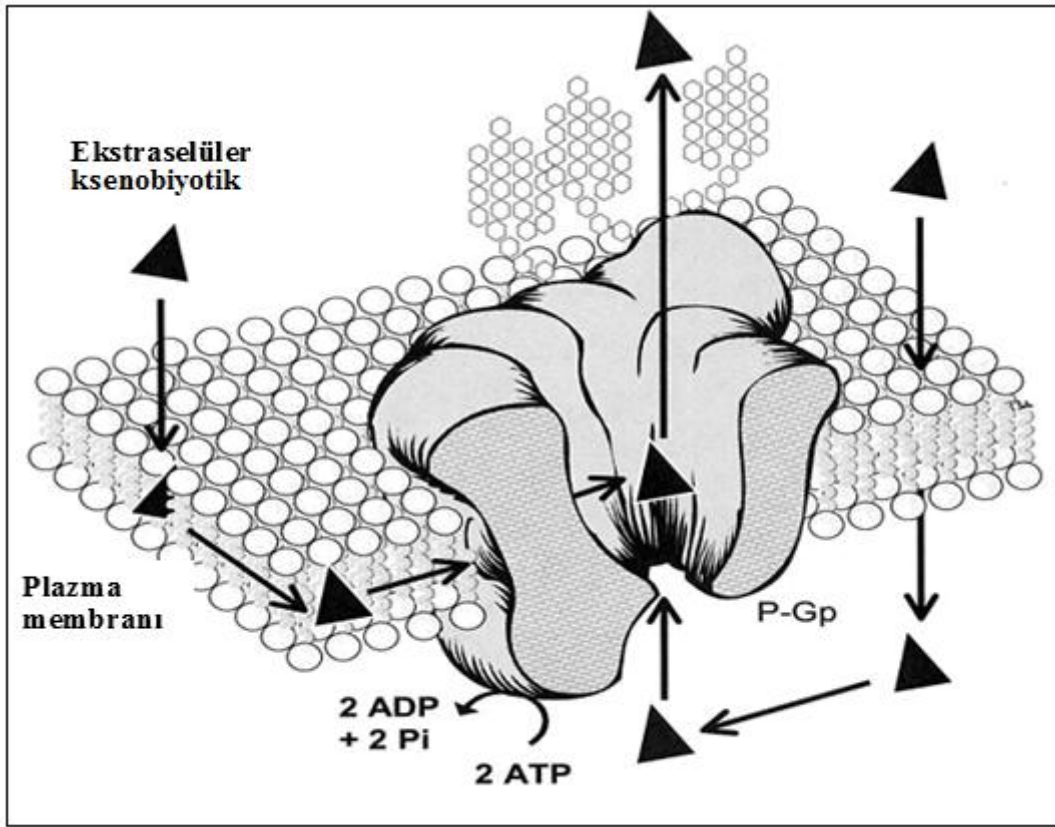
ABC (ATP-binding cassette) taşıyıcı üst familyası çeşitli ilaçların, ksenobiyotiklerin ve endojen bileşiklerin (fosfolipidler, steroller, safra asitleri, peptidler, amino asitler, polisakkaritler, inorganik iyonlar, metabolik ürünler) biyolojik membranlardan taşınmasını sağlayan membran proteinlerinden oluşmaktadır. ABC proteinleri, substratlarını aktif olarak membranlardan pompalamak için ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan primer aktif taşıyıcılardır. ABC taşıyıcı familyası oldukça farklı bileşikleri taşıyan yaklaşık 300 protein içermektedir ve bu familyanın proteinleri bakterilerden insanlara kadar tüm canlılarda bulunmaktadır. İnsan genomunda 49 gen ile temsil edilmekte olan bu üst familya, gen yapıları, domainlerinin sayısı ve organizasyonu, amino asit dizilim homolojileri temel alınarak 7 alt familyaya ayrılmıştır (Tablo 2-1) (Stavrovskaya ve Stromskaya 2008; Huls ve ark. 2009; Ravna ve Sager 2009; Padowski ve Pollack 2010).

ABC taşıyıcı proteinleri ağırlıklı olarak karaciğer, bağırsak, böbrek, kan-beyin bariyeri, kan-testis bariyeri ve plasenta gibi dokularda eksprese edilerek yapısal olarak farklı çeşitli ilaçların absorpsiyonları ve oral biyoyararlanımları ile hepatobiliyer, intestinal ve üriner atılımları üzerinde önemli rol oynarlar. Ayrıca ilaçların beyin, testis ve fetüs ile diğer bazı özel hücre ve doku kompartmanlarına penetrasyonlarını sınırlandırarak ilaç dağılımı üzerinde de majör etkilere sahiptirler. ABC taşıyıcılarından bazıları (MDR1, MRP1 ve BCRP gibi) ilaç farmakokinetiği üzerindeki etkilerinin yanı sıra özellikle tümör hücrelerinde aşırı eksprese edilerek kemoterapötik ilaçlara karşı gelişen çoklu ilaç rezistansından (multidrug resistance; MDR) da sorumludurlar (Schinkel ve Jonker 2003; Aszalos 2007; Huls ve ark. 2009).

Tablo 2-1: İnsanda ABC üst familyasına ait proteinlerin sınıflandırılması – Stavrovskaya ve Stromskaya (2008)’den değiştirilerek

Alt Familya	Alternatif İsim	Protein Sayısı	İlaç Rezistansına Neden Olan Proteinler	
			İsim	Sayı
ABCA	ABC1	12	ABCA2	1
ABCB	MDR	11	ABCB1 (P-gp)	3
			ABCB4 (MDR2)	
			ABCB11 (BSEP)	
ABCC	MRP	13	ABCC1 (MRP1)	8
			ABCC2-6 (MRP2-6)	
			ABCC10 (MRP7)	
			ABCC11 (MRP8)	
ABCD	ALD	4		
ABCE	OABP	1		
ABCF	GCH20	3		
ABCG	White	5	ABCG2 (BCRP)	1

Yapısal analizler, taşıyıcı molekülün transmembranal heliksleri tarafından membran içinde geniş bir cep oluşturulduğunu ortaya koymuştur. Bu cep, membranın içine doğru substratların cebin içine girebileceği iki lateral açıklığa sahiptir. Genel olarak kabul edilen modele göre ilaçlar sitozolden veya çift tabakalı membranın sitoplazmik yaprağından taşıyıcının yüksek afiniteli bağlanma bölgesine girer ve bağlanır. Taşıyıcının intraselüler nükleotid bağlayıcı domainlerine ATP bağlanması ile oluşan güçlü konformasyonel değişiklik sonucunda lateral açıklıklar kapanır ve ilaç bağlayıcı ceplerin ilaca afinitesi azalarak ilacın ekstraselüler ortama atılmasına yol açar. ATP hidrolizini takiben taşıyıcı molekül substratlara yüksek afinite gösteren başlangıçtaki orijinal konformasyonunu yeniden oluşturur (Loo ve Clarke 2008; Stavrovskaya ve Stromskaya 2008; Seeger ve van Veen 2009). ABC taşıyıcı proteinlerinden üzerinde en çok çalışılan protein olan P-gp’nin efluks fonksiyonu Şekil 2-1’de gösterilmiştir.



Şekil 2-1: ABC taşıyıcı proteinlerinden P-gp'nin efluks (dışa atım) fonksiyonu – Marzolini ve ark. (2004)' ten değiştirilerek.

2.2. P-glikoprotein (P-gp, ABCB1, MDR1)

2.2.1. P-gp'nin Moleküler Yapısı

ABC üst familyasının ilk keşfedilen üyesi olan P-gp, ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan ve efluks pompası işlevi gören bir membran proteinidir. ABC familyasının ABCB alt familyasına ait olan P-gp insanlarda 7q21.1 kromozomda yer alan *MDR1/ABCB1* geni tarafından kodlanmaktadır ve klonlanan ilk ABC taşıyıcısıdır. P-gp, özellikle tümör hücrelerinde kemoterapi ilaçlarına karşı gelişen çoklu ilaç rezistansı ve ilaç farmakokinetiğindeki önemli rolünden dolayı ABC üst familyasının üzerinde en çok çalışılan ve en iyi karakterize edilen proteinidir (Lin ve Yamazaki 2003; Varma ve ark. 2003; Marzolini ve ark. 2004; DuBuske 2005). P-gp (MDR1), ilk defa 1976 yılında Juliano ve Ling tarafından, kolşisine dirençli Çin hamsteri yumurtalık

hücrelerinde aşırı eksprese edilen ve yapısal olarak farklı ilaçlara karşı direnç gösteren bir yüzey glikoproteini olarak tanımlanmıştır. Bu glikoprotein yapısal olarak birbiriyle ilişkili olmayan çeşitli ilaca karşı membran permeabilitesini modüle edici etkisinden dolayı “Permeability” kelimesinin baş harfı olan “P” harfı ile adlandırılmıştır (Juliano ve Ling 1976; Takano ve ark. 2006).

P-gp 1280 amino asitin birleşmesinden oluşur ve molekül ağırlığı 170 kilodalton’dur. Tek bir polipeptid zinciri üzerinde, eşit uzunlukta iki homolog bölümden membrana bağlıdır. Molekül altışar transmembranal segment içeren iki transmembranal domain (TMD) ve iki nükleotid bağlayan domain (NBD)’den oluşmaktadır. NH₂- ve COOH- terminali ve NBD’ler intraselüler olarak yerleşmiştir. Her bir NBD, Walker A ve B motifleri ile Signature C motifini içermektedir. Bu motifler nükleotidlerin direkt olarak bağlanmasında ve hidrolizinde rol oynamaktadır. İlk ekstraselüler kıvrım N-glikozillenmiştir. Oldukça hidrofobik olan transmembranal segmentler, substratların bağlanmasında ve atılmasında görev yaparken, son derece korunumlu bölgeler olan ATP bağlayan domainler, ATP hidrolizi ile substratların aktif olarak taşınması için gerekli enerjiyi sağlarlar. P-gp üzerinde yapılan in vitro çalışmalar glikozilasyonun ATPaz aktivitesi ve transport fonksiyonunu etkilemediğini göstermiştir (Schinkel ve Jonker 2003; Varma ve ark. 2003; DuBuske 2005; Zhou 2008; del Amo ve ark. 2009).

2.2.2. P-gp İzoformları

İnsanlarda P-gp gen ailesinin iki üyesi (*ABCB1/MDR1* ve *ABCB3/MDR3*); fare ve sıçanlarda ise bu ailenin üç üyesi (*mdr1a*, *mdr1b* ve *mdr2*) bulunmaktadır. Fare ve sıçanlardaki *mdr1a* ve *mdr1b* birlikte insandaki *MDR1*’in görevini üstlenmektedir. İnsanda *MDR1* geni, fare ve sıçanlarda ise *mdr1a* ve *mdr1b* genleri tarafından kodlanan P-gp, ilaçların hücre dışına atılmasından ve çoklu ilaç rezistansından sorumlu iken; insan *MDR3* geni ile fare ve sıçanlarda *mdr2* geni tarafından kodlanan P-gp’ler hepatositlerin kanaliküler plazma membranlarında lokalize olarak safraya fosfolipid transportunda görev almaktadırlar (Zhang ve Benet 2001; Lin ve Yamazaki 2003; Klaassen ve Aleksunes 2010). *MDR3*’ün fosfolipidlere ek olarak digoksin, paklitaksel

ve vinblastin gibi çeşitli ilaçların transportunda görev aldığı, *MDR3* transfer edilmiş hücrelerde yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Lin ve Yamazaki 2003). İnsan *MDR1* ile fare *mdr1a* arasında %82 ve insan *MDR1* ile fare *mdr1b* arasında %79 homoloji bulunmaktadır (del Amo ve ark. 2009). İnsanlarda ve kemirgenlerde eksprese edilen P-gp izoformları Tablo 2-2’de verilmiştir.

Tablo 2-2: İnsanlarda ve kemirgenlerde P-gp izoformları – Zhang ve Benet (2001)’den değiştirilerek.

Organizma	İlaç taşıyıcı protein	Fosfolipid taşıyıcı protein
İnsan	MDR1	MDR2 (MDR3)
Fare	mdr1a, mdr1b	mdr2
Sıçan	mdr1a, mdr1b	mdr2
Hamster	P-gp 1, P-gp 2	P-gp 3

2.2.3. P-gp’nin Dokulardaki Ekspresyonu ve Fonksiyonu

Monoklonal antikor kullanılarak gerçekleştirilen immünohistokimyasal analizler P-gp’nin, tümör hücrelerindeki ekspresyonunun yanı sıra, sağlıklı insan dokularında da büyük ölçüde eksprese edildiğini göstermiştir. İnsanlarda bu taşıyıcı, karaciğerde hepatositlerin kanaliküler yüzeyinde, böbreklerde proksimal tübüllerin epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde, ince bağırsakların ve kolonun silindirik epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde eksprese edilmektedir. P-gp ayrıca, beyin, periferik sinirler ve testislerde kapiller endotel hücrelerinin luminal yüzeyinde, koroid pleksus epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde, plasentanın epitel hücrelerinin (sinsitiyotrofoblast) apikal yüzeyinde eksprese edilerek kan-beyin ve kan-serebrospinal sıvı, kan-testis ve kan-plasenta gibi çeşitli kan-doku bariyerlerini oluşturmaktadır (Fromm 2002; Lin ve Yamazaki 2003; Balayssac ve ark. 2005). P-gp’nin dokulardaki lokalizasyonu ve fonksiyonu Tablo 2-3’te verilmiştir.

Yapılan çalışmalar, P-gp’nin pankreas kanalcıklarının apikal yüzeyinde, adrenal medulla ve korteksin yüzeyel hücrelerinde, kalp, hematopoietik kök hücreleri, doğal

öldürücü hücreler (natural killer cells), antijen sunan dentritik hücreler, T ve B lenfositleri ile retina, deri, özofagus, mide, iskelet kası gibi çeşitli hücre ve dokularda da eksprese edildiğini göstermiştir (Johnstone ve ark. 2000; Fromm 2002; Takano ve ark. 2006).

Tablo 2-3: P-gp'nin dokulardaki ekspresyonu ve fonksiyonu – Fromm (2002) ve Takano (2006)'dan değiştirilerek.

Doku	Lokalizasyon	Fonksiyon
İnce bağırsaklar ve kolon	Epitel hücrelerin apikal membranı	İlaçların bağırsak lümenine sekresyonu
Karaciğer	Hepatositlerin kanaliküler membranı	İlaçların safraya sekresyonu
Böbrek	Proksimal tübüllerin epitel hücrelerinin apikal membranı	İlaçların tübül lümenine sekresyonu
Santral sinir sistemi	Kapiller endotel hücrelerin luminal membranı	Santral sinir sistemini ksenobiyotiklere karşı koruma
Testis	Kapiller kan damarlarının endotel hücreleri	Kan-testis bariyeri
Plasenta	Trofoblastlar	Fetüsü ksenobiyotiklere karşı koruma
Göz	Retinal kapiller endotel hücreleri, konjonktiva epitel hücreleri, iris ve siliyer kas hücreleri	Kan-oküler bariyeri

P-gp'nin anatomik lokalizasyonu ve efluks fonksiyonu göz önüne alındığında ilaçların farmakokinetiği üzerinde 3 farklı yolla etkili olduğu görülmektedir (Fromm 2004; Marchetti ve ark. 2007; Padowski ve Pollack 2010):

1.Gastrointestinal kanalda enterositlerin apikal (luminal) membranında eksprese olan P-gp, oral yoldan alınan substratlarının enterositlere alınmasını sınırlandırarak absorpsiyonlarını ve dolayısıyla oral biyoyararlanımlarını etkileyebilir. Ayrıca, intestinal sekresyonla kandan bağırsak lümenine atılmalarını kolaylaştırarak intestinal atılımlarını artırabilir.

2.Böbreklerde proksimal tübül hücrelerinin apikal membranında ve karaciğerde hepatositlerin kanaliküler membranında eksprese edilen P-gp, kan dolaşımına geçen

ilaçların sırasıyla idrar ve safra ile atılımlarını hızlandırarak ilaç eliminasyonuna ve detoksifikasyona katkıda bulunabilir.

3.Beyin, plasenta, testis, lenfosit gibi dokularda lokalize olan P-gp, çeşitli kan-doku bariyerini oluşturarak ilaçların duyarlı doku ve hücrelere penetrasyonlarını sınırlandırabilir ve bu hücrelerdeki akümüasyonlarını önleyebilir. P-gp, bu hassas dokuları zararlı maddelere karşı doğal koruma fonksiyonunu gerçekleştirirken, bir taraftan da ilaç dağılımını etkileyerek özellikle bazı ilaçların (antipsikotik ilaçlar, HIV proteaz inhibitörleri, antineoplastik ilaçlar) terapötik etkilerini göstermelerine engel olabilir.

P-gp, ilaçları ve diğer ksenobiyotikleri vücuttan uzaklaştırarak doğal bir savunma mekanizması işlevi görmesinin yanı sıra hormonlar ve fosfolipidler gibi endojen moleküllerin transportunda ve regülasyonunda da görev almaktadır (Balayssac ve ark. 2005).

2.3. P-gp'nin İlaç Farmakokinetiğindeki Rolü

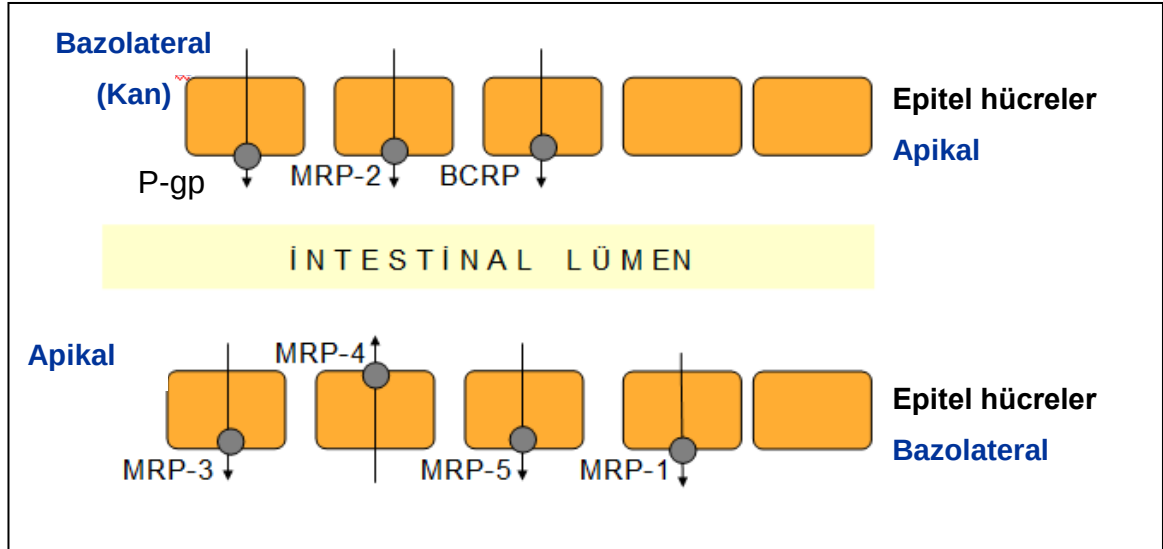
2.3.1. İlaç Absorpsiyonundaki Rolü

İlaçların hedef bölgelerine ulaşabilmeleri için çeşitli biyolojik bariyerleri aşmaları gerekir. Oral yoldan kullanılan ilaçların kan dolaşımına ve oradan da etkili oldukları bölgelere ulaşabilmeleri için geçmeleri gereken ilk büyük engel bağırsak epitelidir. Bağırsak duvarı, dıştan içe doğru seroza, kas tabakası, submukoza ve mukoza tabakalarından oluşur. Bağırsak dokusunun lümene bakan yüzeyinde yer alan mukoza tabakası apikal membran olarak adlandırılırken, kılcak kan damarlarının bulunduğu submukoza tabakasına bazolateral membran adı verilir. İlaçların absorpsiyonu apikal membrandan bazolateral membrana doğru ($A \rightarrow B$) iken, kandan bağırsak lümenine sekresyon (intestinal sekresyon) bazolateralinden apikal membrana doğru ($B \rightarrow A$) gerçekleşir (Lin ve ark.1999; Chan ve ark. 2004).

Bir transmembranal efluks taşıyıcısı olan P-gp, gastrointestinal kanalda, özellikle kolon ve ileumda, kolumnar (silindirik) epitel hücrelerinin apikal membranında (fırça kenarlı membran) yüksek miktarda ekprese edilmektedir. P-gp ekspresyonu jejunum, duodenum ve mideye doğru giderek azalmaktadır. P-gp ekspresyonunun duodenumdan ileuma doğru arttığı kemirgenlerde ve insanlarda yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Ekspresyon kolonda da yüksek olmakla beraber segmentler arası farklar gözlenmektedir. P-gp yapısal ve farmakolojik olarak birbiriyle ilişkili olmayan, nötral veya pozitif yüklü çok çeşitli hidrofobik bileşiği taşıyabilmektedir (Chan ve ark. 2004; Takano ve ark. 2006; Hu ve ark. 2003). P-gp, substratı olan ilaçların enterositlerin içine alınmasını kısıtlayarak emilimlerini azaltırken, enterositlerden dışarıya atılmalarını da kolaylaştırarak hücrel akümülyasyonlarını önlemektedir. Bu şekilde substrat ilaçların oral biyoyararlanımları ve intestinal klirensleri üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Takano ve ark. 2006; del Amo ve ark. 2009). İnce bağırsak epitel hücrelerinde ABC familyasına dahil olan P-gp'nin ve diğer taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu Şekil 2-2'de gösterilmiştir.

İntestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonundaki rolü ile ilgili direkt kanıtlar *mdr1a*^(-/-) knockout farelerin kullanıldığı in vivo çalışmalardan elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada paklitakselin oral absorpsiyonu, *mdr1a*^(-/-) ve *mdr1a*^(+/+) farelerde incelenmiştir. Paklitakselin intravenöz (i.v.) ve oral uygulanmasından sonra ölçülen plazma AUC değerleri *mdr1a*^(-/-) farelerde, *mdr1a*^(+/+) farelere göre sırasıyla 2 ve 6 kat yüksek bulunmuştur. Paklitakselin oral biyoyararlanımı *mdr1a*^(+/+) farelerde %11 iken *mdr1a*^(-/-) farelerde %35 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca paklitakselin i.v. uygulanmasından sonra kan dolaşımından intestinal lümene salgılanan miktarı *mdr1a*^(+/+) farelerde, *mdr1a*^(-/-) farelere göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. *mdr1a*^(-/-) farelerde, i.v. uygulama sonrasında, *mdr1a*^(+/+) farelere göre paklitakselin plazma düzeylerindeki artışı, eliminasyondaki azalmayı gösterirken, oral yoldan uygulanan paklitakselin plazma düzeylerindeki artışı hem eliminasyondaki azalmayı hem de intestinal lümeninden absorpsiyon derecesindeki artışı yansıtmaktadır. Bu in vivo çalışma intestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonu ve intestinal sekresyondaki rolünü açık bir şekilde ortaya koymaktadır. İntestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonundaki rolü digoksin ile yapılan

klirik bir çalışmayla da desteklenmiştir. Duodenal P-gp ekspresyonu ile digoksinin plazma düzeyleri arasında negatif bir korelasyon grlmştr (Lin ve Yamazaki 2003).



şekil 2-2: İnce bağırsak epitel hücrelerinde P-gp ve diğerk ABC taşıyıcı proteinlerinin lokalizasyonu.

Bir çalışmada, safra akımı engellenen *mdr1a*^(+/+) ve *mdr1a*^(-/-) farelere i.v. yoldan uygulanan digoksin dozunun intestinal lümene atılan miktarları 90 dakika süreyle izlenmiş ve sırasıyla %16 ve %2 olarak tespit edilmiştir (Lin ve Yamazaki 2003). Bir klinik çalışmada ise i.v yoldan uygulanan talinololün lümene sekrete edildiğik ve bu sekresyonun iyi bilinen bir P-gp inhibitörü olan verapamil tarafından inhibe edildiğik gösterilmiştir (Gramatte ve Oertel 1999). Sıçanlara hem i.v. hem de oral yoldan, talinolol ve verapamilin birlikte uygulandığik bir prelinik çalışmada; P-gp inhibitörü verapamilin, model bir P-gp substratı olan talinololün AUC ve C_{maks} değerklerini belirgin bir şekilde arttırdığik grlmştr (Spahn-Langguth ve ark. 1998). İnvitro alışmalar ile invivo prelinik ve klinik çalışmalardan elde edilen bu bulgular P-gp'nin, oral yoldan alınan substrat ilaçların bağırsak lümeninden absorpsiyonlarını sınırlandırarak oral biyoyararlanımlarında ve ayrıca kandan bağırsak lümenine geri salgılanmalarını sağılayarak intestinal eliminasyonlarında önemli rol oynadığiknı göstermektedir.

