

İsviçre Esmeri, Holştayn, Simental ve Doğu Anadolu Kırmızısı Irkı İneklerde Prob İlaç Olarak Debrizokin Kullanılarak *in vivo* CYP2D6 Enzim Aktivitesinin Fenotipik Belirlenmesi ^[1]

Fatih SAKİN *
Ahmet ATEŞŞAHİN ***

Ersoy BAYDAR **
Gürdal DAĞOĞLU ***

Kadir SERVİ ***

[1] Bu proje Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: 107O467)

* Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-31040 Hatay - TÜRKİYE

** Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, TR-23119 Elazığ - TÜRKİYE

*** Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-23119 Elazığ - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2012-8048

Özet

Mevcut araştırma; İsviçre Esmeri (İE), Holştayn (HOL), Simental (Sİ) ve Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) ırkı ineklerde prob ilaç olarak debrizokin (DEB) kullanılarak sitokrom P450 2D6 (CYP2D6) enzim aktivitesinin fenotipik belirlenmesi amacıyla yapıldı. Çalışmada her ırktan 15 adet olacak şekilde toplam 60 adet inek kullanıldı. İneklere DEB, 0.5 mg/kg dozunda uygulandı. Uygulamayı takiben 12 ve 24. saatlere kadar çıkarılan idrar örnekleri toplandı. İdrar örneklerinde DEB metabolik oranları (DMO) ve DEB rekoveri oranları (DRO) hesaplandı. 12. saat DMO değerleri DAK ırkı ineklerde diğer ırklara göre anlamlı şekilde yüksek olarak bulunurken ($P<0.01$), DRO değerleri DAK ırkı ineklerde diğer ırklara göre anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($P<0.01$). DAK ırkı ineklerde CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipi zayıf metabolizer (ZM) olarak değerlendirilirken; İE, HOL ve Sİ ırkı ineklerde ise yaygın metabolizer (YM) olarak değerlendirildi. Sonuç olarak; ineklerde *in vivo* CYP2D6 enzim aktivitesi fenotipinin belirlenmesinde prob ilaç olarak DEB'in 0.5 mg/kg dozunda uygulandıktan sonra 12. saatte kadar alınan idrar örneklerinin kullanılabilirliği ifade edilebilir. Ayrıca, DAK ırkı ineklerde CYP2D6 substratı olan ilaçlarla tedavi uygulanmasında bu ilaçların daha yavaş metabolize olacağı, vücutta kalış ve etki sürelerinde artış olacağı sonucuna varılabilir.

Anahtar sözcükler: CYP2D6, İnek, Debrizokin, Fenotiplendirme

Phenotyping Determination of *in vivo* CYP2D6 Enzyme Activity Used as A Probe Debrisoquine in Swiss Black, Holstein, Simmental and Eastern Anatolian Red Cow Breeds

Summary

In the current study was carried out to determine phenotyping of *in vivo* CYP2D6 enzyme activity used as a probe debrisoquine (DEB) in Swiss Black (SB), Holstein (HOL), Simmental (SI) and Eastern Anatolian Red (EAR) cows. In the study, totally 60 cows, fifteen cows from each breed, were used. DEB was application at 0.5 mg/kg. Urine samples were collected throughout 12. and 24th h after DEB application. The metabolic (DMR) and recovery (DRR) rates of DEB in urine samples were calculated to evaluate the *in vivo* activity of CYP2D6 enzyme activity. The DMR value of EAR at 12th h were significantly higher than those others ($P<0.01$) while this value significantly lower in EAR compared to that of others ($P<0.01$). The phenotyping CYP2D6 enzyme activity of EAR at 12th h was considered as poor metaboliser (PM) while this phenotype was extensive metabolizer (EM) in SB, HOL and SI cows. In conclusion, it can be considered that urine samples taken at 12th h after DEB administration at dose of 0.5 mg/kg as probe can be used to determine *in vivo* phenotyping of CYP2D6 enzyme activity in cows. Besides, in implementation of treatment with drugs that are substrates of CYP2D6 in cows, it can be concluded that these drugs will be metabolized more slowly, and the duration time of body and effect durations of action will be increased in EAR cows.