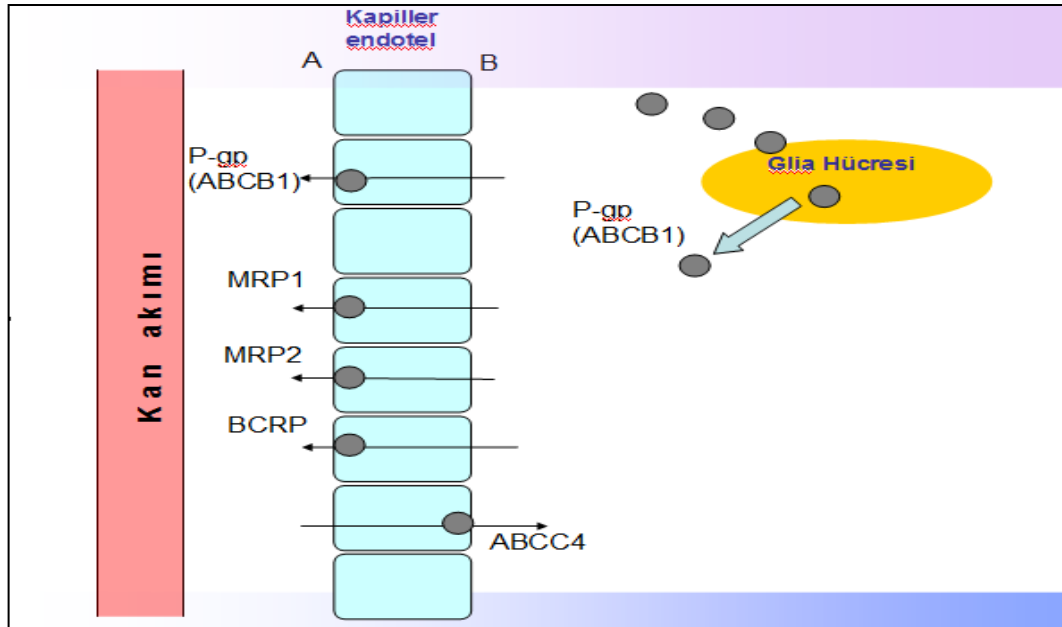
2.3.2. İlaç Dağılımındaki Rolü

2.3.2.1. Kan – Beyin Bariyeri

Beyin kapiller endotel hücrelerinin arasındaki sıkı kavşaklar nedeniyle ilaçların endotel hücrelerinin arasından (sulu fazdan, paraselüler) geçişlerine pek olanak yoktur. Sadece lipofilik ilaçlar endotel hücrelerinin içinden (transselüler) geçerek beyin dokusuna ve BOS'a (beyin-omurilik sıvısı) ulaşabilir. İlaçların beyine penetrasyonlarında lipofilite önemli bir faktör olmasına rağmen pek çok lipofilik ilacın (vinkristin, epipodofilotoksin vb.) beyne penetrasyonu zayıftır (Lin ve Yamazaki 2003; Urquhart ve Kim 2009). Monoklonal antikor kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda P-gp'nin beyin kapiller endotel hücrelerinin apikal yüzeyinde ve ayrıca BOS'u üreten sıkı kavşaklı koroid pleksus epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir (Fromm 2002; Urquhart ve Kim 2009). Bu bulgulara göre yağda çözünürlüğü yüksek bazı ilaçların beyine düşük oranda geçmelerinin, P-gp'nin efluks fonksiyonundan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Bu dokularda eksprese olan P-gp kan-beyin ve kan-serebrospinal sıvı bariyerini oluşturarak ilaçların beyin ve omurilik dokusu ile BOS'a geçmelerini engellemek ve geçmiş olanları kana geri atmak suretiyle ilaçların dağılımında önemli rol oynamaktadır (Lin ve Yamazaki 2003; Fromm 2004). Beyin kapiller endotel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları Şekil 2-3'de gösterilmiştir.

Transgenik fareler ile yapılan çalışmalarda, kan-beyin bariyerindeki P-gp'nin, kardiyovasküler ilaçlar (digoksin, kinidin), opioidler (morfin, loperamid, metadon), HIV proteaz inhibitörleri, ikinci kuşak antihistaminikler, bazı antidepresan ilaçlar ve antipsikotikler gibi çeşitli farmakolojik gruptaki ilaçların beyine girişlerinin engellenmesinde önemli rol oynadığı görülmüştür. P-gp substratlarının beyindeki düzeyleri *mdr1a*^(-/-) knockout farelerde normal farelere göre daha yüksektir. Bu farelerde P-gp eksikliği substrat ilaçların farmakolojik ve toksik etkilerini artırabilmektedir. *Mdr1a/1b*^(-/-) fareler asimadolinin sedatif etkilerine ve ivermektinin nörotoksik etkilerine

karşı normal farelere göre, sırasıyla 8 ve 100 kat daha duyarlıdır (Balayssac ve ark. 2005; Linnet ve Ejlsing 2008). İkinci kuşak antihistaminikler (örn. feksofenadin, setirizin) P-gp için substrat iken, birinci kuşak antihistaminiklerin P-gp substratı olmaması, ikinci kuşak antihistaminiklerin niçin sedatif etkilerinin olmadığını kısmen açıklayabilmektedir (Chishty ve ark. 2001). Antipsikotik bir ilaç olan risperidonun P-gp knockout farelerde, kontrol grubu farelerine göre 10 kat daha fazla beyin dokusuna geçtiği görülmüştür. Psikiyatride politerapinin oldukça yaygın olduğu göz önünde bulundurulduğunda, kan-beyin bariyerindeki P-gp ile ilişkili ilaç-ilac etkileşmelerinin oluşma riskine karşı dikkatli olunmalıdır (Linnet ve Ejlsing 2008).

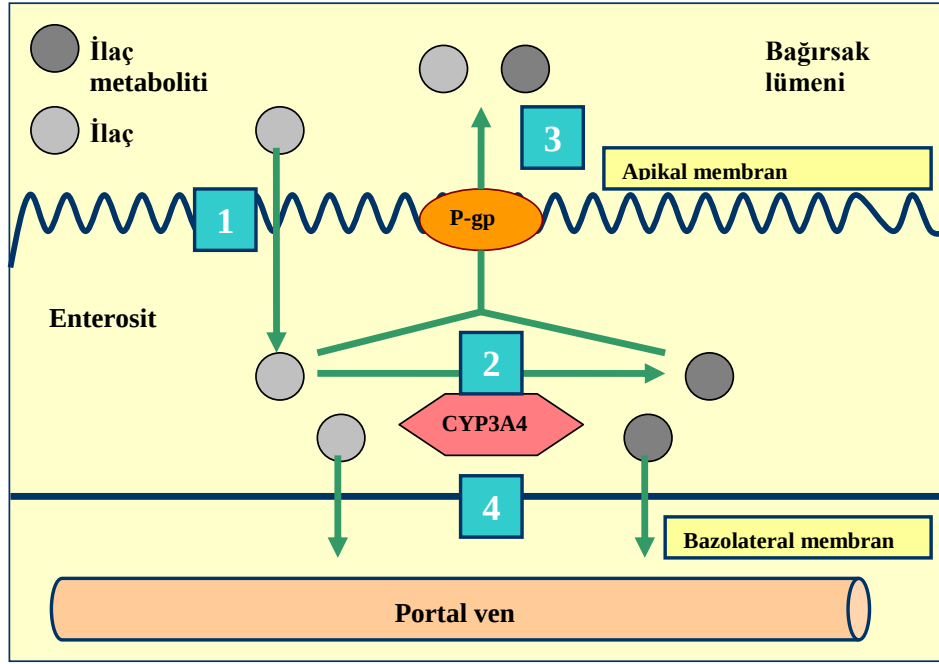


Şekil 2-3: Beyin kapiller endotel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları.

2.3.3. İlaç Metabolizmasındaki Rolü

Enterositler tarafından alındıktan sonra bazı ilaç molekülleri CYP3A4 tarafından metabolize edilmektedir. Metabolik çevrilmeden kaçan ilaç moleküllerinden bazıları kan dolaşımına geçerken bazıları hücrelerden P-gp tarafından lümene geri atılmaktadır. Lümene geri atılan ilacın bir kısmı feçesle atılırken bir kısmı enterositlere tekrar

girmektedir. Bu şekilde ilacın bağırsakta kalış süresi P-gp yardımıyla uzatılmış, aynı zamanda CYP3A4 tarafından lokal metabolik çevrilme olasılığı da arttırılmıştır (DuBuske 2005; Padowski ve Pollack 2010). Şekil 2-4'te intestinal CYP3A4 ve P-gp'nin fonksiyonel etkileşimi gösterilmiştir.



Şekil 2-4: İnsan enterositlerinde intestinal CYP3A4 ve P-glikoproteininin fonksiyonel etkileşimi.

(1) Pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılığıyla ilaç absorpsiyonu, (2) CYP3A4 aracılığıyla metabolizma, (3) Ana ilaç ve/veya metabolitlerinin P-gp tarafından enterositlerden bağırsak lümenine geri atılması, (4) Ana ilaç ve/veya metabolitlerinin enterositlerin bazal membranından pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılığıyla portal vene taşınması.

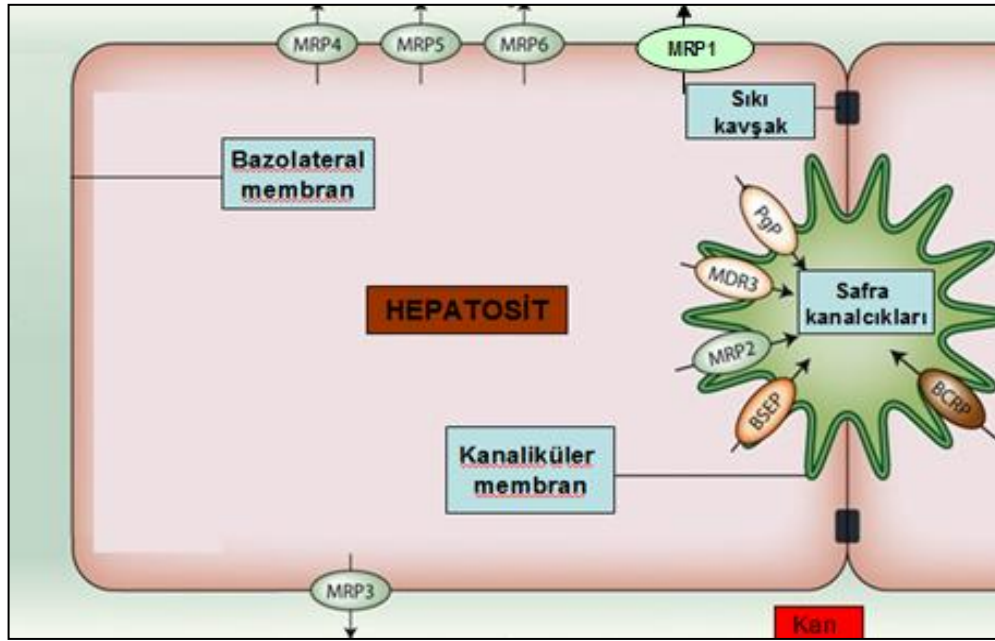
P-gp ve CYP3A4'ün substrat spesifitelerinin genellikle aynı olması, bu iki proteini kodlayan genlerin aynı kromozomun birbirlerine çok yakın lokuslarında lokalize olmalarından kaynaklanmaktadır. P-gp'yi kodlayan *MDR1* geni 7q21.1'de bulunurken, CYP3A4'ü kodlayan gen 7q22.1'de yer almaktadır. P-gp substratlarının çoğunun aynı zamanda CYP3A4 için de substrat olmasına rağmen bu kesin bir kural değildir. Örneğin, digoksin, feksofenadin ve talinolol P-gp'nin birer substratı oldukları halde CYP3A4 ile önemli ölçüde etkileşmemektedirler. Aynı şekilde bir CYP3A4 substratı olan midazolam, P-gp ile taşınmamaktadır (Choudhuri ve Klaassen 2006; Takano ve ark. 2006).

P-gp'nin intestinal metabolizmadaki rolünü aydınlatmak amacıyla yapılan bir in vivo çalışmada sıçanlara oral yoldan 3 gün boyunca 40 mg/kg dozda deksametazon uygulanmış, ince bağırsaklardaki P-gp ve CYP3A4 düzeyleri 2,5 kat artmıştır. Bunu takiben oral olarak uygulanan indinavirin intestinal ilk geçiş metabolizmasının kontrol grubuna göre 6 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir. İndinavirin intestinal ilk geçiş metabolizmasındaki 6 katlık artış sadece intestinal CYP3A4 düzeylerindeki 2,5 katlık artış ile değil; CYP3A4 ve P-gp'nin her ikisinin de intestinal düzeylerindeki artış ile açıklanabilmektedir. Bu bulgu P-gp'nin, indinavirin ilk-geçiş metabolizmasını artırdığını göstermektedir (Lin, Chiba, Chen ve ark. 1999).

2.3.4. İlaç Atılımındaki Rolü

2.3.4.1. Safra İle Atılım

P-gp'nin ilaçların biliyer atılımındaki rolü ilk olarak, yapılan immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda, karaciğerde hepatositlerin kanaliküler (apikal) membranında eksprese edildiğinin gösterilmesi ile ortaya konmuştur (Lin ve Yamazaki 2003). Biliyer atılım için ilacın ilk olarak pasif difüzyon ve/veya hepatik “uptake” taşıyıcıları aracılığıyla hepatositlerin sinüzoidal (bazolateral) membranından geçmesi gerekir. Hepatositlerin sinüzoidal membranı katyonların, anyonların ve endojen bileşiklerin kan dolaşımından hepatositlere alınmasını sağlayan çok sayıda aktif taşıyıcı içermektedir. Hepatositlerde ilaç molekülleri difüze olarak kanaliküler membrana ulaşırlar ve buradan kanaliküler membranda bulunan P-gp ve diğer efluks taşıyıcı sistemleri tarafından safraya pompalanırlar. Genellikle ilaç molekülleri hepatositler içinde bazolateral membrandan apikal membrana difüze olurken biyotransformasyona uğramaktadırlar (Lin ve Yamazaki 2003; Padowski ve Pollack 2010). Karaciğerdeki P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu Şekil 2-5'te gösterilmiştir.

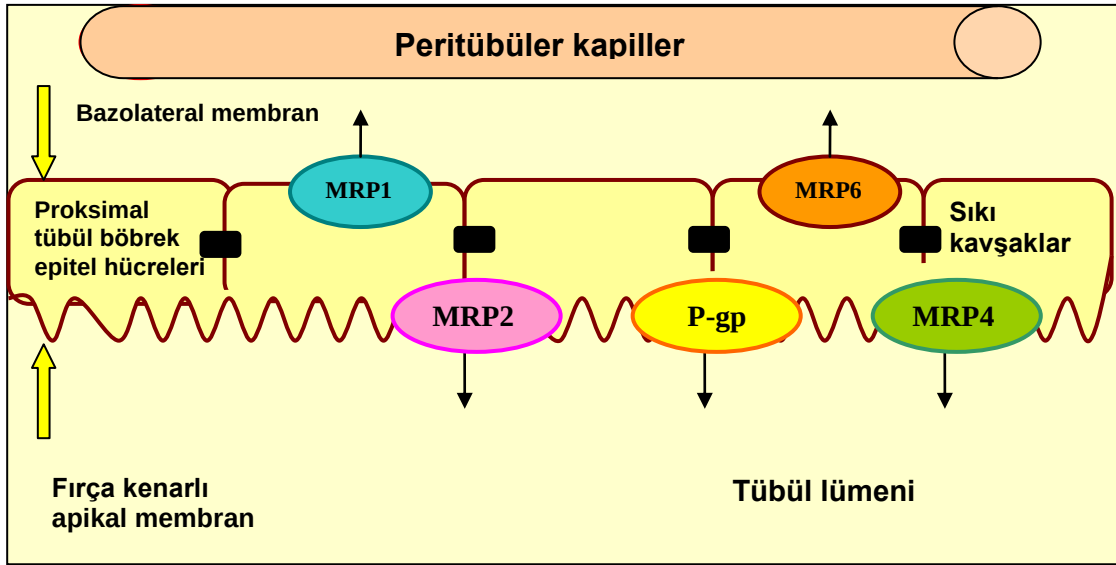


Şekil 2-5: Karaciğerde P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu - <http://www.solvobiotech.com>'dan değiştirilerek.

Karaciğerin kanaliküler membranında *mdr1a* ve *mdr1b* genlerinin her ikisinin de eksprese edilmesinden dolayı, P-gp'nin ilaçların biliyer atılımındaki rolü *mdr1a/1b*^(-/-) farelerde (double knockout mice) incelenmiştir. Kanaliküler membranda *mdr1a* ve *mdr1b* P-gp ekspresyonunun olmaması, çok sayıda ilacın biliyer atılımında *mdr1a*^(-/-) ve normal farelere kıyasla büyük oranda azalmaya neden olmuştur. Nöromusküler bloke edici bir ajan olan vekuronyum farelerde büyük ölçüde biliyer atılım ile elimine edilmektedir. Yapılan çalışmalarda vekuronyumun biliyer atılımı *mdr1a/1b*^(-/-) knockout farelerde, *mdr1a*^(-/-) ve normal farelere göre oldukça düşük bulunmuştur. Vekuronyumun biliyer klirensi *mdr1a*^(-/-) farelerde normal farelere göre 2,5 kat daha az iken, *mdr1a/1b*^(-/-) knockout farelerde normal farelere göre 6 kat daha düşüktür (Lin ve Yamazaki 2003). Bir P-gp substratı olan Rhodamin 123 ile yapılan bir başka çalışmada sıçanlara rifampin, deksametazon ve St. John's Wort gibi P-gp indüktörlerinin uygulanması sonucu, Rhodamin 123'ün safraya atılımı sırasıyla %40, %55 ve %14 oranında artmıştır (Kageyama ve ark. 2006).

2.3.4.2. İdrar İle Atılım

P-gp böbreklerde, proksimal tübüllerin fırça kenarlı (apikal) membranında lokalize olmuştur. Renal atımda ilk olarak ilaç molekülleri renal epitel hücrelerinin bazolateral membranından geçerek kan dolaşımından (peritübüler kapillerlerden) hücre içine pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılı transport ile alınırlar. İlaçlar renal epitel hücrelerinde biyotransformasyona uğrayabilirler. Bazolateral membran ilaçların hücre içine alınmasından sorumlu çok sayıda aktif taşıyıcı içermektedir. Substrat ilaç ve/veya metaboliti renal epitel hücrelerinin fırça kenarlı (luminal) membranında bulunan P-gp tarafından hücre dışına taşınarak tübüler filtrata karışır ve idrarla atılır (Lin ve Yamazaki 2003). Böbrekte P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları Şekil 2-6’da gösterilmiştir.



Şekil 2-6: Böbrekte P-gp’nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu.

P-gp’nin, digoksinin renal klirensindeki rolünü değerlendirmek amacıyla yapılan bir klinik çalışmada, 0,125 mg/gün dozunda oral yoldan digoksin uygulanan sağlıklı gönüllülere, bir P-gp inhibitörü olan valspodarın (PSC 833) tek doz uygulanması sonucunda, digoksinin renal klirensi 6,5 L/saat’ten 2,3 L/saat’e düşmüştür. 5. gün

valspodar uygulaması sonucunda digoksinin renal klirensi 1,6 L/saat'e gerilemiştir. Bu bulgular P-gp'nin, substrat ilaçların böbrek epitel hücrelerinden idrara atılmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (Matheny ve ark. 2001).

2.4. Cinsiyete Bağlı Farklılıklar

2.4.1. ABC Taşıyıcı Proteinlerinin Ekspresyon ve Fonksiyonunda Cinsiyete Bağlı Farklılıklar

ABC taşıyıcı proteinlerinin cinsiyetler arası farklılık gösterip göstermediği hususunda klinik ve prelinik çalışmalar mevcuttur. Prelinik çalışmaların sadece kemirgenlerin dokularında yapıldığı görülmektedir. İnsanda ve kemirgenlerde P-gp ekspresyonunun cinsiyete bağlı farklılığı ile ilgili yapılan çalışmalar Tablo 2-4'te ayrıntılı gösterilmiştir.

Bcrp1 mRNA ve protein ekspresyonu dişi fare karaciğerinde erkeklere göre 2 kat daha azdır (Tanaka ve ark. 2005; Merino 2005). Diğer fare dokularında cinsiyete bağlı Bcrp1 ekspresyonunda fark gözlenmemiştir (Tanaka ve ark. 2005). Farmakokinetik araştırmalar, nitrofurantoin, simetidin, topotekan ve PhPI (2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin) gibi Bcrp1 substratlarına maruziyetin dişi farelerde daha fazla olduğunu göstermiştir. Nitrofurantoin ve PhIP'nin i.v uygulanması ile bu ilaçların hepatobiliyer atılımı erkek sıçanlarda dişilere göre daha fazladır. *Bcrp1* geni silinmiş farelerde bu substratların safradan atılımında cinsiyet farkı gözlenmemiştir (Merino 2005). Cinsiyete bağlı farklar, hayvan türleri arasında değişkenlik arz edebilmektedir. Chen ve Klaassen (2004) tarafından yapılan çalışmada, mrp4 ekspresyonu erkek sıçanların böbrek dokusunda dişiye göre fazla iken; Maher ve ark. (2005) dişi farede mrp4 ekspresyonunu erkek farelere göre daha yüksek bulmuştur.

Tablo 2-4: ABC familyasına dahil bazı taşıyıcı proteinlerin cinsiyete bağlı farklılıkları - (Pala ve ark. 2013).

Taşıyıcı	Tür (soy)	Doku	Cinsiyete bağlı fark	Parametre	Test substratı	Ref.
abcb1	kobay	plasenta	erkek=dişi	mRNA ekspresyonu	betametazon	Kalabis ve ark. 2009
abcb1a	fare (C57BL/6)	böbrek	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		Cui ve ark, 2009
abcb1b	fare (C57BL/6)	böbrek	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		Cui ve ark, 2009
	fare (C57BL/6)	akciğer	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		
	fare (C57BL/6)	beyin	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		
P-gp (MDR-1)	insan	karaciğer	erkek>dişi	Protein ekspresyonu		Schuetz ve ark. 1995
	insan	plazma	erkek=dişi	Plazma ilaç düzeyi	feksofenadin	Kim ve ark. 2001
	insan	proksimal bağırsak	erkek=dişi	mRNA ekspresyonu		Paine ve ark. 2005
	sıçan (Wistar)	distal jejunum/ ileum	erkek>dişi	Bağırsaktan atılma uğrayan ilaç düzeyi (ex-vivo)	İvermektin, PSC833	Mariana ve ark. 2011
mdr2 (abcb4)	fare (C57BL/6)	akciğer	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		Cui ve ark, 2009
mrp2 (abcc2)	fare (C57BL/6)	karaciğer	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu & Protein ekspresyonu	α -naftilizot hiyosiyanat (yüksek yağlı diyet ile)	Kong ve ark 2012
	sıçan (Sprague Dawley)	karaciğer	erkek<dişi	Protein ekspresyonu		Rost ve ark. 2005

	sıçan (Sprague Dawley)	plazma	erkek=dişi	Plazma ilaç düzeyi	garenoksasin	Hayashi ve ark. 2011
	fare (B6D2F1)	ileum mukoza	erkek=dişi	Protein ekspresyonu		Okyar ve ark., 2011
	fare (BECBAF1)	ileum mukoza	erkek=dişi	Protein ekspresyonu		
	sıçan (Sprague Dawley)	karaciğer	erkek<dişi	protein ekspresyonu		Rost ve ark. 2005
mrp3 (abcc3)	sıçan (Wistar Kyoto)	karaciğer	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		Cherrington ve ark. 2003
	fare (C57BL/6)	karaciğer	erkek=dişi	mRNA ekspresyonu		Maher ve ark, 2005
	fare (C57BL/6)	böbrek	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		
	sıçan (Sprague Dawley)	böbrek	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		Chen ve Klaassen, 2004
mrp4 (abcc4)	fare (C57BL/6)	böbrek	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		Maher ve ark, 2005
	fare (C57BL/6)	karaciğer	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		
	sıçan (Sprague Dawley)	böbrek	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		Tanaka ve ark. 2005
bcrp1 (abcg2)	sıçan (Sprague Dawley)	karaciğer	erkek=dişi	mRNA ekspresyonu		
	fare	karaciğer	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		Merino ve ark. 2005

				&Protein ekspresyonu		
	insan	karaciğer	erkek>dişi	Protein ekspresyonu		
abcg5	fare (C57BL/6)	Jejunum mukoza	erkek=dişi	mRNA ekspresyonu		Dieter 2004
	sıçan (Sprague Dawley)	Jejunum mukoza	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		
abcg8	fare (C57BL/6)	Jejunum ve ileum mukosa	erkek=dişi	mRNA ekspresyonu		Dieter 2004
	sıçan (Sprague Dawley)	jejunum ve ileum mukoza	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		
abca1	fare (C57BL/6)	böbrek	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		Cheng ve Klaassen 2009
	fare (C57BL/6)	karaciğer	erkek>dişi	mRNA ekspresyonu		
	fare (C57BL/6)	duodenum	erkek<dişi	mRNA ekspresyonu		

2.4.2. P-gp'nin Ekspresyonunda ve Fonksiyonunda Cinsiyete Bağlı Farklılıklar

P-gp, adrenal bez, testis ve overler de dahil olmak üzere steroid hormon üreten organlarda da lokalize olmaktadır. Taşıyıcı proteinlerin, testis ve overlerin endotelial ablüminal ve lüminal membranlarındaki ekspresyonları germ hücrelerini ksenobiyotiklerin olası zararlı etkilerinden korur (Stewart ve ark. 1996). Ayrıca, P-gp endokrine duyarlı hücre cevabının düzenlenmesi sağlayan steroidlerin sistemik dışa atımında rol oynar (Ueda 1992). Gonadal steroidler, P-gp ekspresyonu ve fonksiyonunu düzenlerler (Fedoruk ve ark. 2004; Kim ve ark. 2004; Mutoh ve ark. 2006). *ABCB1* geni, hormonal tetiklemeye karşı oldukça duyarlıdır (Piekarz ve ark. 1993).

Dolaşımdaki cinsiyet hormonları sistemik organlardaki P-gp ekspresyonu ve fonksiyonunu etkileyerek cinsiyete bağlı ilaç cevabında farklılıklara neden olabilmektedir. (Arceci ve ark. 1988; Suzuki ve ark. 2006).

2.4.2.1. Steroidler ve P-glikoprotein Regülasyonu

Kortizol ve aldosteron gibi pek çok steroid hormone ve deksametazon gibi sentetik glukokortikoidler aktif olarak P-gp ile taşınır (Ueda ve ark. 1992). Adrenal hücrelerde P-gp ekspresyon regülasyonunun ACTH'ı da içeren bir geri bildirim mekanizması ile gerçekleştiğine inanılmaktadır (Altuvia ve ark. 1993).

Gonadal steroidler, P-gp ekspresyonu ve fonksiyonunu düzenlerler. *ABCB1* geni, yukarı promotor bölgesindeki hormon yanıt elemanları veya Pregnan X reseptörü (PXR) yoluyla gözlenen artmış transkripsiyon nedeniyle hormonal tetiklemeye karşı oldukça duyarlıdır. *abcb1b* geninin promotor bölgesi, A tip progesteron reseptör yolu ile progesteron etkisinden sorumludur. P-gp'nin yavaş progesteron-bağımlı ve hızlı progesteron-bağımsız düzenleyici yollar yoluyla eksprese olduğu gösterilmiştir. Progesteron-bağımlı yolda, P-gp transkripsiyonel olarak progesteronun, genin yukarı promotor bölgesindeki progesteron yanıt elemanlarına bağlanmasını indükler. Progesteron bağımsız yolda da PXR'in etkisi araştırılmıştır. ABCB'in düzenleyici bölgesinde de östrojenik yanıt elemanları tespit edilmiştir (Bebawy ve Chetty 2009).

Progesteronun, sıçanlarda bağırsak duvarında yer alan P-gp'yi inhibe ederek vinblastin absorpsiyonunu hem jejunum hem de duodenum da arttırdığı ortaya konulmuştur (Nakayama ve ark. 1999). Ayrıca, hem endojen hem de sentetik östrojenler, estriol, estron ve etinil estradiol P-gp substratıdır ve P-gp ekspresyonunu inhibe ederler. Sentetik progestinler hem in vivo hem ex vivo P-gp eflüksünü önemli ölçüde inhibe ederler (Frohlich, Albermann ve ark. 2004). Progestinlerin P-gp'yi inhibe etmesi sebebiyle hormon replasman tedavisi uygulanan ve digoksin kullanan kadınlarda

erkeklere göre daha yüksek plazma ve doku digoksin konsantrasyonuna ve buna bağı olarak daha fazla ölüm gözlenmiştir (Rathore ve ark. 2002).

Hamilelik dönemi ve menstrual siklus sırasında meydana gelen hormonal dalgalanmalar, P-gp ekspresyon ve fonksiyonunu dolayısıyla ilaç dağılımı ve cevabını etkileme potansiyeline sahiptir. Arceci ve arkadaşları farede 16. gestasyonel güne rastlayan rahimiçi *mdr* mRNA ekspresyonu ve progesteron sekresyonunun aynı zamanda pik yaptığını göstermişlerdir (Arceci ve ark. 1988).

Testosteron, P-gp'nin substratı olmamakla beraber (van Kalken ve ark. 1993; Fedoruk ve ark. 2004), onun potent inhibitörüdür (Dey ve ark. 2004) ve progesterondan iki kat fazla inhibitör etkisi vardır (Hamilton ve ark. 2001). Testosteronun tersine, testosteronun biyolojik olarak aktif metaboliti dihidrotestosteron bir P-gp substratıdır (van Kalken ve ark. 1993; Cummins, Jacobsen ve ark. 2002; Fedoruk ve ark. 2004), efluksu androjenlerden bağımsız prostat kanserinde androjene duyarlı gen aktivitesini azaltmaktadır (Fedoruk ve ark. 2004). Erkek androjenler P-gp ekspresyon ve fonksiyonunu baskılayacak şekilde etki ederler (Suzuki ve ark. 2006). P-gp üzerindeki testosteron baskısının kesin mekanizması aydınlatılamamıştır. Suzuki ve arkadaşları, dişi sıçanlara 7 gün boyunca testosteron uygulamış ve erkek sıçanlara kıyasla dişi sıçan karaciğerinde P-gp ekspresyonunun etkili bir şekilde azaldığı ve buna bağı olarak doksorubisinin hepatobiliyer klirensinin de azaldığı gösterilmiştir (Suzuki ve ark. 2006). Bu çalışma dolaşımdaki cinsiyet hormonlarının sistemik organlarda P-gp ekspresyonunu regüle ettiğini göstermiş ve cinsiyetler arası metabolik etkilerde gözlenen farklılıklara katkı sağlamıştır.

2.4.2.2. Cinsiyet ve İlaç Etkisi

Biyoyararlanım

Oral uygulanan ilaçların öncelikli absorpsiyon bölgesi bağırsak enterosit villus ucudur. Bu bölgedeki ilaç absorpsiyon derecesini ilacın fizikokimyasal özellikleri, enzim aracılı oksidatif metabolizma ve taşıyıcı aracılı ilaç eflusu etkilemektedir. Kadınlar erkeklere göre yaklaşık 0,5 ünite daha fazla gastrik asite sahiptir ve gastrik boşalma zamanı daha yavaştır (Floridia ve ark. 2008).

Potter ve arkadaşları (2004) kadınların erkeklere göre düşük enterosit P-gp ekspresyonuna sahip olduğunu, buna bağlı olarak prednisolon ve siklosporin A alan renal transplantasyon hastalarında, siklosporin A'nın P-gp üzerindeki inhibe edici etkisinin daha fazla görüldüğü ve plazma prednisolon konsantrasyonu ve prednisolon yan etkilerinin kadınlarda daha fazla görüldüğünü tespit etmişlerdir. Ancak Paine ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada, duodenal biyopsi alınan kadın ve erkeklerde P-gp ekspresyonunda cinsiyetler arası fark bulunmamıştır. Oral kontraseptif veya hormon replasman tedavisi gibi yüksek konsantrasyonda oral uygulanan stereiodler, bağırsak duvarında P-gp ekspresyon ve fonksiyonunu kadınlarda erkeklere kıyasla değiştirebilir (Frohlich, Burhenne ve ark. 2004). Bu bağlamda hormon ilaç etkileşmeleri ilaçların oral biyoyararlanımlarını erkeklere kıyasla dişilerde daha fazla bozmaktadır.

Erkek ve diş sığınarlarda intestinal P-gp ekspresyonunu göstermek için yapılan çalışmada, P-gp'nin proksimalden distale artışı cinsiyet farkı göstermemiştir (MacLean ve ark. 2008).

Metabolizma ve Eliminasyon

Karaciğerdeki P-gp ekspresyonun ve fonksiyonunun cinsiyete bağlı farklılığı da tartışmalıdır. 46 insan karaciğer biyopsisinde yapılan çalışmada, P-gp ekspresyonunun cinsiyete bağlı farklılık gösterdiği, erkeklerin kadınlara göre 2,4 kat fazla P-gp

ekspresyon düzeyi gösterdiği bulunmuştur (Schuetz ve ark. 1995). Bunun aksine Wolbold ve ark. (2003) insanlarda karaciğer P-gp ekspresyonunda cinsiyete bağlı farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. İnsan karaciğerindeki bulguların aksine dişi sıçanlarda erkek sıçanlara göre bazal P-gp düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Ancak sıçanlarda insan CYP3A4'ün direkt bir homologunun bulunmadığı da dikkate alınmalıdır (Wolbold ve ark. 2003; Suzuki ve ark. 2006).

Hem P-gp hem de CYP3A4 hepatositler içinde lokalize olmuştur. Substrat özellikleri açısından örtüşmektedirler (Wacher ve ark. 1995) ve pek çok ilaç etkileşimi yetim nükleer reseptör PXR yoluyla aynı bileşik tarafından her iki proteinin de transkripsiyonel indüksiyonu ile ilişkilendirilmektedir (Benet ve ark. 2004).

Hepatobiliyer atılımı, ilacın hepatositin sinüsoidal tarafından içeri alınması ve bunu takiben kanaliküler membran boyunca hepatosit içinden safraya atılımı oluşturur. Sonuç olarak, hepatobiliyer klirensin ölçüsü, influks taşıyıcıları, efluks taşıyıcıları ve ilaç metabolize eden enzimlerin düzeylerine bağlı olacaktır. Aynı miktarda CYP3A4'ün dişi ve erkekte farklı enzim aktivitesi oluşturduğu hesaba katılırsa, karaciğerde P-gp ilaç efluksu ve CYP3A4 aracılı oksidatif metabolizma arasında koordineli fonksiyonel bir etkileşimin olduğu görülür (Cummins, Wu ve ark. 2002). Shuetz ve arkadaşlarının (1995) bulguları, P-gp ekspresyonundaki cinsiyete bağlı farkların, i.v. verilen CYP3A4 ve P-gp'nin dual substratlarının kadınlardaki klirensinin daha büyük olması, hücrel mekanizmaların olası etkilerine bağlanmıştır.

Dağılım

Pek çok çalışmada, birçok ilaç için hem toksisite hem de terapötik yanıtta cinsiyete bağlı farklar rapor edilmiştir. Cinsiyete bağlı toksisite sonuçları hem antiretroviral (Florida ve ark. 2008) hem de antikanser (Sloan ve ark. 2000; Sloan ve ark. 2002) ilaçlar için çok sayıda rapor edilmiş olup, dişilerde erkeklere göre daha yüksek toksisite, ilaca daha iyi cevap ve daha yüksek sağkalım gözlenmiştir (Bebawy ve Chetty 2009).

Kan beyin bariyerinde P-gp'ye bağılı yaş ve cinsiyet farkını değerlendiren bir çalışmada; verapamilin beyinde dağılım hacmi genç erkeklerde kadınlara gore daha az bulunmuştur. Bu da P-gp fonksiyonunun erkeklerde fazla olduğunu göstermektedir. Çalışmada verapamil dağılım hacmi erkeklerde yaşla birlikte artmış, ancak kadınlarda yaşa bağlı bir değişim gözlenmemiştir. Alzheimer hastalığının kadınlarda daha fazla görülmesi, P-gp'nin kadınlarda daha az ekspresyonu nedeniyle kadınların yaşam süresince daha fazla nrotoksine maruz kalması ile açıklanmıştır (van Assema ve ark. 2012).

P-gp'ya bağlı cinsiyet farkının buprenorfinin nörolojik yan etkileri üzerindeki etkisini araştıran dişi ve erkek farelerde yapılan bir çalışmada; dişi ve erkek farelerde kan-beyin bariyerinde P-gp aracılı buprenorfin taşınması ve efluksunda fark gözlenmemiştir (Alhaddad ve ark. 2013).

Fetal kobay beyin mikrodamarlarında yapılan bir çalışmada, P-gp protein ekspresyonuna bakılmış ve dişi ve erkek kobaylarda beyin mikrodamarlarındaki P-gp ekspresyonunda anlamlı bir fark bulunmamıştır (Iqbal ve ark. 2011).

2.5. P-gp Substratları

Son derece geniş bir substrat spesifitesine sahip olan P-gp, antikanser ajanlar, immünosupresanlar, streoid hormonlar, kalsiyum kanal blokörleri, β -blokörler ve kardiyak glikozidler gibi birbiriyle ilişkili olmayan yapısal ve farmakolojik olarak farklı, çok sayıda hidrofobik ilacı taşıyabilmektedir (Takano ve ark. 2006). P-gp substratlarının ortak özelliği amfipatik yapıda olmalarıdır. P-gp substratlarının çoğu yüksüz ve/veya fizyolojik pH'da organik kasyonlar, yani bazik ilaçlardır, ancak metotreksat ve fenitoin gibi bazı asidik bileşikler de düşük oranda taşınabilmektedir. P-gp'nin çoğu substratı aromatik gruplar içermektedir, ancak aromatik olmayan halka taşıyan moleküller de substrat olabilmektedir (Schinkel ve Jonker 2003; DuBuske 2005;

Ceckova-Novotna ve ark. 2006). P-gp substratları farmakolojik etki kalıbına göre gruplandırılabilir. Bu şekildeki bir gruplandırma Tablo 2-5'te verilmiştir.

Tablo 2-5: P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre gruplandırılması – Fromm (2002), Schinkel ve Jonker (2003), Balayssac (2005) ve Zhou (2008)'den

Farmakolojik Grup	İlaçlar
Amebisidler	Emetin
Analjezikler	Asimadolin, Morfin
Antiaritmik İlaçlar	Kinidin
Antibiyotikler	Eritromisin, Gramisidin, Levofloksazin, Sparfloksazin, Rifampisin, Doksisisiklin, Tetrasiklin, Valinomisin
Antidepresanlar	Amitriptilin, Venlafaksin, Paroksetin
Antidiyareik İlaçlar	Loperamid
Antiepileptikler	Fenitoin, Karbamazepin, Fenobarbital, Lamotrijin, Felbamat
Antigut İlaçlar	Kolşisin
Antihiperlipidemik İlaçlar	Atorvastatin, Lovastatin
Antineoplastik İlaçlar	Aktinomisin D, Mitomisin C, Daktinomisin, Bisantren, Mitoksantron, Dosetaksel, Paklitaksel, Doksorubisin, Daunorubisin, Epirubisin, Etoposid, Teniposid, İmatinib, Metotreksat, İrinotekan, Topotekan, Tamoksifen, Vinblastin, Vinkristin, Vindesin, Vinorelbin, İdarubisin, Amsakrin, Trimetreksat
β-blokörler	Bunitrolol, Seliprolol, Talinolol
Diagnostik Maddeler	Rhodamin 123, Hoechst 33342
H ₁ -reseptör Blokörleri	Feksofenadin, Desloratadin
H ₂ -reseptör Blokörleri	Ranitidin, Simetidin
HIV Proteaz İnhibitörleri	Amprenavir, İndinavir, Lopinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Sakinavir

İmmüsupresif İlaçlar	Siklosporin A, Takrolimus, Sirolimus
Kardiyak Glikozidler	α -metil digoksin, β -metil digoksin, Digoksin, Dijitoksin
Kortikosteroidler	Deksametazon, Hidrokortizon, Kortikosteron, Triamsinolon
Nöroleptikler	Klorpromazin, Fenotiyazin
Pestisitler, Antihelmintikler, Akarisidler	Abamektin, İvermektin
Proton Pompası İnhibitörleri	Lansoprazol, Omeprazol, Pantoprazol
Kalsiyum Kanal Blokörleri	Diltiazem, Mibefradil, Verapamil
Diğerleri	Debrizokin, Losartan, Terfenadin, Vekuronyum

2.6. P-gp İnhibitörleri

P-gp substratlarının P-gp aracılı transportları bazı bileşikler tarafından inhibe edilebilmektedir. Bağırsaklar, karaciğer, böbrekler, beyin, plasenta ve testis gibi önemli dokularda ekprese edilen P-gp'nin inhibe edilmesi, P-gp substratı ilaçların absorpsiyonlarının artması ve atılımlarının azalması sonucu sistemik ve hedef doku maruziyetlerinin artmasına yol açabilmektedir (Fischer ve ark. 2005) P-gp, sayısı bilinmemekle beraber birden fazla substrat bağlanma bölgesine sahiptir ve ilaç transportu için gerekli enerjiyi sağlamak üzere iki adet ATP-bağlayıcı domain içermektedir. Tüm ilaç bağlayıcı bölgeler ve ATP bağlayıcı domainler fonksiyonel bir birim oluşturarak işbirliği içinde çalışırlar (Lin ve Yamazaki 2003). P-gp inhibitörleri, P-gp'nin ilaç bağlanma bölgeleri için yarışarak P-gp aktivitesini kompetitif olarak inhibe edebileceği gibi (kompetitif inhibitörler), direkt ATP hidrolizini bloke ederek (non-kompetitif inhibitörler) P-gp aktivitesini inhibe edebilmektedir (Marchetti ve ark. 2007). Örneğin, verapamil P-gp'nin transport fonksiyonunu, ATP hidrolizini etkilemeksizin kompetitif bir şekilde inhibe ederken; vanadat, substrat bağlanma bölgeleri ile etkileşmeden, ATP hidrolizini bloke ederek P-gp'nin taşıma fonksiyonunu inhibe etmektedir. Siklosporin ise hem substrat bağlanma bölgeleri ile etkileşerek hem

de ATP hidrolizini bloke ederek P-gp inhibisyonuna neden olmaktadır (Lin ve Yamazaki 2003).

P-gp inhibitörlerinin (P-gp modölatörleri) klinikteki kullanımları, ilk olarak, kemoterapiye dirençli, yüksek oranda P-gp içeren kanser hücrelerindeki rezistansı geri çevirmelerine odaklı iken, ilerleyen zamanlarda, bu inhibitörlerin, ilaçların farmakokinetik davranışlarını modüle etmek amacıyla da kullanılabileceği kanısına varılmıştır (Schinkel ve Jonker 2003). P-gp inhibitörleri, kanser, epilepsi, bakteriyel, parazitik ve fungal hastalıkların kemoterapisinde başarısızlığa yol açan çoklu ilaç rezistansını azaltmak veya inhibe etmek amacıyla kullanılmaktadırlar (Seelig ve Gatlik-Landwojtowicz 2005). P-gp modölatörleri, P-gp'yi inhibe etme kapasiteleri ile farmakodinamik etkilerden yoksun olma özellikleri göz önünde tutularak birinci, ikinci ve üçüncü kuşak modölatörler olarak sınıflandırılmaktadır (Coley 2010; Lee 2010) (Tablo 2-6).

Bir P-gp substratı olan verapamilin lösemili hücrelerde P-gp aracılı çoklu ilaç rezistansını tersine çevirdiğinin keşfedilmesinden sonra P-gp inhibitörlerinin tespit edilmesine ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar artmıştır ve ilk keşfedilen bu ilaçlar birinci kuşak modölatörler olarak adlandırılmıştır. Çeşitli hücre serileri ile yapılan çalışmalarda verapamilin, doksorubisin, felodipin, isradipin, nikardipin, nifedipin, bepridil ve diltiazem gibi diğer bazı kalsiyum kanal blokörlerinin de P-gp'yi inhibe ederek çoklu ilaç rezistansını tersine çevirme yeteneğine sahip oldukları görülmüştür. İmmünsupresan bir ilaç olan siklosporin A, bu grup ilaçların en etkin olanıdır. Siklosporin A'nın çoklu ilaç rezistansını tersine çevirici etkisi miyelomlu ve akut lösemili hastalar ile yürütülen faz II çalışmaları sırasında bulunmuştur (Krishna ve Mayer 2000; Marchetti ve ark. 2007; Lee 2010, Morjani ve Madoulet 2010). Ancak bu grup ilaçlar, afinitelerinin düşük olması ve farmakolojik etkilerinin olması sebebiyle yüksek dozlarda kullanılmaları gerektiğinden in vivo koşullarda toksisiteye yol açabilmektedirler. Ayrıca, bazı ilaçların diğer taşıyıcılar ve enzim sistemleri için de substrat olması, kemoterapi ajanlarıyla birlikte kullanıldıklarında istenmeyen farmakokinetik ilaç etkileşmelerine yol açabilmektedir. Bu yüzden bazı durumlarda

P-gp modölatörleri, antikanser ilaçlarla birlikte kullanıldıklarında toksisiteyi önleyebilmek için antikanser ilaçların dozlarının azaltılması gerekmektedir (Coley 2010; Morjani ve Madoulet 2010; Potschka 2010).

İkinci kuşak modölatörler, çoğu verapamil ve siklosporin A analoğu olan, birinci kuşak modölatörlere göre daha potent ve farmakolojik etkileri dolayısı ile toksisiteleri daha az olan bileşiklerdir. Bir siklosporin analoğu olan PSC 833, P-gp aracılı çoklu ilaç rezistansının tersine çevrilmesinde siklosporin A'ya göre 10 kat daha potent bulunmuştur. Valspodar olarak da bilinen bu bileşik immünosupresif etkiye sahip değildir (Coley 2010; Morjani ve Madoulet 2010). Ancak, bu ilaçlar da seçiciliklerinin düşük olmasından dolayı, diğer taşıyıcılar ve CYP3A4 enzimi ile etkileşerek birlikte kullanıldıkları ilaçların sistemik maruziyetlerini artırmakta ve istenmeyen ilaç-ilac etkileşmelerine neden olabilmektedir (Coley 2010; Potschka 2010).

Üçüncü kuşak modölatörler, yeni keşfedilen ve çok düşük konsantrasyonlarda etkin olan, selektif, P-gp'ye afiniteleri yüksek, farmakodinamik aktiviteden yoksun bileşiklerdir. P-gp inhibisyonu için in vivo çalışmalarda da düşük dozlarda kullanılırlar. Üçüncü kuşak modölatörlerin P-gp substratı olan antikanser ilaçlarla olan kombinasyonları önemli farmakokinetik etkileşmelere yol açmamaktadır ve iyi tolere edilmektedir. Birinci ve ikinci kuşak modölatörlerin aksine üçüncü kuşak modölatörler non-kompetitif inhibitörlerdir. Bu bileşikler kanser tedavisinde, antineoplastik ilaçların etkinliklerini artırmak için klinik çalışmalarda denenmektedir. Ancak, çoklu ilaç direncini yenmede şu ana kadar istenen sonuçlara ulaşamamıştır (Seelig ve Gatlik-Landwojtowicz 2005; Ravna ve Sager 2009; Coley 2010; Potschka 2010; Velingkar ve Dandekar 2010).

Tablo 2-6: P-glikoprotein inhibitörlerinin (MDR modölatörlerinin) sınıflandırılması - Krishna ve Mayer (2001) ve Srinivas ve ark. (2006)'dan değiştirilerek.

Kategori	Örnekler
<u>1. Kuşak Modölatörler</u>	
Kalsiyum Kanal Blokörleri	Verapamil, diltiazem, bepridil, nifedipin
Nöroleptikler	Trifluoperazin, proklorperazin, transflupentiksol
Antiaritmik	Amiodaron
İndol Alkaloidleri	Vindolin, rezerpin
Kinolonlar	Klorokin, kinin, kinidin
Hormonlar ve hormon antagonistleri	Progesteron, tamoksifen
Sefalosporinler	Sefoperazon, seftriakson
Antikanser İlaç Analogları	N-asetildaunorubisin, C-20-vinblastin
İmmünosupresanlar	Siklosporin A
Protein Kinaz İnhibitörleri	Staurosporin
Surfaktanlar ve Lipidler	Kremoform-EL, Tween 80
Antikorlar	MRK16, UIC-2
<u>2. Kuşak Modölatörler</u>	
1. Kuşak Modölatörlerin Yapısal Analogları	Deksverapamil, emopamil, gallopamil, Ro11-2933, deksniguldipi
Siklosporin A Analogları	PSC 833 (Valspodar)
Diğerleri	Ro44-5912
<u>3. Kuşak Modölatörler</u>	
Siklopropildibenzosuberan	Zosukidar (LY335979)
Akridonkarboksamid	Elakridar (GF120918)
Diketopiperazin	XR9051
Diarilimidazol	Ontogen (OC144-093)

Antrasiklin	Annamisin
Antranilamid	Tarikidar (XR9576)
Diklorodifenildikloroetan	Mitotan, NSC-38721
Kinolin	MS-209
Pipekolinat	Birikodar (VX-710)
Diğerleri	Lanikidar (R101933), Mifepriston (RU486), ONT-093

2.7. Talinolol

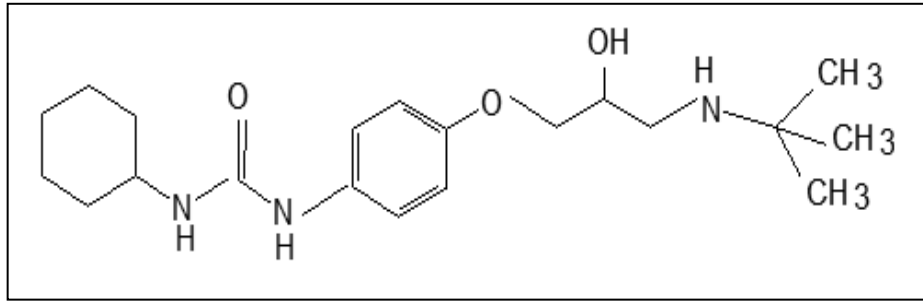
2.7.1. Tanımı ve Tarihçesi

Talinolol, uzun etkili, selektif β -1 adrenerjik reseptör antagonisti ve antihipertansif bir ilaçtır. İntrinsik sempatomimetik aktiviteye (ISE, parsiyel agonistik aktivite) ve membran stabilize edici etkiye sahip değildir. Talinolol 1975 yılından bu yana Almanya’da ve Doğu Avrupa ülkelerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Almanya’da Arzneimittelwerk Dresden GmbH (AWD) firması tarafından, Cordanum[®] ticari ismiyle üretilmektedir (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; He ve ark. 2007). Oral yoldan günde 50-300 mg dozlarda arteriyel hipertansiyon, koroner kalp yetmezliği ve taşiaritmi gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kronik olarak kullanılmaktadır. Piyasada hızlı-salımlı tabletleri ile i.v. infüzyon için injektabl solüsyonları mevcuttur (Tubic ve ark. 2006b).

2.7.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Talinololün kimyasal adı S(-)/R(+)-1-(4-sikloheksil-üreido-fenoksi)-2-hidroksi-3-terciyer butil-aminopropan'dır. Kapalı kimyasal formülü $C_{20}H_{33}N_3O_3$ 'tür. Molekül ağırlığı 363,5 g/mol olan talinolol beyaz renkte bir tozudur. Zayıf baz karakterinde bir

bileşik olan talinolol ($pK_a = 9,43$), suda az (0,2 mg/ml), metanolde ise çok çözünür (Wetterich ve ark. 1996; Oertel ve ark. 1998; He ve ark. 2007). Talinololün suda çözünürlüğü pH'ya bağlıdır. Suyu seyreltik asit çözeltisi eklemek suretiyle pH'nın düşürülmesi talinololün sudaki çözünürlüğünü artırır. Diğer β -adrenerjik reseptör antagonistlerine kıyasla, orta derecede lipofilik bir bileşik olan talinololün n-oktanol/su (pH 7, 37°C) sistemi için yağ/su dağılım katsayısının (partisyon katsayısı) 0,74 olduğu bildirilmiştir (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; Tubic ve ark. 2006a). Talinololün kimyasal yapısı Şekil 2-7'de gösterilmektedir.



Şekil 2-7 : Talinololün kimyasal yapısı

2.7.3. Farmakodinamik Özellikleri

Talinolol selektif β -1 adrenerjik reseptör antagonistidir ve organizmadaki β -1 adrenerjik stimülasyonu kompetitif olarak bloke eder. Normal tedavi dozlarında kullanıldığında β -2 reseptörlerine etkisi yok denecek kadar azdır (de Mey ve ark. 1995; Verlag 2000). Talinolol, aterojenik lipid profili üzerinde olumsuz bir etki göstermez ve glukoz metabolizması üzerine etkisi yoktur. Son yapılan çalışmalarda, sigara içenlerde ve koroner kalp hastalığı olanlarda, talinololün antioksidan etkilere sahip olduğu, plazma lipid peroksidlerini ve nötrofil aktivasyonunu anlamlı olarak azalttığı rapor edilmiştir (He ve ark. 2007). Talinolol β 1-adrenoreseptörlerine orta derecede afinite gösterir. Talinololün S (-) enantiyomerinin afinitesi rasemat formuna göre iki kat daha yüksektir, β_1 – selektiviteleri ise hemen hemen aynıdır (Tubic ve ark. 2006a; He ve ark. 2007). Terapötik doz aralığında (50-300 mg/gün), talinololün β_1 -selektivitesi, atenololden üstün, metoprolol ile benzer ve bisoprololden düşüktür (He ve ark. 2007).

2.7.4. Farmakokinetik Özellikleri

2.7.4.1. Absorpsiyonu

Oral olarak uygulanan talinolol gastrointestinal kanaldan hızla emilir ancak emilimi tam değildir. Mutlak biyoyararlanımı % 55'tir. Talinolol emilimi sırasında P-gp aracılığıyla aktif intestinal sekresyona uğramaktadır. Oral uygulama sonrası plazmadaki maksimum düzeylerine yaklaşık 2 saat sonra ulaşır (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; Gramatte ve Oertel 1999). Sıçanlarda da plazmadaki maksimum konsantrasyonlarına 2 saat sonra ulaştığı saptanmıştır (Spahn-Langguth ve ark. 1998). Talinololün absorpsiyonu besinlerle yaklaşık %50 oranında azalır, bu sebepten ilacın yemeklerden 1 saat önce alınması tavsiye edilir (Terhaag ve ark. 1992). Talinolol minör derecede enterohepatik resirkülasyona uğramaktadır (Tubic ve ark. 2006b).

Talinololün metabolik klirensi çok düşüktür ve metabolik ilk-geçiş etkisine uğramamaktadır. Talinololün oral biyoyararlanımındaki düşüklüğün, P-gp aracılı aktif intestinal sekresyondan kaynaklandığı düşünülmektedir (Trausch ve ark. 1995; Gramatte ve ark. 1996). P-gp'nin gastrointestinal kanaldaki dağılımının tekdüze olmamasından dolayı talinololün absorpsiyon derecesi absorpsiyon bölgesine bağlıdır. P-gp ekspresyonunun bağırsağın aşağı segmentlerine doğru artmasına paralel olarak talinololün absorpsiyonu azalmaktadır. Duodenumdaki P-gp ekspresyonu jejunum, ileum ve kolona kıyasla daha düşüktür, bu nedenle talinolol gastrointestinal kanalın üst kısımlarında daha hızlı absorbe edilmektedir. (Gramatte ve ark. 1996; Tubic ve ark. 2006b). Talinololün absorpsiyonu doza-bağımlıdır ve lineer olmayan bir absorpsiyon profili göstermektedir (Wetterich ve ark. 1996). Yapılan bir çalışmada, P-gp substratı olan talinololün, 25, 50, 100 ve 400 mg'lık hızlı salımlı tabletlerinin uygulanmasından sonra lineer olmayan bir doz-AUC ilişkisi görülmüştür. Bu lineer olmayan, doza bağımlı absorpsiyon; P-gp'nin yüksek dozlarda talinolol tarafından doyurulması sonucunda efluks transportunun azalmasından kaynaklanmaktadır. Yani

talinololün oral biyoyararlanımı daha yüksek dozlarda uygulandığında artmaktadır (Tubic ve ark. 2006a).

2.7.4.2. Dağılımı

Talinolol ekstraselüler sıvı kompartmanına ve tüm dokulara dağılmaktadır. Talinololün dağılım hacmi insanda $3,3 \pm 0,5$ L/kg'dır. Bu değer alprenolol, bisoprolol, karteolol ve propranolol gibi beta blokör ilaçların dağılım hacmine yakın bir değerdir (Trausch ve ark. 1995). Plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür (Zschiesche ve ark. 2002).

2.7.4.3. Metabolizması

Talinololün metabolizma oranı çok düşüktür. Uygulanan dozun sadece %1'i metabolize edilmektedir. Oral olarak uygulanan talinololün hidroksi metabolitleri, %1'den daha az oranda idrarda saptanmıştır. Dolayısıyla talinololün metabolik degradasyonu ihmal edilebilir düzeydedir (Oertel ve ark. 1994). Talinolol, karaciğerde, çok düşük oranda, sikloheksil halkasından hidroksilasyonla, metabolitleri olan 4-trans 3-cis, 4-cis ve 3-trans hidroksitalinolol'e dönüştürülür. 4-trans hidroksitalinolol oluşumu majör metabolik yoldur. Talinololün metabolik degradasyonunda rol oynayan enzimin CYP3A4 olduğu düşünülmektedir, çünkü talinololün tüm hidroksimetabolitlerinin oluşumu ketokonazol tarafından inhibe edilirken, kinidin veya α -naftoflavon tarafından inhibe edilmemiştir. Metabolitlerinin herhangi bir farmakodinamik etkiye sahip olup olmadığı bilinmemektedir (Trausch ve ark. 1995; Zschiesche ve ark. 2002; Tubic ve ark. 2006a).

2.7.4.4. Eliminasyonu

Talinolol insanlarda yaklaşık olarak %60 oranında böbreklerden ve %40 oranında ise ekstrarenal yollardan – büyük oranda feçes ile – atılmaktadır. Oral olarak uygulanan talinolol dozunun yaklaşık %99'u değişmeden ve %1'i hidroksi metabolitleri halinde elimine edilir. Talinololün yarılanma ömrü 11,9 saattir. Bu nedenle günde tek doz olarak 100 mg dozda alınan talinolol 24 saat boyunca terapötik etkinlik sağlayabilmektedir (Trausch ve ark. 1995; Tubic ve ark. 2006a). Talinolole ait farmakokinetik parametreler Tablo 2-7'de verilmiştir.

Tablo 2-7: 12 sağlıklı gönüllüye oral yoldan tek doz halinde 50 mg dozda uygulanan talinolole ait farmakokinetik parametreler – He ve ark. (2007)'den değiştirilerek.

Parametre	X ± SD
AUC _{0-60h} (ng.saat/ml)	1763,7 ± 377,5
AUC _{0-∞} (ng.saat/ml)	1860,0 ± 377,9
C _{maks} (ng/ml)	147,8 ± 63,8
t _{maks} (saat)	2,0 ± 0,7
t _{1/2} (saat)	12,0 ± 2,6
CL/F (L/saat)	27,9 ± 5,5

2.7.5. Endikasyonları

Talinolol, akut taşikardi, instabil anjina pectoris, akut miyokard enfarktüsü, post miyokardial enfarktüs, arteriyel hipertansiyon ve koroner kalp hastalığında kullanılmaktadır (Verlag 2000; He ve ark. 2007).

2.7.6. Kontrendikasyonları

Konjestif kalp yetmezliği, II. ve III. derece atriyoventriküler blok, sinoatriyal blok, kardiyojenik şok, bradikardi, bronşiyal astım ve hipotansiyonda, ayrıca beta blokörlere aşırı duyarlılığı olanlarda ve pulmoner ödemde kullanılmamalıdır (Verlag 2000).

2.7.7. Yan Etkileri

Kardiyovasküler yan etkiler olarak bradikardi, hipotansiyon, ekstremitelerde soğukluk hissi ve uyuşma sayılabilir. Gastrointestinal yan etki olarak karın ağrısı, diyare ve bulantı görülebilir. Mental yavaşlama, kabus görme ve kısa süreli düşünce kaybı santral sinir sistemine ait yan etkilerdir. Bunun dışında, saç dökülmesi, işitme bozuklukları, kilo artışı ve erektile disfonksiyon bildirilmiştir. Renal bozukluklarda veya P-gp inhibitörleri ve indüktörleri ile birlikte kullanıldığında rutin terapötik ilaç izlemi yapılması yararlıdır (Verlag 2000; He ve ark. 2007).

2.7.8. Dozu ve Veriliş Yolu

Akut kalp ritim bozukluğu ve miyokard enfarktüsü sonrası talinolol i.v. yoldan 10 mg dozda uygulanır. İlaç damar içine 3-5 dakika içinde uygulanmalıdır. Aynı doz 10 dakika sonra tekrarlanır. Kalp fonksiyonları (EKG ile), kan basıncı ve nabzın yakından izlenmesi koşuluyla doz tekrar edilebilir. İnstabil anjinada 10-20 mg talinolol, 24 saat i.v. infüzyon ile uygulanır. Hipertansiyon tedavisi için, oral yoldan günde bir kez 100 mg veya 2 kez 50 mg dozda kullanılır. Gerektiğinde doz 300 mg'a kadar çıkartılabilir. Koroner kalp hastalığında ise doz 100-200 mg/gün'dür. Taşikardi durumlarında da 100-200 mg/gün dozunda uygulanır (Verlag 2000).

Böbrek yetmezliği olan hastalarda, talinololün oral biyoyararlanımının arttığı, yarılanma ömrünün uzadığı ve idrardan atılımının anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Özellikle ileri derecede böbrek yetmezliği bulunan hastalarda ($Cl_{cr} < 10$ ml/dakika) doz ayarlamasına gidilmelidir. Böbrek yetmezliği bulunan hastalarda dozun %30-50 oranında azaltılması tavsiye edilmektedir (Krueger ve ark. 2001).

2.7.9. İlaç Etkileşimleri

Talinolol, i.v. yoldan, verapamil veya diltiazem gibi kalp üzerine depresif etkisi bulunan kalsiyum antagonistleri ile birlikte uygulanmamalıdır. Disopiramid, kinidin ve amiodaron gibi antiaritmik ilaçlarla beraber talinololün i.v. olarak uygulanmasından kaçınılmalıdır (Verlag 2000). Talinolol, MAO (monoaminoksidaz) inhibitörleri, periferik kas gevşeticiler, oral antidiyabetikler ve alkolle birlikte alınmamalıdır. Talinolol hipoglisemiye eşlik eden taşikardiyi maskeleyeceğinden, insülin ve oral hipoglisemikler ile beraber kullanılmamalıdır (Verlag 2000). Non-steroidal antienflamatuvar ilaçlar vücutta su ve tuz tutulmasına yol açtığından, beta blokörlerin antihipertansif etkisini azaltabilir. Talinolol bu gruptaki ilaçlarla beraber uygulanmamalıdır (Verlag 2000).

Sülfasalazin, talinololün absorpsiyonunu ve biyoyararlanımını büyük ölçüde azaltır. Talinolol ve sülfasalazin beraber kullanılmamalı, eğer mutlaka birlikte kullanılmaları gerekiyorsa uygulamalar arasında 2-3 saatlik bir süre bırakılmalıdır (Terhaag ve ark. 1992).

2.7.10. Müstahzarları

Talinololün Almanya'da 50 ve 100 mg talinolol içeren film tabletleri ve 5 ml'sinde 10 mg talinolol içeren ampul şeklindeki preparatları mevcuttur (Cordanum® ASTA Medica AWD GmbH, Frankfurt a.M., Almanya) (Verlag 2000). İlaç Türkiye'de pazarlanmamaktadır.

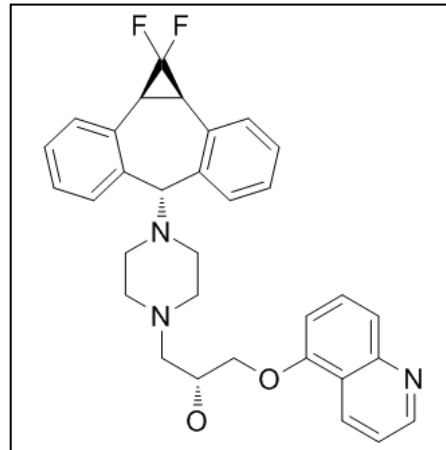
2.8. Zosukidar

2.8.1. Tanımı ve Tarihçesi

LY335979 olarak da isimlendirilen zosukidar, Syntex tarafından RS-33295-198 ismi ile lisans almış, en potent P-gp modulatorlerinden biridir. Bir siklopropildibenzosuran türevi olan zosukidar, aktivitesini arttıran dibenzosuberan kısmına bağlı bir diflorosiklopropil grubu içerir. Diğer üçüncü jenerasyon modulatorler gibi zosukidarın da farmakolojik etkisi yoktur. P-gp'ye yüksek afinite göstermesi için geliştirilmiştir (Pfiser ve ark. 1995; Dantzig ve ark. 1996; Starling ve ark. 1997).

2.8.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kimyasal ismi (2R)-1-{4-[(1aR,6r,10bS)-1,1-Difluoro-1,1a,6,10b-tetrahydrodibenzo[a,e]cyclopropa[c]cyclohepten-6-yl]piperazin-1-yl}-3-(quinolin-5-yloxy)propan-2-ol, trihydrochloride'dir. Kimyasal formülü $C_{32}H_{31}F_2N_3O_{2.3}HCl$ 'dür. Molekül ağırlığı 636,99 g/mol olan zosukidar sarı renkte bir tozudur. 100 mg/ml oranında DMSO'da, 23 mg/ml oranında suda ve <1 mg/ml oranında etanolde çözünür. Zosukidarın kimyasal açık formülü Şekil 2-8'de görülmektedir:



Şekil 2-8: Zosukidar'ın açık kimyasal formülü (Dantzig ve ark. 1996).

2.8.3. Farmakodinamik Özellikleri

Zosukidar 59 nM Ki ile P-gp'nin en potent modölatörlerinden biridir. Zosukidar P-gp'ye selektiftir, MRP1 (ABCC1), MRP2 (ABCC2) ve BCRP'yi inhibe etmemektedir. Zosukidar, P-gp eksprese eden murin lösemi (P388/ADR) implante edilmiş farelerde danurobisin, doksorubisin veya etoposid ile kombine verildiğinde sağkalım oranını anlamlı bir biçimde arttırmıştır. Parental ilaç-duyarlı UCLA-P3 tümör implante edilmiş farelerde, paklitaksel zosukidar ile verildiğinde kontrol grubuna göre tümör gelişimi gecikmiş ve zenograf yöntemi ile P-gp eksprese eden UCLA-P3.003 VLB akciğer kanser kütlelerinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir. Zosukidar bu ilaçların farmakokinetik düzeylerine etki etmemiştir. Bu durumun doksorubisin ve diğer antikanser ilaçların metabolizmasından sorumlu olan 4 ana sitokrom P450 enziminin zosukidar tarafından zayıf inhibisyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Zosukidarın selektif ve potent bir modölatör olması çoklu ilaç rezistansı çalışmalarındaki klinik önemini arttırmaktadır. Zosukidar ile yapılan klinik çalışmalar devam etmektedir (Dantzig ve ark. 2001; Shephard ve ark. 2003; Robak 2011).

Diğer üçüncü kuşak modölatörler gibi zosukidarın da farmakolojik etkisi yoktur ve P-gp'ye yüksek afinite göstermektedir. Ayrıca, bileşik yüksek oranda selektiftir. P-gp'nin selektif inhibisyonu ile zosukidar diğer taşıyıcı proteinler ve sitokrom P450 enzim yollarını inhibe etmemektedir (Dantzig ve ark. 2001). Fareler ve köpeklerle yapılan farmakokinetik çalışmalar zosukidarın birlikte verildiği sitotoksik ajanın maruziyetini engellemediğini göstermiştir (Slapak ve ark. 2001)

Çoklu ilaç direnci olan CEM/VLB₁₀₀ hücrelerinde zosukidarın etkisi araştırılırken, hücreler dört farklı grubu temsilen uygulanan antikanser ilaçlardan, doksorubisin, etoposid, vinblastin ve paklitaksele daha duyarlı hale gelmiştir. Çalışmada zosukidar varlığında ve yokluğunda ilaç duyarlılığı EC₅₀ olarak ölçülmüştür. Resistans CEM/VLB₁₀₀ hücreler 0,1 µM ve 0,2 µM zosukidar varlığında antikanser ilaçlara daha duyarlı hale gelirken, ilaca duyarlı parental CCRF-CEM hücreleri modölatörden

etkilenmemişlerdir. Zosukidar CEM/VLB₁₀₀ hücre membranına [³H]vinblastin ile dengeli bağlanma gerçekleştirir ve [³H]vinblastini Ki 59 nM ATP varlığında membrandan koparır. Zosukidarın dengeli bağlanması direkt ölçüldüğünde K_d 73 nM ve B_{max} 79 pmol/mg bulunmuştur. Bu değer ATP yokluğunda ölçülen [³H]vinblastin bağlanmasının B_{max} değerine çok yakındır. Bu durum zosukidarın P-gp'nin ATP bağlanmayan bölgesine bağlandığını öngörmektedir. P-gp substratı [³H]vinblastinin ilaca dirençli CEM/VLB₁₀₀ hücrelerinden ve ilaca duyarlı CCRF-CEM hücrelerinden artmış efluks göstermektedir. Tersine zosukidar ise aynı hücrelerden 3 saatlik süre boyunca efluks olmamıştır. Bu durum zosukidarın p-gp substratı olmadığını ve hücreler ile bağlandıktan sonra uzun süre modülatör olarak görev yaptığını göstermektedir (Dantzig ve ark.1996; 2001).

2.8.3.1. Sitokrom P-450 Üzerine Etkileri

Sitokrom P-450 (CYP450) enzimleri pek çok ilacın oksidatif metabolizmasında yer alan enzimlerdir. Bu enzimlerin 4 tanesi tüm ilaçların metabolizmasının %90'ından sorumludur. CYP3A4 %50'den fazla ilacı ve P-gp ile taşınan dört grup antikanser ilacını da metabolize etmektedir. Bu enzimlerin zosukidara afinitesi, her bir izoenzimin seçici substratı kullanılarak, enzim kinetik tayini ile hesaplanmıştır. CYP3A4'ün zosukidara afinitesi P-gp'ye göre 60 kat daha az bulunmuştur (Dantzig ve ark. 2001).

2.8.3.2. Zosukidarın İn vivo etkinliğinin değerlendirilmesi

Zosukidar, çoklu ilaç direnci gösteren P-gp'yi aşırı eksprese eden tümör hücrelerini duyarlılaştırma etkisi açısından incelenmiştir (Dantzig ve ark.1996; Starling ve ark. 1997). P388/ADR P-gp eksprese eden çoklu ilaç direnci gösteren lösemi hücre dizisidir ve antikanser ilaçlara karşı P-gp modülatörleri tarafından duyarlılaştırma çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. P388/ADR hücreleri implante edilmiş farelerde i.v. verilen zosukidar, i.p. uygulanan antineoplastikler daunorubisin, doksorubisin veya etoposid ile beraber verildiğinde sağkalım oranı artmıştır. Bu sonuç zosukidarın tümör

hücresindeki veya normal hücrelerdeki P-gp'yi inhibe etmesine bağlı olabilir. Ayrıca, bu antineoplastik ilaçların 8 saatlik plazma düzeyleri ölçülmüş ve AUC değerleri hesaplanmıştır. Bu verilere göre siklosporin A AUC üzerinde belirgin bir etki yaparken, zosukidar çok küçük bir etki yapmıştır. Bu durum artmış sağkalım oranının P388/ADR implante edilmiş farelerde P-gp'nin tümör bölgesindeki direkt modülasyonuna bağlı olduğunu düşündürmektedir. Paklitaksel de başka bir tümör modelinde, insan küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde incelenmiştir. Paklitaksel zosukidar ile kombine uygulandığında P-gp eksprese eden UCLA-P3.003VLB tümörler üzerine etkili bulunmuştur. Kombine verilen paklitaksel ve zosukidar ile tümör kitlesinde azalma gözlenmiş, kilo kaybı olmamış ve plazma paklitaksel düzeyleri değişmemiştir (Starling ve ark. 1997).

Zosukidar'ın Faz I doz-artış çalışmaları ilerlemiş maligniteleri bulunan kanser hastaları üzerinde yapılmıştır. Zosukidar i.v. infüzyon veya oral olarak doksorubisin ile kombine veya tek başına verilmiştir (Rubin ve ark. 2002; Sandler ve ark. 2004). Zosukidar iyi tolere edilmiştir. Ayrıca doksorubisin toksisitesinde de artış gözlenmemiştir. Zosukidar'ın P-gp'yi inhibe etme yeteneğini değerlendirmek amacıyla P-gp substratı rodamin 123'ün birikimi çalışmadaki hastalardan alınan CD56(+) lenfositler üzerinde flow sitometri (akış sitometresi, akışlı hücre ölçümü) ile ölçülmüştür. P-gp inhibisyon düzeyinin zosukidara sistemik maruziyete bağlı olduğu bulunmuştur (Robey 1999; Sandler ve ark. 2004). Zosukidar oral verildiğinde geri dönüşlü serebral toksisite gözlenmiştir. Ataksi doz kısıtlayıcı toksisite olmuştur. Maksimum tolere edilebilir oral doz 4 gün boyunca 12 saatte bir 300 mg/m² bulunmuştur (Rubin ve ark. 2002). Zosukidar i.v. verildiğinde oral doza göre daha az yaygın serebral toksisite gözlenmiştir. Bu toksisite ağırlıklı olarak serebral bağlantılı tremordur. Zosukidar maksimal i.v. dozu 480-640 mg/m²'dir. Toksisite sebebiyle oral doz ile istenen P-gp inhibe edici plazma konsantrasyonu sağlanamazken, i.v. doz ile sağlanabilmektedir. Doksorubisin, zosukidar farmakokinetiği üzerine etki yapmamıştır. Zosukidar, doksorubisin klirensini %17 azaltmış ve AUC'yi %25 arttırmıştır.

Akut miyeloid lösemili hastalara danurobisin ve sitarabin ile kombine verilen zosukidar hastalarda iyi tolere edilmiştir. Ancak, i.v. infüzyon kesildikten 8 saat sonra P-gp inhibisyonu azalmıştır (Gerrard ve ark. 2004). Akut miyeloid lösemili hastalara yapılan başka bir çalışmada >%90 P-gp inhibisyon düzeyine 2 saatlik 132 ng/ml zosukidar düzeyi ile ulaşılmış ve bunun sonucunda Faz II çalışmaları için önerilen zosukidar dozunun 700 mg/gün olduğu bulunmuştur (Lancet ve ark. 2009; Robak ve ark. 2011). CHOP rejimi uygulanan tedavi edilemeyen Hodgkins olmayan lenfoma hastalarında yapılan faz I/II çalışmasında, zosukidarın CHOP rejimi ile beraber güvenle verilebileceği bulunmuştur. Ataksi ancak 24 saati aşan dozlarda gözlenmiştir (Morschhauser ve ark. 2007).

2.8.4. Farmakokinetik Özellikleri

Daunorubisin ile kombine verilen zosukidarın farmakokinetik özelliklerinin değerlendirildiği bir Faz I çalışmasında, zosukidarın iki-kompartmanlı farmakokinetik model gösterdiği tespit edilmiştir (Callies ve ark. 2004).

Zosukidarın i.v. verildiği bir Faz I çalışmasında, zosukidarın lineer farmakokinetik gösterdiği bulunmuştur. Zosukidarın farmakokinetik parametreleri Tablo 2-8’de verilmiştir.

İn vitro ve in vivo zosukidar metabolizmasını inceleyen bir çalışmada; zosukidar yarı ömrü sıçan ve maymun karaciğer mikrozomlarında <10 dk, köpek karaciğer mikrozomlarında 10 dk, insan karaciğer mikrozomlarında 20 dk olarak bulunmuştur. Zosukidar metabolitleri izole edilmeye çalışılmış ancak stabil olmadıkları için başarılı olunamamıştır. CYP3A4 ile inkübe edilmiş insan karaciğer kromozomlarında zosukidar daha hızlı şekilde kaybolmuş ve metabolitlerin kararlı durumda kalma süresi artmıştır.

Tablo 2-8: Kanser hastalarında yapılan Faz I çalışmasında i.v. infüzyon ile verilen zosukidarın farmakokinetik özellikleri (Sandler ve ark. 2004).

Doz (mg/m ² /gün)	n	C _{maks} µg/litre (aralık)	AUC µg*saat/litre (aralık)
20-60	9	NA*	NA*
80	3	64 (54–75)	NA*
160	3	119 (67–157)	5890 (2820–7800)
320	3	234 (196–283)	10,960 (8,600–14,050)
640	6	786 (637–954)	33,790 ^b (24,550–43,520)
640	4	790 (566–951)	35,260 (26,450–39,030)
480	10	427 (247–581)	19,400 (10,320–24,950)
Parametreler		Aritmetik ortalama (±SD)	
Cl (litre/saat)		96 (±36)	
V _{ss} (litre)		1190 (±500)	
t _{1/2} (saat)		17 (±7,3)	

*NA: tespit edilememiştir.

2.8.5. Dozu ve Veriliş Yolu

Yapılan Faz I çalışmalarında; maksimum tolere edilebilir oral doz 4 gün boyunca 12 saatte bir 300 mg/m² bulunmuştur (Rubin ve ark. 2002). Zosukidarın maksimal i.v. dozu ise 480-640 mg/m² bulunmuştur (Sandler ve ark. 2004). Akut miyeloid lösemili hastalara yapılan başka bir çalışmada >%90 P-gp inhibisyon düzeyine 2 saatlik 132 ng/ml zosukidar düzeyi ile ulaşılmış ve bunun sonucunda Faz II çalışmaları için önerilen zosukidar dozunun 700 mg/gün olduğu bulunmuştur (Lancet ve ark. 2009, Robak ve ark. 2011). Akut miyeloid lösemi hastalarında zosukidarın etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada, zosukidar dozu 550 mg seçilmiştir (Cripe ve ark. 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 15-25 g ağırlığında, 10-12 haftalık C57BL/6J dişi ve erkek fareler kullanılmıştır. Fareler, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Fareler standart pellet yem ile beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir. Fareler 4-5 tanesi bir arada olmak üzere uygun büyüklükteki şeffaf plastik kafeslerde, 22 ± 2 °C'de ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmişlerdir. Deneyden önce ve deney günleri hayvanlara su ve yem kısıtlaması uygulanmamıştır. Deneylere, İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (İÜHADYEK), 03.05.2013 tarihli ve 60 no.lu Etik Kurul kararının alınmasından sonra başlanmıştır.

3.2. Kullanılan İlaçlar ve Formülasyonu

Talinolol (TAL): Arzneimittelwerk Dresden GmbH (Radebeul-Almanya) (Seri No. 9604014/01).

Talinolol (TAL): İ.p uygulama için talinolol, polietilenglikol 400: etanol: su (15:15:70, v/v/v) karışımında çözündürülmüş ve 2 mg/ml olarak hazırlanmıştır (Chu ve ark. 2011).

Zosukidar (ZSQ): Medkoo Biosciences- ABD (CAS No: 167465-36-3).

Zosukidar (ZSQ): İlaç %5'lik mannitol çözeltisi içinde çözündürülmüştür. 2 mg/ml olarak hazırlanmıştır (Dantzig ve ark. 1996).

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Metanol: HPLC Grade (No. 6007)	Merck (Almanya)
Asetonitril: HPLC Grade (No. 1030)	Merck (Almanya)
Potasyum dihidrojen fosfat: Saf	Merck (Almanya)
o-Fosforik asit: Saf	Merck (Almanya)
Eter: Saf	Merck (Almanya)
Su: HPLC grade	Milli Q-Millipore (ABD)
(rezistans değeri 18,2 MΩ.cm)	
Oasis® ekstraksiyon kartuşu: HLB tipinde	Waters (ABD)
(1 cc/30 mg)	
HPLC vialleri: 200 µL'lik	Waters (ABD)
HPLC kolonu: Phenomenex 250 mm x 4,6 mm (5 µm) C ₁₈ ters faz kolon	
HPLC ön kolonu: Phenomenex 2,1 x 3,9 mm C ₁₈ ters faz ön kolon	

Çalışmada ayrıca Eppendorf tüpleri (2 mL) ve otomatik mikropipetler, kapaklı polipropilen ve cam tüpler, otomatik pipet uçları, alüminyum folyo, parafilm ve çeşitli cam laboratuvar malzemeleri kullanılmıştır.

3.4. Kullanılan Aletler

2695 Ayırma Modülü (HPLC):	Waters (ABD)
2487 UV/VIS Dedektör:	Waters (ABD)
Hassas Terazî:	Sartorius (Almanya)
pH-metre:	Orion (ABD)
Ultrasonik Banyo:	Elma (Almanya)
Vakum Pompası (-0,40 mbar):	KNF (Almanya)
VacElut® Ekstraksiyon Tablası:	Varian (ABD)

Vorteks Cihazı:	IKA (Almanya)
Santrifüj Aleti:	VWR (ABD)
Etüv:	Susarka (Polonya)
Buzdolabı (+4°C):	Arçelik (Türkiye)
Derin Dondurucu (-20°C):	Arçelik (Türkiye)

3.5. Bilgisayar Programları

HPLC sistemini kontrol etmek için Empower (Waters-ABD) kullanılmıştır. Hesaplamalar Microsoft Excel 2010 ile istatistiksel değerlendirme ise SPSS 20.0 (IBM-ABD) programı ile yapılmıştır.

3.6. İn vivo çalışmalar

Deney grupları her bir zaman noktasında 5 hayvan olacak şekilde (n= 5) düzenlenmiş ve Tablo 3-1’de gösterilmiştir. Talinolol (Tal) uygulaması, hayvanlara ışık verilmesini takip eden 3. Saatte (ZT3; Zeitgeber time-3) yapılmıştır. Zosukidar (ZSQ) uygulamaları ise talinolol uygulamasından bir saat önce gerçekleştirilmiştir

Tablo 3-1: Deney grupları

Deney grupları	Açıklama
Tal (erkek)	Sadece talinolol uygulanan erkek fareler
Tal+ZSQ (erkek)	Talinolol ve zosukidar uygulanan erkek fareler
Tal (dişi)	Sadece talinolol uygulanan dişi fareler
Tal+ZSQ (dişi)	Talinolol ve zosukidar uygulanan dişi fareler

Deney hayvanlarına talinolol ve zosukidar intraperitoneal (i.p.) yoldan sırası ile 20 mg/kg ve 30 mg/kg dozda uygulanmıştır. Zosukidar’ın organizmaya dağılımının

sağlanması için, zosukidar uygulaması talinolol uygulanmasından 1 saat önce gerçekleştirilmiştir. İlaç uygulamaları sırasında anestezi kullanılmamıştır. İlaçların uygulanmasını takiben kan örnekleri 30, 60, 120, 240, 300. dakikalarda alınmıştır.. Farelerin eter anestezisi altında toraksı açılmış ve insülin enjektörü ile kalpten 0,5-0,8 ml kan heparinli eppendorf tüplere alınarak fareler feda edilmiştir. Alınan kanlar, 3500 dönüş/dakika hızında hemen santrifüjlenerek plazmaları ayrılmıştır. Plazmalar analiz edilinceye kadar -20 °C’de saklanmıştır.

3.7. Talinololün Fare Plazmasından Ters Faz Kromatografi İle Tayini

3.7.1. Analitik Tayin Metodu

Fare plazma örneklerindeki talinolol konsantrasyonlarının tayini için Oertel ve ark. ile Pathak ve arkadaşlarının kullandığı HPLC metodu esas alınmıştır (Oertel ve ark. 1994; Oertel ve ark. 1998; Pathak ve ark. 2010). Talinololün fare plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar Tablo 3-2’ de verilmiştir.

Tablo 3-2: Talinololün fare plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar

Kolon	Phenomenex [®] 250 mm x 4 mm (5 µm) C ₁₈ ters faz kolon
Ön kolon	Phenomenex [®] 2,1 x 3,9 mm C ₁₈ ters faz ön kolon
Mobil faz	0,05 M fosfat tamponu : asetonytril = 73:27 (v:v) ; pH=4
Akış hızı	1 ml/dak
Kolon sıcaklığı	35°C
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Dedektör	2487 çift dalga boylu UV/VIS dedektör
Dalga boyu	242 nm
Alıkonma zamanı	9,5 dakika
Ekstraksiyon	SPE kolon (Oasis [®] 1 cc/30 mg; Waters) ile katı faz ekstraksiyonu

3.7.2. Mobil Fazın Hazırlanışı

0,05 M fosfat tamponunun hazırlanması için 6,8 gram KH_2PO_4 hassas terazide tartılmış ve 1 L'lik balon jode HPLC saflığındaki distile su ile hacmine tamamlanmıştır. 1 L'lik mezürde 730 ml potasyum dihidrojen fosfat tamponu ile 270 ml asetonitril karıştırılarak mobil faz elde edilmiştir. Mobil fazın pH'sı 1M o-fosforik asit ile 4'e ayarlanmıştır. Mobil faz hazırlandıktan sonra ultrasonik banyoda 30 dakika süre ile degaze edilmiştir.

3.7.3. Biyoanalitik Yöntemin Validasyonu

Validasyon, herhangi bir metod, işlem, cihaz, materyal, faaliyet ve sistemin gerçekten kendisinden beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanmasıdır. Analitik metod validasyonundaki parametreler doğrusalılık, doğruluk, kesinlik, seçicilik, teşhis sınırı, kantitatif sınır, geri kazanım oranı ve stablitedir (Okyar 2004). Çalışmamızda valide edilmiş analitik yöntem kullanılmıştır. Kullanılan analitik yöntemin doğrusalılık, doğruluk ve kesinliğinin saptanması amacıyla gerek talinolole ait standart çözeltiler, gerekse talinolol spike edilmiş plazma örnekleriyle çalışılmıştır.

3.7.4. Talinololün Plazmadan Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon şu şekilde gerçekleştirilmiştir: Oasis[®] 1cc/30mg ekstraksiyon kartuşlarından önce 1 ml metanol ve ardından 1 ml distile su geçirilerek şartlandırılmıştır. Daha sonra numune toplama saatlerinde farelerden elde edilen plazmaların her birinden 0,15 - 0,25 ml'lik örnekler kartuşlardan geçirilmiştir. Kartuşlar %5 metanol içeren 1 ml distile su ile yıkanmıştır. 2 dakika kurutulduktan sonra kirli çözelti içeren tüpler atılmıştır. Talinolol 0,5 ml metanol ile temiz cam tüplere alınmıştır. İşlem bir vakum pompası ve kartuştan geçirilen sıvıların toplandığı cam tüpleri içeren özel bir cam kavanoz (VacElut[®]) ile gerçekleştirilmiştir. Vakum pompasının basıncı 0,1 bar'a ayarlanmıştır ve kartuşlardan dakikada 1 ml'den daha hızlı sıvı geçişine izin

verilmemiştir. Boş örnek olarak ilaç uygulaması yapılmamış sıçanlardan alınan kan örneğinden elde edilen plazma kullanılmıştır. Her analiz günü için yeni bir standart eğri çizilmiş ve $y=ax+b$ formülü kullanılarak, örneklerin pik alanından konsantrasyonları hesaplanmıştır. Elde edilen ekstreler 2 kez ayırma modülüne enjekte edilmiştir.

3.8. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması

Kromatogramlardan elde edilen pik alanları kullanılarak $y=ax+b$ denklemine göre çizilen kalibrasyon eğrisinden talinololün plazma örneklerindeki konsantrasyonları hesaplanmıştır. Talinololün 0-5. saat için plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi, Microsoft Excel programı kullanılarak elde edilmiştir. Plazmadaki talinolol düzeyleri ortalama $\pm$ standart hata ($X \pm SEM$) olarak gösterilmiştir. 0-5. saat arasında her zaman noktasındaki ortalama konsantrasyonlardan elde edilen plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi kullanılarak, eğri altında kalan alan (AUC_{0-5sa}) lineer trapezoidal yöntemle (yamuklar yöntemi) göre hesaplanmıştır. $t=0$ ve son örneğin alındığı zaman noktası arasındaki AUC değerleri ortalama $\pm$ standart hata ($X \pm SEM$) olarak gösterilmiştir. Maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) ve maksimum konsantrasyona ulaşma zamanı (t_{maks}) parametreleri plazma konsantrasyonu-zaman eğrisine bakılarak tespit edilmiştir. Son üç zaman noktasına karşılık gelen ortalama plazma talinolol konsantrasyonları ile üstel konsantrasyon-zaman grafiği çizilmiştir. $y=C_0^{-k_{el}.x}$ denklemi elde edilmiştir. Eliminasyon hız sabiti (k_{el}) bu denklemden bulunmuştur. Yarılanma ömrü ($t_{1/2}$), $0,693/k_{el}$ işleminden tespit edilmiştir. Dağılım hacmi (V_d) Doz/C_0 işleminden elde edilmiştir. Total klirens (Cl) ise $k_{el} \cdot V_d$ işlemi ile hesaplanmıştır.

3.9. İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel anlamlılığı parametrik bir test olan çift yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir. 0,05'ten küçük olan p değerleri ($p < 0,05$) anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Biyoanalitik Yöntem Validasyonuna Ait Bulgular

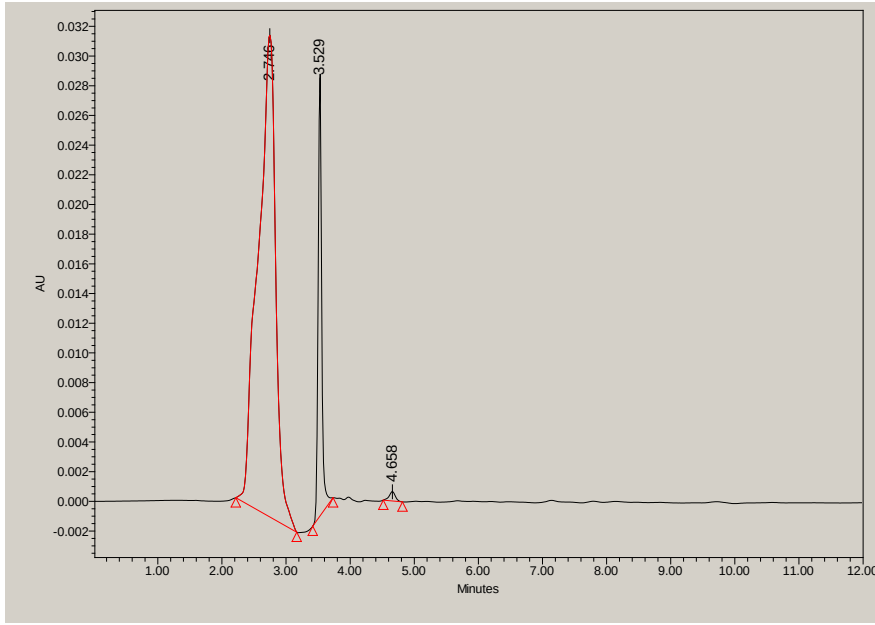
0,1 µg/ml, 0,2 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, 5 µg/ml konsantrasyonlarında talinololün metanoldeki standart çözeltilerinin (n= 5-6) kalibrasyon eğrisi doğrusallık göstermektedir. Değişim katsayısı (%CV) değerleri bu konsantrasyonlar için %1,08 – 3,41 arasındadır. Gün içi tekrarlanılabilirlik çalışması için 0,2 µg/ml, 1 µg/ml, 5 µg/ml konsantrasyonları kullanılmıştır (n= 6). Bu konsantrasyon için %CV değerleri sırasıyla %5,69 – 1,59 – 3,10 bulunmuştur. Günler arası tekrarlanılabilirlik çalışması için 0,2 µg/ml, 1 µg/ml, 5 µg/ml konsantrasyonları kullanılmıştır (n= 6). Bu konsantrasyon için %CV(RSD) değerleri sırasıyla %1,46 – 1,19 – 2,83 bulunmuştur. Talinololün plazma örneklerinden ekstraksiyonu sonucu elde edilen geri kazanım oranları 0,05 µg/ml, 0,1 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml konsantrasyonları için ortalama % 83,9 – 105,6 aralığında bulunmuştur (n= 4-6) ve %CV değerleri %2,34 – 9,34 aralığındadır.

4.1.1. Talinolol Standartlarına ait Kromatogram Örnekleri

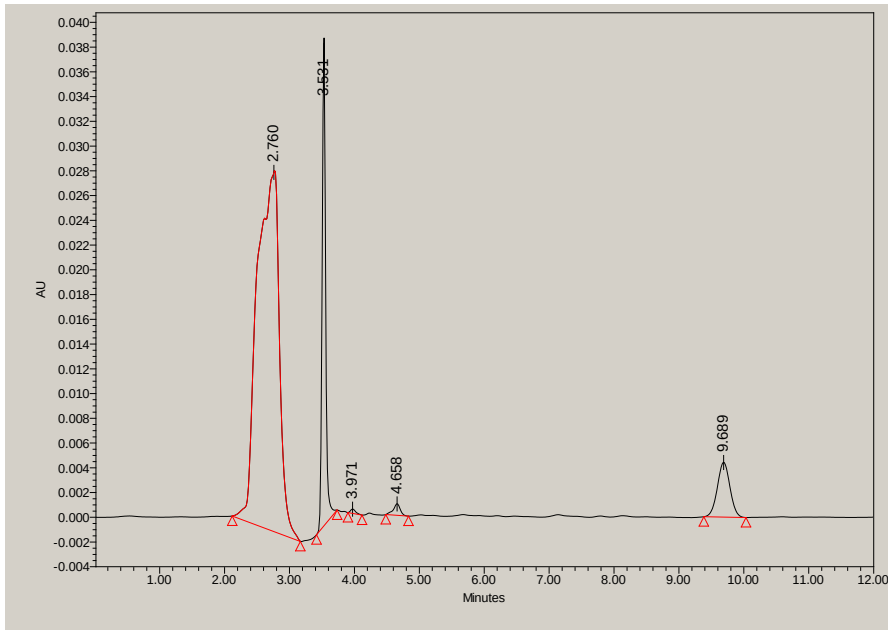
Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogramlar Şekil 4-1 ve Şekil 4-2’de ve talinololün metanoldeki çözeltisine ait kromatogram Şekil 4-3’te gösterilmektedir. Belirtilen koşullarda talinolol piki 9,8. dakikada gözlenmiştir

4.1.2. Tayin Sınırları

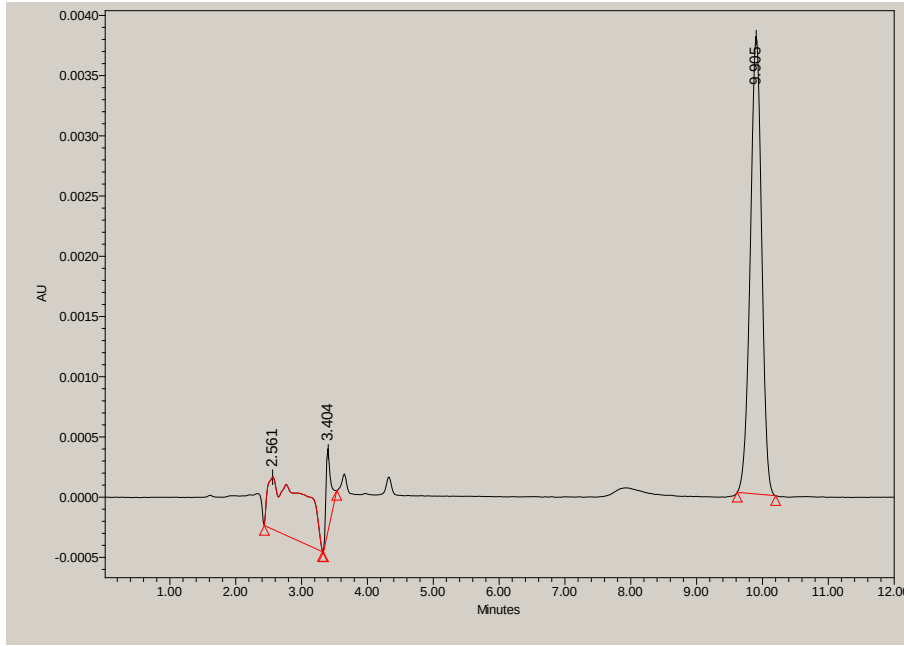
Kantifiye edilebilir minimum talinolol konsantrasyonu 50 ng/ml, teşhis edilebilir minimum talinolol konsantrasyonu 25 ng/ml olarak belirlenmiştir.



Şekil 4-1: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (boş plazma numunesinin ekstraksiyonu).



Şekil 4-2: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (1µg/ml'lik numune ekstre edilmiştir).



Şekil 4-3: Talinololün metanoldeki standart çözeltisine ait kromatogram (1µg/ml).

4.2. Talinololün Zosukidar Varlığında Dişi ve Erkek Farelerdeki Bulguları

20 mg/kg dozda talinololün i.p. yoldan; erkek ve dişi farelere tek başına ve zosukidar ile beraber uygulandığı gruplara ait 30, 60, 120, 240 ve 300. dakikalarda saptanan talinolol plazma konsantrasyonları Tablo 4-2’de verilmiştir.

Tüm gruplarda maksimum plazma konsantrasyonuna 30. dakikada ulaşılmıştır. Sadece talinolol uygulanan erkek farelerde (TAL (erkek)) maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) $6,56 \pm 1,16$ µg/ml bulunmuştur. Talinolol konsantrasyonu giderek azalmış ve 5. saatte $0,05 \pm 0,04$ µg/ml’ye düşmüştür. Talinololün 30 mg/kg zosukidar ile beraber uygulandığı erkek farelerde (TAL+ZSQ (erkek)) talinololün plazma konsantrasyonu 30. dakikada $10,28 \pm 4,57$ µg/ml değerine ulaşmış 5. saat sonunda azalarak $0,06 \pm 0,06$ µg/ml olarak tespit edilmiştir. TAL+ZSQ (erkek) grubunda talinolol plazma konsantrasyonu TAL (erkek) grubuna göre %57 oranında artmıştır.

Sadece talinolol uygulanmış dişi farelerde (TAL (dişi)) maksimum plazma konsantrasyonu $4,45 \pm 1,41$ $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Talinolol konsantrasyonu TAL (dişi) grubunda 2. saatte $0,93 \pm 0,07$ $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiş, daha sonra 4. ve 5. saatlerde plazmada tayin edilememiştir. Talinolol ile birlikte zosukidar uygulanan dişi farelerde (TAL+ZSQ (dişi)) C_{maks} değeri $7,93 \pm 1,77$ $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. 5. saatte giderek azalarak $0,09 \pm 0,09$ $\mu\text{g/ml}$ değerine ulaşmıştır. TAL+ZSQ (dişi) grubunda talinolol plazma konsantrasyonu TAL (dişi) grubuna göre %78 oranında artmıştır.

Sadece talinolol uygulanan kontrol grubunda, erkek farelerde dişilere göre talinolol C_{maks} ve $\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$ değerleri sırasıyla %47 ve %27 daha fazla bulunmuştur. Talinolol ile birlikte Zosukidar uygulanan gruplarda erkeklerde dişilere göre talinolol C_{maks} değeri %30 artış göstermiştir.

Veriler çift yönlü ANOVA ile değerlendirilmiş ve cinsiyetin talinolol C_{maks} değeri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p=0,49$). Ek olarak, P-gp inhibitörü zosukidarın C_{maks} üzerinde etkisi saptanmamıştır ($p=0,25$).

TAL (erkek) grubunda 0-5. saatler arasında hesaplanan plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altındaki alan ($\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$) $7,18 \pm 1,38$ $\mu\text{g.h/ml}$ 'dir. TAL+ZSQ (erkek) grubunda ise $\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$ değeri $12,13 \pm 4,16$ $\mu\text{g.h/ml}$ olarak hesaplanmıştır. TAL+ZSQ (erkek) $\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$ değerinde TAL (erkek) grubuna göre %69 artış gözlenmiştir. TAL (dişi) grubunda hesaplanan $\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$ değeri $6,13 \pm 1,21$ $\mu\text{g.h/ml}$ 'dir. TAL+ZSQ (dişi) grubunda ise $\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$ değeri $12,37 \pm 2,55$ $\mu\text{g.h/ml}$ olarak hesaplanmıştır. TAL+ZSQ (dişi) $\text{AUC}_{0-5\text{sa}}$ değerinde TAL (dişi) grubuna göre %102 artış gözlenmiştir.

AUC verileri yine parametrik bir test olan çift yönlü ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir. Buna göre cinsiyetin talinolol AUC'sine anlamlı bir etkisi yoktur ($p=0,97$). Zosukidarın, talinolol AUC'si üzerinde etkisi ise anlamlılığa yakın ($p=0,05$), olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4-1: C57BL/6J dişi ve erkek farelere 20 mg/kg dozda i.p. uygulanan talinolole ait hesaplanan farmakokinetik veriler.

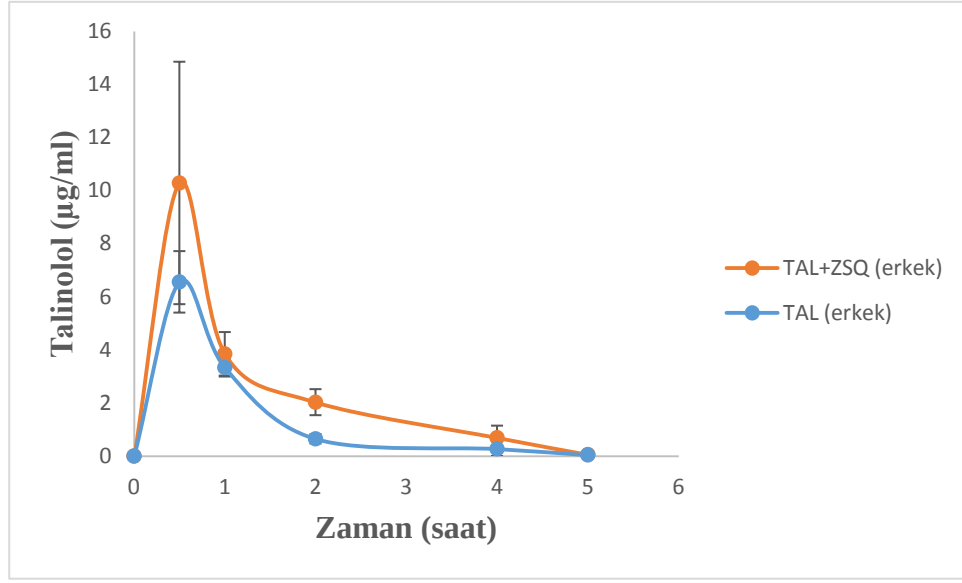
	TAL erkek	TAL +ZSQ erkek	TAL dişi	TAL +ZSQ dişi
AUC_{0-5sa} (µg.sa/ml)*	7,18 ± 1,38	12,13 ± 4,16	6,13 ± 1,21	12,37 ± 2,55
C_{maks} (µg/ml)*	6,56 ± 1,16	10,28 ± 4,57	4,86 ± 1,40	7,93 ± 1,77
k_{el} (sa⁻¹)	0,85	1,10	NA	0,94
t_{1/2} (sa)	0,82	0,63	NA	0,74
V_d (ml)	92,75	16,66	NA	26,61
Cl (ml/sa)	78,56	18,36	NA	24,88

*Ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Diğer parametreler ortalama olarak verilmiştir. NA: hesaplama yapılamamıştır.

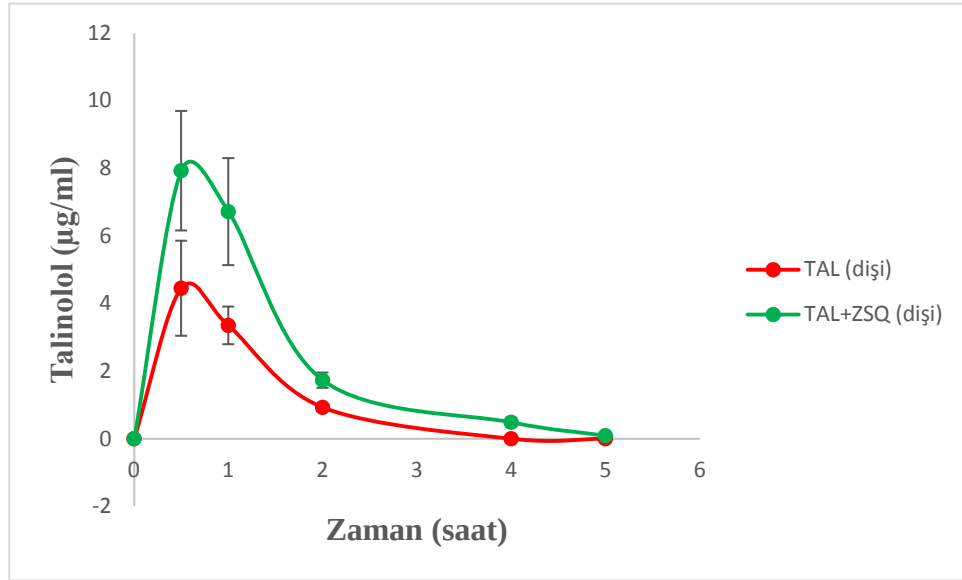
TAL (erkek), TAL+ZSQ (erkek), TAL (dişi), TAL+ZSQ (dişi) gruplarına ait karşılaştırmalı plazma konsantrasyon zaman eğrileri Şekil 4-4, Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7’de gösterilmiştir. Talinolole ait AUC_{0-5sa}, C_{maks}, k_{el}, t_{1/2}, V_d, Cl parametreleri Tablo 4-1’de verilmiştir. Karşılaştırmalı AUC_{0-5sa} ve C_{maks} histogramları Şekil 4-8, Şekil 4-9, Şekil 4-10 ve Şekil 4-11’de verilmiştir.

Tablo 4-2: C57BL/6J dişi ve erkek farelere talinololün tek başına ve zosukidar ile birlikte i.p uygulanmasını takiben saptanan talinolole ait plazma konsantrasyon verileri. Ort: ortalama; SD: standart sapma; SE: standart hata.

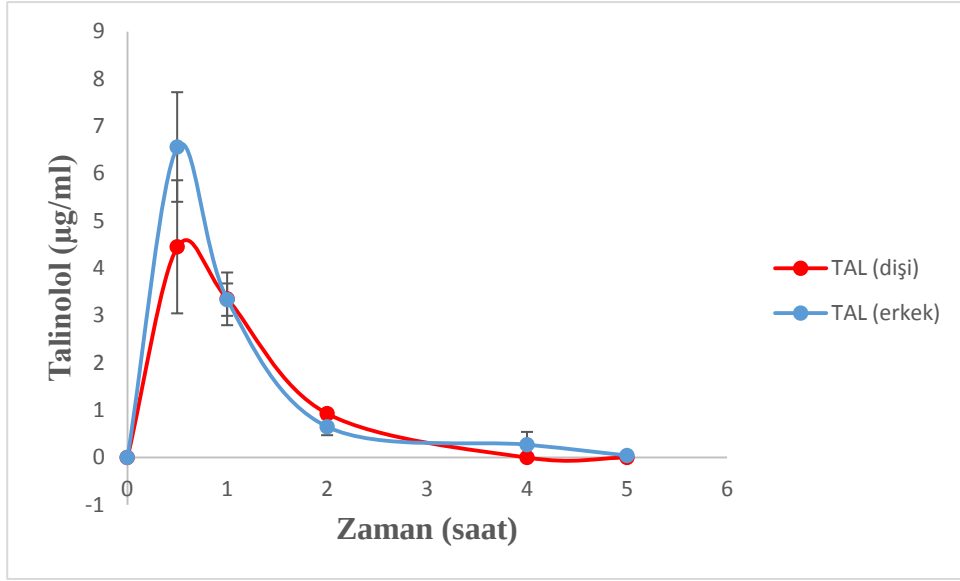
Zaman Noktaları (dk)	Fare	TAL (erkek)				TAL + ZSQ (erkek)				TAL (dişi)				TAL +ZSQ (dişi)			
		Talinolol (µg/ml)	Ort.*	SD	SE	Talinolol (µg/ml)	Ort.	SD	SE	Talinolol (µg/ml)	Ort.	SD	SE	Talinolol (µg/ml)	Ort.	SD	SE
30'	f1	7,38	6,56	2,59	1,16	3,33	10,28	10,21	4,57	0,81	4,45	3,14	1,40	9,47	7,93	3,95	1,77
	f2	8,16				11,4				1,37				12,36			
	f3	5,33				5,4				5,82				10,2			
	f4	2,69				3,68				7,69				3,02			
	f5	9,23				27,6				6,56				4,58			
60'	f1	3,33	3,33	0,76	0,34	0,9	3,85	1,83	0,82	2,25	3,35	1,25	0,56	4,69	6,72	3,54	1,58
	f2	4,4				5,89				5,04				5,58			
	f3	2,46				4,62				3,66				10,78			
	f4	2,79				3,94				2				2,54			
	f5	3,69				3,9				3,81				10			
120'	f1	0,57	0,65	0,4	0,18	1,46	2,03	1,1	0,49	0,77	0,93	0,15	0,07	1,38	1,73	0,51	0,23
	f2	0,75				1,24				0,82				1,22			
	f3	0				1,07				1,15				1,72			
	f4	0,96				3,52				0,97				1,8			
	f5	0,96				2,85				0,91				2,53			
240'	f1	0	0,27	0,6	0,27	0	0,69	1,01	0,45	0	0	0	0,00	0	0,49	0,3	0,13
	f2	0				2,44				0				0,76			
	f3	1,35				0,58				0				0,66			
	f4	0				0,44				0				0,59			
	f5	0				0				0				0,43			
300'	f1	0,21	0,04	0,09	0,04	0,28	0,06	0,13	0,06	0	0	0	0,00	0	0,09	0,2	0,09
	f2	0				0				0				0			
	f3	0				0				0				0			
	f4	0				0				0				0			
	f5	0				0				0				0,45			



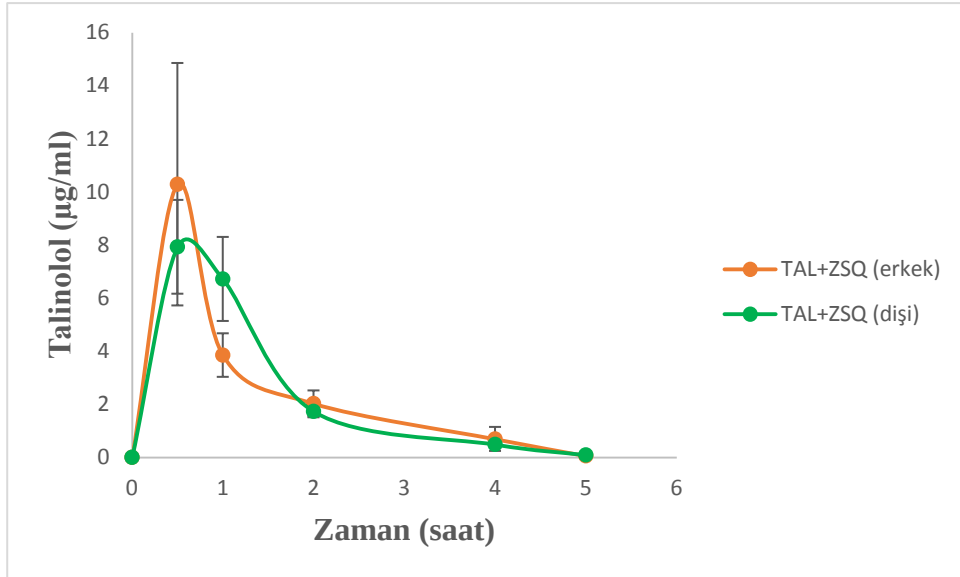
Şekil 4-4: TAL (erkek) ve TAL+ZSQ (erkek) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama $\pm$ SE).



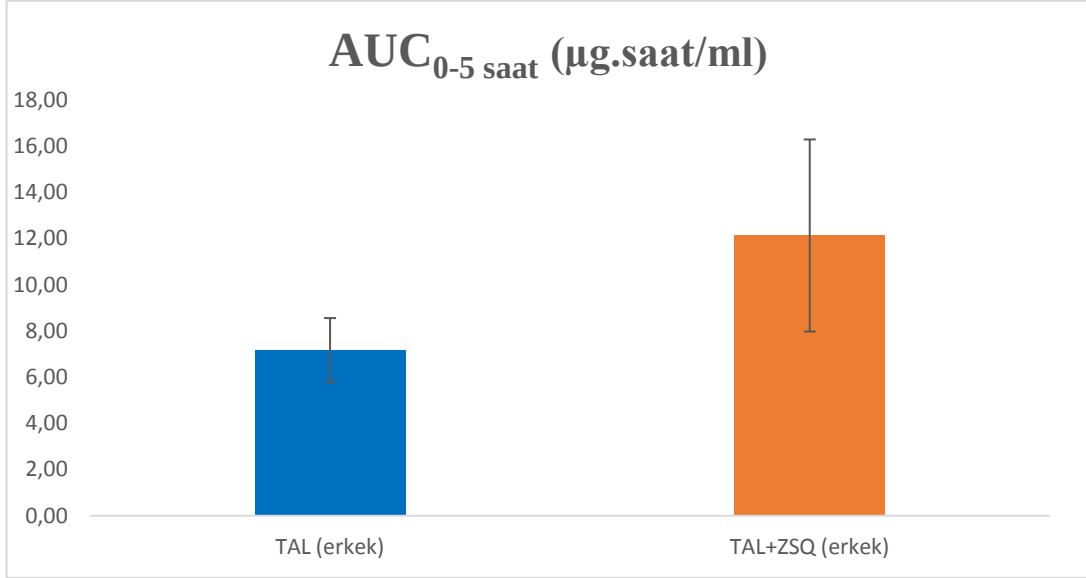
Şekil 4-5: TAL (dişi) ve TAL+ZSQ (dişi) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama $\pm$ SE).



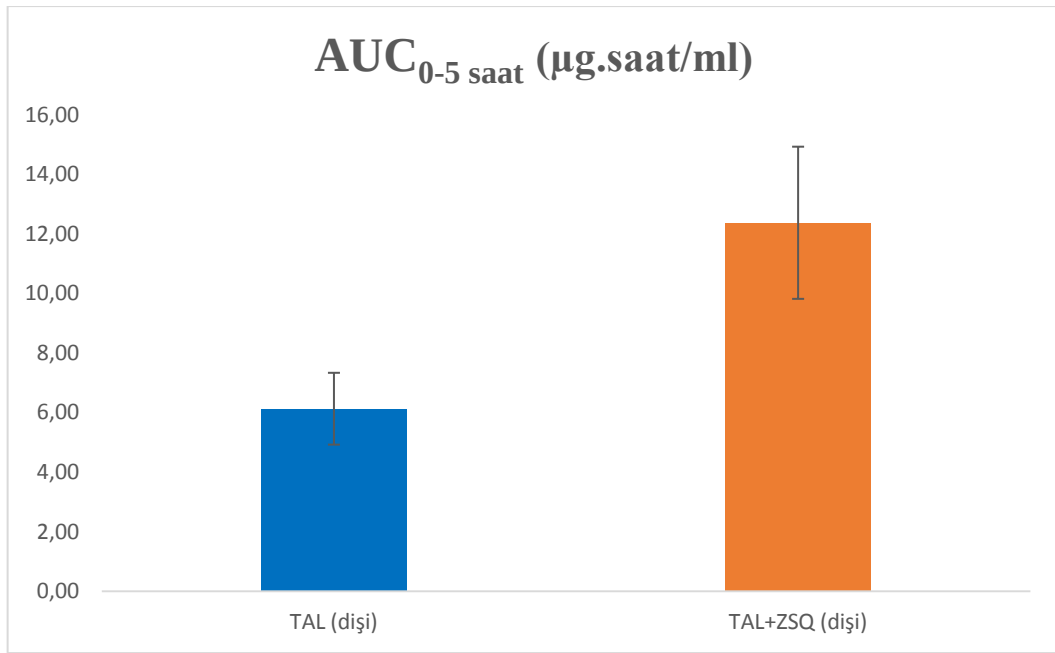
Şekil 4-6: TAL (erkek) ve TAL (dişi) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama $\pm$ SE).



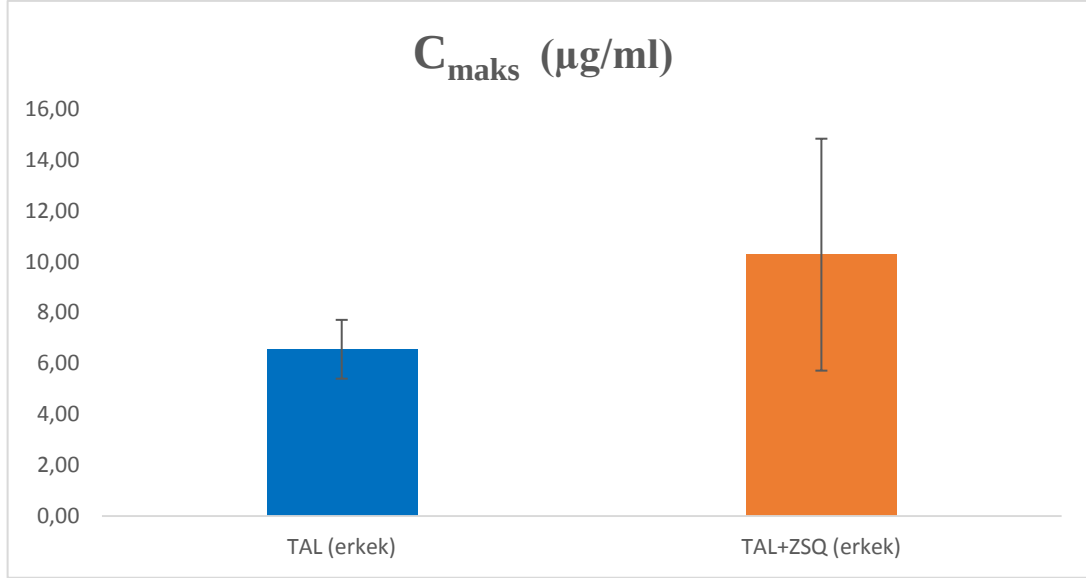
Şekil 4-7: TAL+ZSQ (erkek) ve TAL+ZSQ (dişi) gruplarının plazma talinolol konsantrasyon zaman eğrisi (ortalama $\pm$ SE).



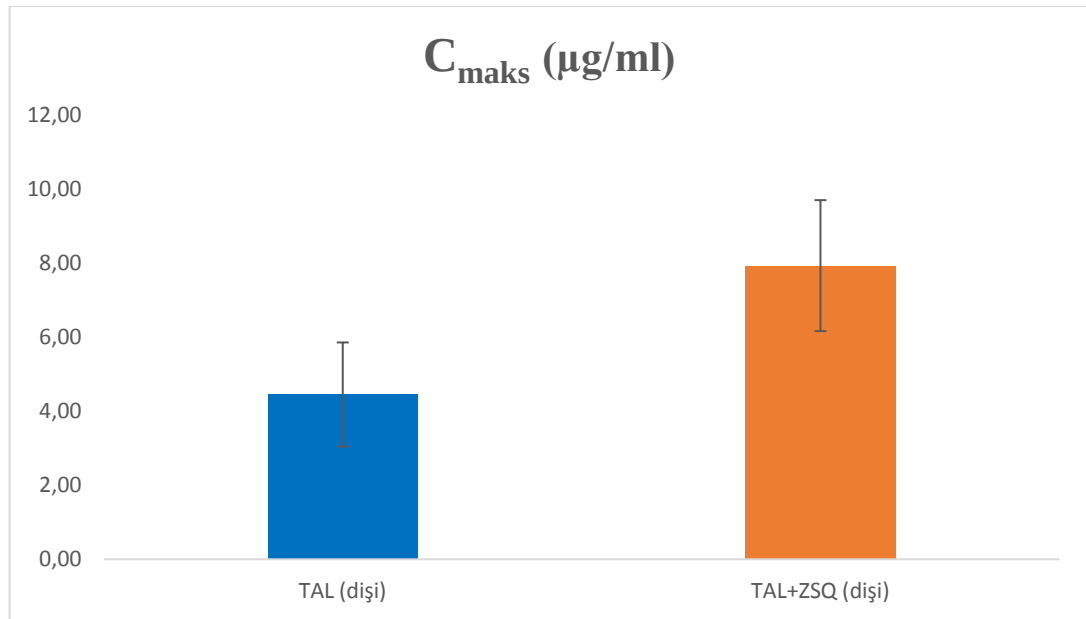
Şekil 4-8: TAL (erkek) ve TAL+ZSQ (erkek) grubunda talinolole ait plazma AUC_{0-5.saat} değerleri (ortalama ± SE; µg.sa/ml)



Şekil 4-9: TAL (dişi) ve TAL+ZSQ (dişi) grubunda talinolole ait plazma AUC_{0-5.saat} değerleri (ortalama ± SE; µg.sa/ml)



Şekil 4-10: TAL (erkek) ve TAL+ZSQ (erkek) grubunda talinolole ait plazma C_{maks} değerleri (ortalama ± SE; µg/ml)



Şekil 4-11: TAL (dişi) ve TAL+ZSQ (dişi) grubunda talinolole ait plazma C_{maks} değerleri (ortalama ± SE; µg/ml)

4.3. In vivo çalışmalarda ilaç uygulaması sonrası farelerde gözlenen davranış ve aktivite değışiklikleri

C57BL/6J dişi ve erkek farelere talinolol ve zosukidar i.p. yoldan uygulanmıştır. Talinolol tek başına veya zosukidar ile birlikte uygulandığı gruplarda dişi ve erkek farelerin lokomotor aktivitesinde azalma gözlenmiştir. 2 saatten fazla yaşayan hayvanların bu durumu atlattığı görölmüştür. Çalışmada kullanılan ilaçlara bağı başka bir yan etki tespit edilmemiştir. Çalışma sırasında mortalite görölmemiştir. C57BL/6J farelere ait örnek Şekil 4:12’de verilmiştir.



Şekil 4-12: C57BL/6J soyu bir fare.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, P-gp substratı olan talinololün farmakokinetiğine cinsiyetin ve P-gp inhibisyonunun etkisi C57BL/6J dişi ve erkek fareler üzerinde karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. P-glikoprotein substratı talinolol 20 mg/kg dozda tek başına, spesifik P-gp inhibitörü zosukidar ise 30 mg/kg dozda, talinolol ile birlikte sıçanlara i.p. yoldan uygulanmış ve plazmadaki talinolol düzeyleri valide edilmiş HPLC-UV yöntemi ile tayin edilmiştir.

Deneyler gündüz yapılmış olup (ZT3), bu zaman zarfında farelerin istirahat periyodunda olduğu bilinmektedir (Levi 2006). Bu zaman dilimi bundan önce yapılan çalışmaların gündüz periyodundaki talinolol uygulama saati olması nedeniyle tercih edilmiştir (Okyar ve ark. 2013, Okyar ve ark. 2012). Zosukidar, farmakolojik özellikleri iyi bilinen ve spesifik bir P-gp inhibitörü olduğu için farklı dozda uygulanmasının sunulan farmakokinetik çalışmaya ilave katkısı olmayacağı değerlendirilmiştir (Kemper ve ark. 2004). Çalışma için kan dokusuna ek olarak, karaciğer, beyin, ileum mukoza ve böbrek dokusu örnekleri de toplanmış olup, analizleri bitirilemediği için tez çalışmasına dahil edilmemiştir.

Çalışmamız esnasında, uygulama hatası, ilaç yan advers etkisi gibi nedenlere bağlı olabilecek bir mortalite tespit edilmemiştir. Bununla beraber hem talinololün tek başına, hem de zosukidar ile kombine uygulamasından sonra, farelerin hemen uygulama sonrasında, lokomotor aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Bu sadece araştırmacılar tarafından yapılan basit bir gözlem olup, farelerin lokomotor aktiviteleri kantifiye edilmemiştir. Fakat 2 saatten fazla yaşayan farelerin (yani, 4. ve 5. saatte numune alınan) bu durumu atlattıkları belirlenmiştir. Locomotor aktivitedeki değişiklik, talinololün oral yoldan uygulandığı daha önceki çalışmalarımızda gözlenmemiştir. (Okyar 2004, Pala 2004, Okyar ve ark. 2012). Ek olarak talinololün sıçanlarda çok yüksek (500 mg/kg) oral uygulamadan sonra bile iyi tolere edildiği bilinmektedir

(yayınlanmamış veri). Farelerde izlenen bu durum invazif bir prosedür olan i.p. uygulamasına bağlı olabilir.

Talinolol çalışma grubumuzca ilk kez C57BL/6J soyu dişi ve erkek farelere i.p. yoldan uygulanmıştır. Bu soy fareler, daha önce çalışma grubumuzca kullanılan B6D2F₁ (erkek DBA2 X dişi C57BL/6) soyundaki farelere genetik yönden yakın olması ve Üniversitemizin deney hayvanı üretim enstitüsünde bulunabilir olması bakımından tercih edilmiştir. Kullanılan fare soyu, diğer fare soylarına göre (örn. Balb/c) daha yavaş büyüyen, siyah tüylü bir fare soyudur. Kuyruk venleri belirgin değildir, bu nedenle kuyruktan i.v. ilaç uygulamaya yapmaya elverişli değildir. Talinololün i.p. uygulanmasıyla elde edilen AUC değerlerinin, i.v. uygulama ile elde edilen AUC değerleri ile karşılaştırıldığı bir çalışma bizim bilgilerimize göre literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle, i.p. uygulamada talinololün mutlak biyoyararlanımı üzerinde bir fikrimiz yoktur. Ancak oral uygulama ile kıyaslandığında, farelere daha düşük doz verilen (i.p. 30 mg/kg ve p.o. 100 mg/kg) talinololün daha fazla C_{maks} değerlerine sahip olduğu, ancak plazmada 5. saatten sonra tespit edilemeyeceği görülmüştür. Buna karşın, p.o. uygulamada talinolol 8. saate kadar HPLC-UV yöntemiyle kantifiye edilebilmektedir. Çalışmamızda i.p. uygulamayı takiben 5 noktada (0.5, 1, 2, 4, 5. saatler) numune alınmıştır. Etik nedenlerden ötürü, her zaman noktasındaki deney hayvanı sayısı 5 ile sınırlandırılmıştır.

Oral uygulama ile karşılaştırıldığında, i.p. yoldan uygulanan talinololün intestinal lumen ve mukoza konsantrasyonlarının daha az olması beklenir. Dolayısıyla, talinololün intestinal sekresyona (eksorespsiyon) uğrayan miktarının da oral uygulamaya göre daha az olması beklenebilir. Bu durum, ileum mukoza örneklerinin analizini takiben teyit edilebilir. Parenteral yoldan uygulanan talinolol başta karaciğer olmak üzere, intestinal segmentler, beyin, böbrek, dalak, kalp ve akciğerler gibi birincil kompartmanlara dağılmaktadır. Burada görev alan dışa atım pompası P-gp'nin, zosukidar ile inhibisyonu sonucunda; talinololün beyine geçişinin artışı, karaciğerden safra yoluyla atılımının azalması, intestinal sekresyonun inhibisyonu ve böbrekten atılımın azalması ile sonuçlanır. Sonuçta, talinololün plazma ve doku konsantrasyonlarının ve plazma konsantrasyonu – zaman eğrisi altında kalan alan

(AUC) artışı görülmesi beklenir. Talinololün oral yoldan uygulanan dozunun ancak %1'i metabolize edilmekte ve ilaç büyük oranda intestinal sekresyon ve değişmemiş olarak böbreklerden atılmaktadır. Dolayısıyla, talinolol ile zosukidar arasında metabolik düzeyde bir etkileşmenin oluşması mümkün gözükmemektedir.

Çalışmamızda hem erkek hem de dişi farelerde zosukidar ile kombine uygulamada talinololün C_{maks} ve AUC değerlerinde (0-5 saat için hesaplanan) artış tespit edilmiştir. Verilerin parametrik bir test olan ANOVA (çift yönlü) kullanılarak yapılan istatistiki analizine göre, cinsiyetin talinololün biyoyararlanımına anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p= 0,97$). Zosukidarın, talinolol AUC değerleri üzerinde anlamlı artış yaptığı söylenebilir ($p= 0,052$). Dişi farelerde zosukidar ile birlikte uygulama, talinolol AUC değerlerini 2 kat (%102) artırmıştır bu artış erkek farelerde %69 olarak gerçekleşmiştir. Talinololün i.p. uygulanmasıyla, oral uygulamaya göre daha az luminal talinolol düzeylerine ulaşılacağından intestinal sekresyona uğrayan talinololün inhibisyonu sonucu oluşabilecek talinolol plazma düzeyi artışlarının daha az olacağı öne sürülebilir. Eldeki verilerimiz bu artışların, bundan önceki çalışmalarla (Hanafy 2001; Okyar ve ark. 2012) benzer olduğu söylenebilir. Talinololün (20 mg/kg, p.o.) oral yoldan Wistar sıçanlara tek başına ve verapamil (40 mg/kg, p.o.), siklosporin (10 mg/kg, p.o.), vinblastin (0,1 mg/kg i.v.) ve ikinci kuşak modülatör olan PSC833 (50 mg/kg, p.o.) ile birlikte uygulanması talinolol AUC değerlerini (0-8 saat için hesaplanan) sırasıyla %54, %112, % 94, %188 artırmıştır (Hanafy 2001). Burada kullanılan tüm modülatörler içerisinde PSC833 en poent ve en spesifik inhibitör olması nedeniyle, en fazla talinolol AUC artışının PSC833 ile gerçekleştiği ileri sürülebilir.

Bu varyasyonu ortadan kaldırmak üzere ilk zaman noktalarında ek deney yapılmasının uygun olacağı değerlendirilmektedir. Ek olarak, çift yönlü ANOVA ile yapılan analize göre zosukidara bağlı AUC değerleri üzerinde cinsiyetin etkisi saptanmamıştır ($p= 0,56$). Benzer şekilde, cinsiyetin de talinololün C_{maks} değeri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı görülmektedir ($p= 0,49$). Zosukidarın C_{maks} üzerinde etkisi istatistiki bakımdan anlamlı sayılabilecek bir artış oluşturmadığı ($p= 0,25$) ve C_{maks} üzerinde cinsiyet-zosukidar etkileşmesinin olmadığı değerlendirilmiştir ($p= 0,61$). AUC ve C_{maks} değerlerindeki artışın dişi farelerde daha belirgin olduğu göze

çarpmaktadır. Bu farklılığın bir nedeni de erkek ve dişi farelerdeki P-gp mRNA ve protein ekspresyonu arasındaki farklılık olabilir. (Okyar ve ark 2013; Pala Kara ve ark. 2013). Yürütülen başka bir çalışmamızda B6D2F₁ dişi ve erkek farelerin ileum mukozası P-gp mRNA seviyelerini ve ileum dokusu P-gp protein seviyelerini 24 saat boyunca incelenmiştir. P-gp izoformları olan *abcb1a* ve *abcb1b* mRNA ekspresyonlarının dişilerde erkeklere göre daha yüksek amplitüdü seyir gösterdiği ve ilaveten P-gp protein ekspresyonunun (*abcb1a/abcb1b* ve *abcb4*; tüm izoformları içine alan) dişilerde erkeklere göre daha fazla olduğu görülmüştür. (Okyar ve ark 2013; Pala Kara ve ark. 2013). Bu farklılığa rağmen talinololün tek başına i.p. uygulamasında AUC ve C_{maks} açısından anlamlı cinsiyet farkı tez çalışmamızda görülmemiştir. Fakat dişilerdeki talinolol konsantrasyonlarının, erkeklere göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmamızda, talinolol B6D2F₁ farelere peroral 100 mg/kg uygulanmış ve talinolol plazma konsantrasyonları 0-8 saat arasında belirlenmiştir. Talinololün oral uygulandığı çalışmamızda da talinolol AUC ve C_{maks} parametreleri yönünden cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış ve aynı şekilde dişilerdeki plazma konsantrasyonları erkeklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bahsedilen çalışmamızda talinolol karaciğer AUC değerleri yönünden erkek-dişi arasında ileri derecede anlamlı fark görülürken (dişilerde dikkat çekici derecede talinolol düzeyleri düşük bulunmuştur), ileum mukozasında tam tersine dişi talinolol doku düzeyleri erkeklere göre istatistiksel yönden anlamlı biçimde daha fazla seyretmiştir (Okyar ve ark 2013; Pala Kara ve ark. 2013).

Tez çalışmamızda şu an için yalnızca plazma talinolol konsantrasyonları tespit edilmiş olup; doku talinolol düzeylerinin belirlenmesi planlanmaktadır. Bu bakımdan, zosukidar ile birlikte oluşan talinololün AUC ve C_{maks} değerlerindeki artışlar beklenen düzeyde kabul edilebilir. Ancak, bu hususta daha net bir değerlendirme yapabilmek için bağırsak mukozasındaki ve karaciğerdeki talinolol verilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Talinolol zosukidar ile birlikte uygulandığında talinolol değerlerinde oluşan yüksek varyasyon istatistiksel anlamlılığı azaltmaktadır. Enjeksiyon hatası, hayvanların inbred olmaması, ooral yoldan uygulanan talinololün i.p. yoldan uygulandığında da

değişken ve düzensiz absorpsiyon gösterme potansiyeli gibi nedenlerin varyasyonu arttırdığı düşünülmektedir. Talinolol biyofarmasötik sınıflama sistemi içerisinde ikinci sınıfta (Class II; yüksek geçirilgelik – düşük çözünürlük) yer alan bir ilaçtır (Okyar ve ark., 2012). Ek olarak, talinololün kemirgende bireyler arası değişkenliği yüksek bir molekül olduğu, hem oral hem intravenöz uygulamadan sonra kan düzeyleri bireyler arasında değişkenlik gösterdiği bilinmektedir (Spahn-Langguth ve ark. 1998; Okyar 2004; Pala 2004; Okyar ve ark. 2012). Bu durumu daha iyi yorumlamak için ek deney yapılması planlanmaktadır.

Talinololün eliminasyonu bakımından erkek ve dişi arasında görünür bir fark bulunmamaktadır. Ortalama veriler kullanılarak yapılan hesaplamalarda erkekte talinololün $t_{1/2}$ 'si 0,81 saat, dişide 0,84 saat olarak bulunmuştur. Zosukidar ile birlikte uygulamada talinololün $t_{1/2}$ 'si erkek farelerde 1,1 saat olarak bulunmuştur (dişide terminal fazda talinolol tesbit edilemediğinden hesaplama yapılamamıştır). Buna göre i.p. uygulama ile, eliminasyon yarılanma ömrü gündüz uygulamada dişi ve erkekte değişmemektedir. Bu sonuçlar, talinololün oral uygulama sonrasında daha önceki çalışmamızda alınan sonuçlarla örtüşmektedir. Bahsedilen çalışmada da yarılanma ömrünün cinsiyetler arası fark göstermediği görülmüştür. Ancak, talinolol yarılanma ömrü hem erkekte hem de dişide, gece uygulamada gündüz uygulamaya göre anlamlı derecede azalmıştır (Okyar ve ark 2013; Pala Kara ve ark. 2013).

Sonuç olarak, parenteral uygulanan talinololün plazma farmakokinetiğinde gündüz uygulamada anlamlı bir cinsiyet farkı tespit edilememiştir. P-gp inhibitörü ile birlikte uygulamada, talinolol plazma düzeylerinde C57BL/6J soyu dişi ve erkek farelerde artış görülürken, meydana gelen bu artışların yüksek bireylerarası değişkenlik ile birlikte olduğu değerlendirilmiştir. Çalışmamıza, talinololün dokulardaki düzeyin belirlenmesi ve aynı deney prosedürünün gece periyodunda (ZT15) tekrar edilerek, zamana bağlı bir farmakokinetik farklılığın değerlendirmesi ile devam etmesi planlanmaktadır. Bu arada, dişi ve erkek farelerdeki zamana bağlı P-gp protein ekspresyonlarının karaciğer ve ileumda ortaya konması sonuçların daha iyi yorumlanmasına yardımcı olabilir. Yapılan çalışma; P-gp ile ilgili yapılan çalışmalarda

cinsiyete baēlı deēiřikliklere dikkat çekmesi ve preklinik/klinik çalışmalara temel teşkil etmesi yönlerinden önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

Alhaddad, H., Cisternino, S., Saubamea, B., Schlatter, J., Chiadmi, F., Risède, P., Smirnova, M., Cochois-Guégan, V., Tournier, N., Baud, F.J., Mégarbane, B. (2013). Gender and strain contributions to the variability of buprenorphine-related respiratory toxicity in mice. *Toxicology*, **305**, 99-108.

Altuvia, S., Stein, W. D., Goldenberg, S., Kane, S. E., Pastan, I., Gottesman, M. M. (1993). Targeted disruption of the mouse *mdr1b* gene reveals that steroid hormones enhance *mdr* gene expression. *Journal of Biology Chemistry*, **268(36)**, 27127-32.

Arceci, R.C., Croop, J.M., Horwitz, S.B., Housman, D. The gene encoding multidrug resistance is induced and expressed at high levels during pregnancy in the secretory epithelium of the uterus. (1988). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **85(12)**, 4350-4.

Aszalos, A. (2007). Drug-drug interactions affected by the transporter protein, P-glycoprotein (ABCB1, MDR1) II. Clinical aspects. *Drug Discovery Today*, **12(19-20)**, 838-843.

Balayssac, D., Authier, N., Cayre A., ve Coudore, F. (2005). Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug-drug interactions? *Toxicology Letters*, **156**, 319-329.

Bebawy, M. ve Chetty, M. (2009). Gender Differences in P-Glycoprotein Expression and Function: Effects on Drug Disposition and Outcome. *Current Drug Metabolism*, **10**, 322-328.

Benet, L. Z., Cummins, C. L., Wu, C. Y. (2004). Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes. *International Journal of Pharmaceutics*, **277(1-2)**, 3-9.

Benet, L.Z. ve Cummins, C.L. (2001). The drug efflux-metabolism alliance: biochemical aspects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **50(1)**, 3-11.

Benet, L.Z., Cummins, C.L. ve Wu, C.Y. (2003). Transporter-enzyme interactions: implications for predicting drug-drug interactions from in vitro data. *Current Drug Metabolism*, **4(5)**, 393-8.

Callies, S., de Alwis, D.P., Mehta, A., Burgess, M., Aarons, L. (2004). Population pharmacokinetic model for daunorubicin and daunorubicinol coadministered with zosuquidar.3HCl (LY335979). *Cancer Therapy and Pharmacology*, **54**, 39-48.

Ceckova-Novotna, M., Pavek, P. ve Staud, F. (2006). P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function. *Reproductive Toxicology*, **22**, 400-410.

Chan, L.M., Lowes, S. ve Hirst, B.H. (2004). The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **21**, 25-51.

Chen, C. ve Klaassen, C.D. (2004). Rat multidrug resistance protein 4 (Mrp4, Abcc4): molecular cloning, organ distribution, postnatal renal expression, and chemical inducibility. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **317(1)**, 46-53.

Chen, K.G., Sikic B.I. (2012). Molecular pathways: regulation and therapeutic implications of multidrug resistance. *Clinical Cancer Research*, **18(7)**, 1863-1869.

Cheng, X. ve Klaassen, C.D. (2009). Tissue Distribution, Ontogeny, and Hormonal Regulation of Xenobiotic Transporters in Mouse Kidneys. *Drug Metabolism and Disposition*, **37(11)**, 2178–2185.

Cherrington, N.J., Slitt, A.L., Maher, J.M., Zhang, X.X., Zhang, J., Huang, W., Wan, Y.J., Moore, D.D. and Klaassen, C.D. (2003). Induction of multidrug resistance protein 3 (mrp3) in vivo is independent of constitutive androstane receptor. *Drug Metabolism and Disposition*, **31(11)**, 1315-9.

Chishty, M., Reichel, A., Siva, J., Abbott, N.J. ve Begley, D.J. (2001). Affinity for the P-glycoprotein efflux pump at the blood-brain barrier may explain the lack of CNS side-effects of modern antihistamines. *Journal of Drug Targeting*, **9(3)**, 223-228.

Choudhuri, S. ve Klaassen, C.D. (2006). Structure, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) efflux transporters. *International Journal of Toxicology*, **25**, 231-259.

Chu, X., Zhang, Z., Yabut, J., Horwitz, S., Levorese, J., Li, X.Q., Zhu, L., Lederman, H., Ortiga, R., Strauss, J., Li, X., Owens, K.A., Dragovic, J., Vogt, T., Evers,

R. ve Shin, M.K. (2012). Characterization of Mdr1a/P-glycoprotein knockout rats generated by zinc finger nucleases. *Molecular Pharmacology*, **81(2)**, 220-227.

Coley, H.M. (2010). Overcoming multidrug resistance in cancer: clinical studies of P-glycoprotein inhibitors. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 341-358.

Cripe, L. D., Uno, H., Paietta, E. M., Litzow, M.R., Ketterling, R.P., Bennett, J.M., Rowe, J.M. Lazarus, H.M: Luger, S. ve Tallman, M. (2010). Zosuquidar, a novel modulator of P-glycoprotein, does not improve the outcome of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: a randomized, placebo-controlled trial of the Eastern Cooperative Oncology Group 3999. *Blood*, **116(20)**, 4077-4085.

Cui Y.J, Cheng X., Weaver Y.M., Klaassen C.D. (2009). Tissue Distribution and Gender-Divergent Expression, Ontogeny, and Chemical Induction of Multidrug Resistance Transporter Genes (Mdr1a, Mdr1b, Mdr2) in Mice. . *Drug Metabolism and Disposition*, **37(1)**, 203–210.

Cummins C. L., Jacobsen, W., Benet, L. Z. (2002). Unmasking the dynamic interplay between intestinal P-glycoprotein and CYP3A4. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **300(3)**, 1036-45.

Cummins C. L., Wu C. Y., Benet L. Z. (2002). Sex-related differences in the clearance of cytochrome P450 3A4 substrates may be caused by P-glycoprotein. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **72(5)**, 474-89.

Dantzig, A.H. (2001). Reversal of Multidrug Resistance by the P-Glycoprotein Modulator, LY335979, from the Bench to the Clinic. *Current Medicinal Chemistry*, **8**, 39-50.

Dantzig, A.H., Shephard, R.L., Cao, J. (1996). Reversal of P-Glycoprotein-mediated Multidrug Resistance by a Potent Cyclopropyldibenzosuberane Modulator, LY335979. *Cancer Research*, **56**, 4171-4179.

De Mey, C., Schroeter, V., Butzer, R., Jahn, P., Weisser, K., Wetterich, U. ve ark. (1995). Dose-effect and kinetic-dynamic relationships of the beta-adrenoceptor blocking properties of various doses of talinolol in healthy humans. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **26**, 879-888.

Del Amo E.M., Heikkinen, A.T. ve Mönkkönen, J. (2009). In vitro-in vivo correlation in P-glycoprotein mediated transport in intestinal absorption. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **36**, 200-211.

Dey, S., Gunda, S. ve Mitra, A. K. (2004). Pharmacokinetics of erythromycin in rabbit corneas after single-dose infusion: role of P-glycoprotein as a barrier to *in vivo* ocular drug absorption. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **311(1)**, 246-55.

Dieter, M.Z., Maher, J.M., Cheng, X., Klaassen, C.D. (2004). Expression and regulation of the sterol half-transporter genes ABCG5 and ABCG8 in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* **139**, 209–218.

DuBuske, L.M. (2005). The role of P-glycoprotein and organic anion-transporting polypeptides in drug interactions. *Drug Safety*, **28(9)**, 789-801.

Ehlhardt, W.J., Woodland, J. M., Baughman, T. M. Vandenbranden, M., Wrighton, S., Kroin, J. S., Norman, B. H. Ve Maple, S.R. (1998). Liquid Chromatography/Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Identification Of Novel Metabolites Of The Multidrug Resistance Modulator LY335979 in Rat Bile And Human Liver Microsomal Incubations. *Drug Metabolism and Disposition*, **26**, 42-51.

Fedoruk, M.N., Gimenez-Bonafe, P., Guns, E.S.; Mayer, L.D., Nelson, C.C. (2004). P-glycoprotein increases the efflux of the androgen dihydrotestosterone and reduces androgen responsive gene activity in prostate tumor cells. *Prostate*, **59(1)**, 77-90.

Fischer, V., Einolf, H.J. ve Cohen, D. (2005). Efflux transporters and their clinical relevance. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **5**, 183-195.

Floridia, M., Giuliano, M., Palmisano, L., Vella, S.(2008). Gender differences in the treatment of HIV infection. *Pharmacological Research*, **58(3-4)**, 173-82.

Franconi, F., Brunelleschi, S., Steardo, L., Cuomo, V. (2007). Gender differences in drug responses. *Pharmacological Research*, **55(2)**, 81-95.

Frohlich, M., Albermann, N., Sauer, A., Walter-Sack, I., Haefeli, W. E., Weiss, J. (2004). *In vitro* and *ex vivo* evidence for modulation of P-glycoprotein activity by progestins. *Biochemical Pharmacology*, **68(12)**, 2409-16.

Frohlich, M., Burhenne, J., Martin-Facklam, M., Weiss, J., von Wolff, M., Strowitzki, T., Walter-Sack, I., Haefeli, W. E. (2004). Oral contraception does not alter single dose saquinavir pharmacokinetics in women. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **57(3)**, 244-52.

Fromm, M.F. (2002). The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**, 1295-1310.

Fromm, M.F. (2004). Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends in Pharmacological Sciences*, **25(8)**, 423-429.

Gerrard, G., Payne, E., Baker, R.J., Jones, D.T., Potter, M., Prentice H.G., Ethell, M., Mccullough, H., Burgess, M., Mehta, A.B., Ganeshaguru, K. (2004). Clinical effects and P-glycoprotein inhibition in patients with acute myeloid leukemia treated with zosuquidar trihydrochloride, daunorubicin and cytarabine. *Haematologica*, **89**, 782-790.

Gramatte, T. ve Oertel, R. (1999). Intestinal secretion of intravenous talinolol is inhibited by luminal R-verapamil. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **66**, 239-245.

Gramatte, T., Oertel, R., Terhaag, B. ve Kirch, W. (1996). Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the beta-blocker talinolol in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **59**, 541-549.

Hamilton, K. O., Yazdanian, M. A., Audus, K. L. (2001). Modulation of P-glycoprotein activity in Calu-3 cells using steroids and betaligands *International Journal of Pharmaceutics*, **228(1-2)**, 171-179.

Hanafy A. (2001). *Transport inhibition and induction as sources for absorption and disposition related drug-drug interactions: Talinolol as model substrate for the ABC-transporter P-glycoprotein*. Martin-Luther Üniversitesi Halle-Wittenberg Eczacılık Okulu, Doktora Tezi, Halle/Saale, Almanya.

Hayashi, T., Abe, F., Kato, M., Saito, H., Ueyama, J., Kondo, Y., Imai, K., Katoh, M., Nadai, M., Hasegawa, T. (2011). Involvement of sulfate conjugation and multidrug resistance-associated protein 2 (Mrp2) in sex-related differences in the pharmacokinetics of garenoxacin in rats. *Journal of Infection and Chemotherapy*, **17**, 24–29.

He, J., Terhaag, B., Yang, L.Y., Zhang, B.K., Su, F.L., Zhu, Y.G. ve ark. (2007). Determination of talinolol in human plasma by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry: application to pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*, **853**, 275-280.

Ho, G.T., Moodie, F.M. ve Satsangi J. (2003). Multidrug resistance 1 gene (P-glycoprotein 170): an important determinant in gastrointestinal disease? *Gut*, **52**, 759–766

Huls, M., Russel, F.G., ve Masereeuw, R. (2009). The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **328(1)**, 3-9.

Iqbal, M., Gibb, W. ve Matthews, S.G. (2011). Corticosteroid Regulation of P-Glycoprotein in the Developing Blood-Brain Barrier. *Endocrinology*, **152(3)**, 1067–1079.

Johnstone, R.W., Ruefli, A.A. ve Smyth, M.J. (2000). Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends in Biochemical Sciences*, **25(1)**, 1-6.

Juliano, R.L. ve Ling, V. (1976). A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et Biophysica Acta*, **455**, 152-162.

Kageyama, M., Fukushima, K., Togawa, T., Fujimoto, K., Taki, M., Nishimura, A. ve ark. (2006). Relationship between excretion clearance of rhodamine 123 and P-glycoprotein (Pgp) expression induced by representative Pgp inducers. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **29(4)**, 779-784.

Kalabis, G.M, Petropoulos, S., Gibb, W., Matthews, S.G. (2009). Multidrug resistance phosphoglycoprotein (ABCB1) expression in the guinea pig placenta:

developmental changes and regulation by betamethasone. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **55**, 973–978

Kemper, E.M., Cleypool, C., Boogerd, W., Beijnen, J.H., van Tellingen, O. (2004). The influence of the P-glycoprotein inhibitor zosuquidar trihydrochloride (LY335979) on the brain penetration of paclitaxel in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **53**, 173–178.

Kim W.Y., Benet L.Z. (2004). P-glycoprotein (P-gp/MDR1)-mediated efflux of sex-steroid hormones and modulation of P-gp expression in vitro. *Pharmacological Research*, **21(7)**, 1284-93.

Kim, R.B., Leake, B.F., Choo, E.F., Dresser, G.K., Kubba, S.V., Schwarz, U.I., Taylor, A., Xie, H.G., McKinsey, J., Zhou, S., Lan, L.B., Schuetz, J.D., Schuetz, E.G. and Wilkinson, G.R. (2001). Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **70(2)**, 189-99.

Klaassen, C.D. ve Aleksunes, L.M. (2010). Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacological Reviews*, **62(1)**, 1-96.

Kong, B., Csanaky, I.L., Aleksunes, L.M., Patni, M., Chen, Q., Ma, X., Jaeschke, H., Weir, S., Broward, M., Klaassen, C.D., Guo, G.L. (2012). Gender-specific reduction of hepatic Mrp2 expression by high-fat diet protects female mice from ANIT toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **261**, 189–195

Krishna, R. ve Mayer, L.D. (2000). Multidrug resistance (MDR) in cancer mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **11**, 265-283.

Krishna, R. ve Mayer, L.D. (2001). Modulation of P-glycoprotein (PGP) mediated multidrug resistance (MDR) using chemosensitizers: recent advances in the design of selective MDR modulators. *Current Medicinal Chemistry-Anticancer Agents*, **1(2)**, 163-174.

Krueger, M., Achenbach, H., Terhaag, B., Haase, H., Richter, K., Oertel, R. ve ark. (2001). Pharmacokinetics of oral talinolol following a single dose and during

steady state in patients with chronic renal failure and healthy volunteers. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **39**, 61-66.

Lancet, J.E., Baer, M.R., Duran, G.E., List, A.F., Fielding, R., Marcelletti, J.F., Multani, P.S., Sikic, B.I. (2009). A phase I trial of continuous infusion of the multidrug resistance inhibitor zosuquidar with daunorubicin and cytarabine in acute myeloid leukemia. *Leukemia Research*, **33(8)**, 1055-61.

Lee, C.H. (2010). Reversing agents for ATP-binding cassette drug transporters. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 325-340.

Lévi, F. (2006). Chronotherapeutics: the relevance of timing in cancer therapy. *Cancer Causes Control*, **17(4)**, 611-21.

Lin, J.H. ve Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*, **42(1)**, 59-98

Lin, J.H., Chiba, M. ve Baillie, T.A. (1999). Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized? *Pharmacological Reviews*, **51(2)**, 135-158.

Lin, J.H., Chiba, M., Chen, I.W., Nishime, J.A., Deluna, F.A., Yamazaki, M. ve Lin, Y.J. (1999). Effect of dexamethasone on the intestinal first-pass metabolism of indinavir in rats: evidence of cytochrome P-450 3A and P-glycoprotein induction. *Drug Metabolism and Disposition*, **27(10)**, 1187-1193.

Linnet, K. ve Ejlsing, T.B. (2008). A review on the impact of P-glycoprotein on the penetration of drugs into the brain. Focus on psychotropic drugs. *European Neuropsychopharmacology*, **18**, 157-169.

Loo, T.W. ve Clarke D.M. (2008). Mutational analysis of ABC proteins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **476**, 51-64.

MacLean, C., Moenning, U., Reichel, A., Fricker, G. (2008). Closing the gaps: a full scan of the intestinal expression of p-glycoprotein, breast cancer resistance protein, and multidrug resistance-associated protein 2 in male and female rats. *Drug Metabolism and Disposition*, **36(7)**, 1249-54.

Maher, J.M, Slitt, A.L., Cherrington, N.J., Cheng, X. and Klaassen, C.D. (2005). Tissue distribution and hepatic and renal ontogeny of the multidrug resistance-

associated protein (mrp) family in mice. *Drug Metabolism and Disposition*, **33(7)**, 947–955

Marchetti, S. Mazzanti, R. Beijnen, J.H. ve 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**, 927-941.

Mariana, B., Adrián, L., Guillermo, V., Juan, S., Laura, M. and Carlos, L. (2011). Gender-related differences on P-glycoprotein-mediated drug intestinal transport in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **63**, 619–626.

Marzolini, C., Paus, E., Buclin, T. ve Kim, R.B. (2004). Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **75**, 13-33.

Matheny, C.J., Lamb, M.W., Brouwer, K.R. ve Pollack, G.M. (2001). Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Pharmacotherapy*, **21(7)**, 778-796.

Merino, G., van Herwaarden, A.E., Wagenaar, E., Jonker, J.W. and Schinkel, A.H. (2005). Sex-dependent expression and activity of the ATP-binding cassette transporter breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in liver. *Molecular Pharmacology*, **67(5)**, 1765-1771.

Morjani, H. ve Madoulet, C. (2010). Immunosuppressors as multidrug resistance reversal agents. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 433-446.

Morschhauser, F., Zinzani, P.L., Burgess, M., Sloats, L., Bouafia, F. ve Dumontet, C. (2007). Phase I/II trial of a P-glycoprotein inhibitor, Zosuquidar.3HCl trihydrochloride (LY335979), given orally in combination with the CHOP regimen in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*, **48(4)**, 708-715.

Mutoh, K., Tsukahara, S., Mitsuhashi, J., Katayama, K., Sugimoto, Y. (2006). Estrogen-mediated post transcriptional down-regulation of P-glycoprotein in MDR1-transduced human breast cancer cells. *Cancer Science*, **97(11)**, 1198-204.

Nakayama, A., Eguchi, O., Hatakeyama, M., Saitoh, H., Takada, M. (1999). Different absorption behaviors among steroid hormones due to possible interaction with

P-glycoprotein in the rat small intestine. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **22 (5)**, 535-538.

Oertel, R., Richter, K., Gramatté, T., Kirch, W. (1998). Determination of drugs in biological fluids by high-performance liquid chromatography with on-line sample processing. *Journal of Chromatography A*, **797(1-2)**, 203-209.

Oertel, R., Richter, K., Trausch, B., Berndt, A., Gramatté, T., Kirch, W. (1994). Elucidation of the structure of talinolol metabolites in man. Determination of talinolol and hydroxylated talinolol metabolites in urine and analysis of talinolol in serum. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **660(2)**, 353-363.

Oforokun, I., Chuck, S.K., Hitti, J.E. (2007). Antiretroviral pharmacokinetic profiles: a review of gender differences. *Gender Medicine*, **4(2)**, 106-119.

Okyar, A. (2004). *Vinblastin ve atorvastatinin P-glikoprotein üzerinden talinolol farmakokinetiğini değiştirmesinin incelenmesi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Okyar, A., Dressler, C., Hanafy, A., Baktir, G. Lemmer, B. ve Spahn-Langguth, H. (2012). Circadian Variations in Exsorptive Transport: In Situ Intestinal Perfusion Data and In Vivo Relevance. *Chronobiology International*, **29(4)**, 443–453.

Okyar, A., Filipski, E., Piccolo, E., Öztürk, N., Kara, Z., Lévi, F. (2013). *Circadian and sex-dependent rhythms in P-glycoprotein expression and function in mice*. Poster Sunumu, 13. Congress of European Biological Rythms Society, 18-22 Ağustos 2013, Münih, Almanya

Okyar, A., Piccolo, E., Ahowesso, C., Filipski, E., Hossard, V., Guettier, C., La Sorda, R., Tinari, N., Iacobelli, S., Levi, F. (2011). Strain- and Sex-Dependent Circadian Changes in Abcc2 Transporter Expression: Implications for Irinotecan Chronotolerance in Mouse Ileum. *Plos One* **6(6)**, e20393.

Padowski, J.M. ve Pollack, G.M. (2010). Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 359-384.

Paine, M., Ludington S.S., Chen M.L., Stewart P.W., Huang S.M., Watkins P.B. (2005). Do men and women differ in proximal small intestinal CYP3A or P glycoprotein expression? *Drug Metabolism and Disposition*, **33**, 426-433.

Pala Kara, Z., Öztürk, N., Filipski, E., Orman, M., Levi, A., Okyar, A. (2013). *P-glikoprotein substratı talinololün faredeki kronofarmakokinetiği*. Poster Sunumu, 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 04-07 Kasım 2013, Rixos Lares Oteli, Antalya.

Pala Kara, Z., Öztürk, N., Öztürk, D., Okyar, A. (2013). ABC taşıyıcı proteinleri: Sirkadiyan ritimler ve cinsiyete bağlı farklılıklar. *MÜSBED*, **3(1)**, 1-13.

Pala, Z. (2004). *Talinolol ve simvastatin arasında P-glikoproteine bağlı olası bir farmakokinetik etkileşmenin incelenmesi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Pathak, S.M., Musmade, P.B., Bhat, K.M. ve Udupa, N. (2010). Validated HPLC method for quantitative determination of talinolol in rat plasma and application to a preclinical pharmacokinetic study. *Bioanalysis*, **2(1)**, 95–104.

Pfister, J.R., Makra, F., Muehldorf, A.V., Wu, H., Nelson, J.T., Cheung, P., Bruno, N.A., Casey, S.M., Zutshi, N., Slate, D. L. (1995). Methanodibenzosuberylpiperazines as Potent Multidrug Resistance Reversal Agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **5**, 2473.

Piekarz, R. L., Cohen, D., Horwitz, S. B. (1993). Progesterone regulates the murine multidrug resistance *mdr1b* gene. *The Journal of Biological Chemistry*, **11**, 7613-6.

Potschka, H. (2010). Targeting regulation of ABC efflux transporters in brain diseases: a novel therapeutic approach. *Pharmacology and Therapeutics*, **125**, 118-127.

Potter, J.M., McWhinney, B.C., Sampson, L., Hickman, P.E. (2004). Area-under-the-curve monitoring of prednisolone for dose optimization in a stable renal transplant population. *Therapeutical Drug Monitoring*, **26(4)**, 408-14.

Rathore, S. S., Wang, Y., Krumholz, H. M. (2002). Sex-based differences in the effect of digoxin for the treatment of heart failure. *The New England Journal of Medicine*, **347(18)**, 1403-1411.

Ravna, A.W. ve Sager, G. (2009). Molecular modeling studies of ABC transporters involved in multidrug resistance. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **9**,186-193.

Robak, T., Szmigielska-Kaplon, A., Pluta, A., Grzybowska-Izydorczyk, O., Wolska, A., Czemerska, M. ve Wierzbowska, A. (2011). Novel and Emerging Drugs for Acute Myeloid Leukemia: Pharmacology and Therapeutic Activity. *Current Medicinal Chemistry*, **18**, 638-666.

Robey, R., Bakke, S., Stein, W., Meadows, B., Litman, T., Patil, S., Smith, T., Fojo, T. ve Bates, S. (1999). Efflux of Rhodamine From CD561 Cells as a Surrogate Marker for Reversal of P-Glycoprotein–Mediated Drug Efflux by PSC 833, *Blood*, **93**, **1**, 306-314

Rost D., Kopplow K., Gehrke S., Mueller S., Friess H., Ittrich C., Mayer D. and Stiehl A. (2005). Gender-specific expression of liver organic anion transporters in rat. *European Journal of Clinical Investigation*, **35(10)**, 635-43.

Rubin., E.H., de Alvis, D.P., Pouliquin, I., Green, L., Marder, P., Lin, Y., Musanti, R., Grospe, S.L., Smith, S.L., Toppmeyer, D.L., Much, J., Kane, M., Chaudhary, A., Jordan, C., Burgess, M., Slapak, C.A. (2002). A Phase I Trial of a Potent P-Glycoprotein Inhibitor, Zosuquidar.3HCl Trihydrochloride (LY335979), Administered Orally in Combination with Doxorubicin in Patients with Advanced Malignancies. *Clinical Cancer Research*, **8**, 3710-17.

Sandler, A., Gordon, M., de Alvis, D.P., Pouliquin, I., Green, L., Marder, P., Chaudhary, A., Fife, K., Battito, L., Sweeney, C., Jordan, C., Burgess, M., Slapak, C.A. (2004). A Phase I Trial of a Potent P-Glycoprotein Inhibitor, Zosuquidar Trihydrochloride (LY335979), Administered Intravenously in Combination with Doxorubicin in Patients with Advanced Malignancy. *Clinical Cancer Research*, **10**, 3265–3272.

Schinkel, A.H. ve Jonker, J.W. (2003). Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **55(1)**, 3-29.

Schuetz, E. G., Furuya, K. N., Schuetz, J. D. (1995). Interindividual variation in expression of P-glycoprotein in normal human liver and secondary hepatic neoplasms. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **275**(2), 1011-8.

Seeger, M.A. ve van Veen, H.W. (2009). Molecular basis of multidrug transport by ABC transporters. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1794**, 725-737.

Seelig, A. ve Gatlik-Landwojtowicz, E. (2005). Inhibitors of multidrug efflux transporters: their membrane and protein interactions. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **5**, 135-151.

Shephard, R.L., Cao, J., Starling, J.J., Dantzig, A.H. (2003). Modulation of P-Glycoprotein but Not Mrp1- Or Bcrp-Mediated Drug Resistance By LY335979. *International Journal of Cancer*, **103**, 121–125.

Slapak, C.A., Dahlheimer, B.S., Piwnica-Worms, D. (2001). Reversal of Multidrug Resistance with LY335979: Functional Analysis of P-glycoprotein-Mediated Transport Activity and Its Modulation In Vivo. *The Journal of Clinical Pharmacology*, **41**, 29-38.

Sloan, J. A., Goldberg, R. M., Sargent, D. J., Vargas-Chanes, D., Nair, S., Cha, S. S., Novotny, P. J., Poon, M. A., O'Connell, M. J., Loprinzi, C. L. (2002). Women experience greater toxicity with fluorouracil-based chemotherapy for colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **20**(6), 1491-8.

Sloan, J. A., Loprinzi, C. L., Novotny, P. J., Okuno, S., Nair, S., Barton, D. L. (2000) Sex differences in fluorouracil-induced stomatitis. *Journal of Clinical Oncology*, **18**(2), 412-20.

Spahn-Langguth, H., Baktır, G., Radschuweit, A., Okyar, A., Terhaag, B., Ader, P. ve ark. (1998). P-glycoprotein transporters and the gastrointestinal tract: evaluation of the potential in vivo relevance of in vitro data employing talinolol as model compound. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **36**(1), 16-24.

Srinivas, E., Murthy, J.N., Rao, A.R. ve Sastry, G.N. (2006). Recent advances in molecular modeling and medicinal chemistry aspects of phospho-glycoprotein. *Current Drug Metabolism*, **7**(2), 205-217.

Starling, J.J., Shephard, R.L., Cao, J., Law, K.L., Norman, B.H., Kroin, J.S., Ehlhardt, W.J., Baughman, T.M., Winter, M.A., Bell, M.G., Shih, C., Gruber, J., Elmquist, W.F., Dantzig, A.H. (1997). Pharmacological Characterization of LY335979: A Potent Cyclopropyldibenzosuberane Modulator of P-Glycoprotein. *Advances in Enzyme Regulation*, **37**, 335-337.

Stavrovskaya, A.A. ve Stromskaya, T.P. (2008). Transport proteins of the ABC family and multidrug resistance of tumor cells. *Biochemistry (Moscow)*, **73(5)**, 592-604.

Stewart, P. A., Beliveau, R., Rogers, K. A. (1996). Cellular localization of P-glycoprotein in brain versus gonadal capillaries. *J. Histochem. Cytochemistry*, **44(7)**, 679-85.

Suzuki, T., Zhao, Y. L., Nadai, M., Naruhashi, K., Shimizu, A., Takagi, K., Hasegawa T. (2006). Gender-related differences in expression and function of hepatic P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein (Mrp2) in rats. *Life Science*, **79(5)**, 455-61.

Takano, M., Yumoto, R. ve Murakami, T. (2006). Expression and function of efflux drug transporters in the intestine. *Pharmacology and Therapeutics*, **109**, 137-161.

Tanaka, Y., Slitt, A.L., Leazer, T.M., Maher, J.M. ve Klaassen, C.D. (2005). Tissue distribution and hormonal regulation of the breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in rats and mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **326(1)**, 181-187.

Terhaag, B., Palm, U., Sahre, H., Richter, K. ve Oertel, R. (1992). Interaction of talinolol and sulfasalazine in the human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **42**, 461-462.

Trausch, B., Oertel, R., Richter, K. ve Gramatte, T. (1995). Disposition and bioavailability of the β_1 -adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, **16**, 403-414.

Tubic, M., Wagner, D., Spahn-Langguth, H., Bolger, M.B. ve Langguth, P. (2006a). In silico modeling of non-linear drug absorption for the P-gp substrate talinolol and of consequences for the resulting pharmacodynamic effect. *Pharmaceutical Research*, **23(8)**, 1712-1720.

Tubic, M., Wagner, D., Spahn-Langguth, H., Weiler, C., Wanitschke, R., Böcher, W.O. ve ark. (2006b). Effects of controlled-release on the pharmacokinetics and absorption characteristics of a compound undergoing intestinal efflux in humans. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **29**, 231-239.

Ueda, K., Okamura, N., Hirai, M., Tanigawara, Y., Saeki, T., Kioka, N., Komano, T., Hori, R. (1992). Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *Journal of Biological Chemistry*, **267(34)**, 24248-52.

Urquhart, B.L. ve Kim, R.B. (2009). Blood-brain barrier transporters and response to CNS-active drugs. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **65**, 1063-1070.

van Assema, D.M., Lubberink, M., Boellaard, R., Schuit, R.C., Windhorst, A.D., Scheltens, P., Lammertsma, A.A., van Berckel, B.N. (2012). P-glycoprotein function at the blood-brain barrier: effects of age and gender. *Molecular Imaging and Biology*, **14**, 771-776.

van Kalken, C. K., Broxterman, H. J., Pinedo, H. M., Feller, N., Dekker, H., Lankelma, J., Giaccone, G. (1993). Cortisol is transported by the multidrug resistance gene product P-glycoprotein. *British Journal of Cancer*, **67(2)**, 284-9.

Varma, M.V., Ashokraj, Y., Dey, C.S. ve Panchagnula, R. (2003). P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacological Research*, **48**, 347-359.

Velingkar, V.S. ve Dandekar V.D. (2010). Modulation of p- glycoprotein mediated multidrug resistance (MDR) in cancer using chemosensitizers. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, **1(2)**, 104-111.

Verlag, C. (Ed.). (2000). *Rote Liste® 2000, Arzneimittelverzeichnis für Deutschland*. Aulendorf, Germany: Editio Cantor Verlag GmbH.

Wacher, V. J., Wu, C. Y., Benet, L. Z. (1995). Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and Pglycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Molecular Carcinogenesis*, **13(3)**, 129-34.

Weier, N., He, S.M., Li, X.T., Wang, L.L. ve Zhou, S.F. (2008). Placental drug disposition and its clinical implications. *Current Drug Metabolism*, **9(2)**, 106-121.

Wetterich, U., Spahn-Langguth, H., Mutschler, E., Terhaag, B., Rösch, W. ve Langguth, P. (1996). Evidence for intestinal secretion as an additional clearance pathway of talinolol enantiomers: concentration- and dose-dependent absorption in vitro and in vivo. *Pharmaceutical Research*, **13(4)**, 514-522.

Wolbold R., Klein K., Burk O., Nussler A.K., Neuhaus P., Eichelbaum M., Schwab M., Zanger U.M. (2003). Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology*, **38 (4)**, 978-88.

Zhang, Y. ve Benet, L.Z. (2001). The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. *Clinical Pharmacokinetics*, **40(3)**, 159-168.

Zhou, S.F. (2008). Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica*, **38(7-8)**, 802-832.

Zschiesche, M., Lemma, G.L., Klebingat, K.J., Franke, G., Terhaag, B., Hoffman, A. ve ark. (2002). Stereoselective disposition of talinolol in man. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **91**, 303-311.

ETİK KURUL KARARI



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**



Sayı: 2013/ 60

03/05/2013

Sayın: Doç. Dr. Alper OKYAR
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Karar No : 2013/ 60

Basvuru : 08.04.2013

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Ecz. Dilek ÖZTÜRK**'e ait "P-Glikoprotein Substratı Talimatının Dişi Ve Erkek Farelerdeki Farmakokinetiği" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelere uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Fare
	Cinsiyeti	Erkek/Dişi
	Sayısı	100
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	10 Mayıs 2013/10 Kasım 2013	

Prof. Dr. Alex AKDUĞAN KAYMAZ
İÜ HADYER Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIKIRIK
İÜ HADYER Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pinar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Prof. Dr. Uluk ÇAKATAY
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Alan ARMUTAR
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Yard. Doç. Dr. Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İÜ, Veteriner Fakültesi Dekanlık katı A 221 no.lu Oda Avcılar-İSTANBUL TEL : (0 212) 473 70 70- 17031 E-mail : hadyek@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Dilek	Soyadı	Öztürk
Doğ.Yeri	Şumnu	Doğ.Tar.	1987
Uyruğu	T.C.	TC Kim. No	14456419712
Email	dilekozturk05@gmail.com	Tel	0536 618 95 02

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi - Ankara	2010
Lise	Beyoğlu Anadolu Lisesi - İstanbul	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Klinik Araştırmacı	Neutec AC ArGe, Klinik Araştırmalar Departmanı, Merter-İstanbul	16 ay (2010-2012)
2.	Stajyer	Barış Eczanesi, Mamak-Ankara	4 ay (2010)
3.	Stajyer	Floransa Üniv. Tıp Fak. Preklinik ve Klinik Farmakoloji Bölümü, Floransa-İtalya	3 ay (2009)
4.	Stajyer	Embil İlaç San. Tic. A.Ş. Maslak-İstanbul	1 ay (2008)

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	76.5	
İtalyanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf	-	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	79,29	76,99	62,12

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

Yayınlar (Derleme)

Pala Kara Z., Öztürk N., Öztürk D., Okyar A. (2013). ABC Taşıyıcı Proteinleri: Sirkadiyan Ritimler ve Cinsiyete Bağlı Farklılıklar. *MÜSBED*, **3(1)**, 1-13.

Tebliğler

Öztürk D., Pala Kara Z., Okyar A. (4-7 Kasım 2013). *Talinolol ve Vinblastin Arasında Zamana Bağımlı Etkileşme Farklılığının in vivo İncelenmesi*. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya. Poster Sunumu, Kongre Kitabı S196.

Sertifikalar

- İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2012.
- Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü Farmakovijilans Sertifikası, 2011.

Burslar

- 2009-2010 Erasmus Yaz Dönemi Staj Hareketliliği – Erasmus Bursu

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Seyahat, tango ve latin dansları, pilates.