Keywords: CYP2D6, Cows, Debrisoquine, Phenotyping



İletişim (Correspondence)



+90 326 2455845/1557



fsakin@hotmail.com

GİRİŞ

Ksenobiyotik-metabolize eden enzimler, steroidler ve safra asitleri gibi belli endojen bileşiklerin olduğu kadar hayvan vücuduna giren kimyasalların da detoksifikasyonu ve biyoaktivasyonunda önemli bir rol oynarlar¹. Sitokrom P450 enzim grubu ince bağırsak, karaciğer ve diğer dokularda bulunan, bir sübstrat içine moleküler oksijenden bir oksijen atomunun birleştirilmesini katalize eden, çok sayıda ilaç ve ksenobiyotik sübstransın biyoaktivasyonu ve detoksifikasyonunda kilit rol oynayan monooksijenazların bir süperfamiliyasını temsil eder^{2,4}. Biyotransformasyon enzimlerinin aktiviteleri esas olarak ilaç ve diğer ksenobiyotiklerin ya farmakolojik ya da toksikolojik tesirlerini etkiler⁵. Memelilerde, sitokrom enzim süperfamiliyasının çoğu üyeleri temel olarak ekspresedir; ve diyet, cinsiyet, tür, fizyolojik durum ile ksenobiyotiklere maruziyet gibi bir çok faktör onların ekspresiyonunu ve/veya metabolik aktivasyonu değiştirebilir¹. İnsan ve rodentlerde CYP450 enzim aktiviteleri için kullanılabilir geniş veritabanının aksine veteriner hekimliğindeki hayvan türleri (sığır, koyun, keçi, köpek vs) ile ilgili veriler çok yetersizdir³.

İlaç-ilaç etkileşimleri açısından önemli bir sitokrom izoformu olan CYP2D6, bütün ilaçların yaklaşık %30'unun metabolizmasından sorumludur⁴ ve genetik varyasyonları ilaç metabolizması, farmakokinetikleri ve farmakodinamiklerinde önemli bireylerarası değişkenliklere sebep olabilir⁶. CYP2D6 son derece polimorfik olduğu için farmakogenetiklerin model özelliklerinden biri haline gelmiştir ve anti-depresanlar (mianserin, nortriptilin ve venlafaksin), nöroleptikler (levomepromazin, perfenazin, risperidon ve tiotridazin), antiaritmikler (enkainid, flekainid, propafenon ve spartein), beta-blokörler (metoprolol, propranolol ve timolol), antihipertansifler (debrizokin, indoramin), dekstrometorfan ve kodein dahil olmak üzere terapötik olarak kullanılan ilaçların geniş bir kısmının metabolizmasından sorumludur^{7,8}. Günümüzde, insanlarda CYP2D6 ilaç-metabolizma aktivitesinde bireylerarası ve ırklararası değişkenliğe yol açan CYP2D6 geni için 90'dan fazla allelik varyantları tanımlanmıştır⁹. Bireylerde CYP2D6 aktivitesi bozulduğunda veya eksildiğinde CYP2D6 tarafından metabolize edilen ilaçların standart dozları advers ilaç reaksiyonları veya terapötik başarısızlık riskini artırabilmektedir⁹. *In vitro* ve *in vivo* CYP2D6 aktivitesini belirlemek için uygun fenotip problemlerinin kullanımı, ilaç bulma ve geliştirilmesinin daha iyi olması ve bireysel tedavi başarısı için önemli olabilir^{6,10,11}. 1970'lerde deprizokin/spartein oksidasyon polimorfizminin keşfinden beri çeşitli etnik gruplardaki farmakogenetik etkilerini araştıran çok sayıda çalışmalar yapılmıştır¹².

CYP2D6 tarafından seçici olarak metabolize edilen spesifik sübstratlar, metabolik aktivitenin değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır. Spesifik sübstrat ve onun metabolitinin vücut sıvılarındaki konsantrasyonu (metabolik oran) bireysel sitokrom aktivitesinin ölçülmesi için hizmet eder¹³. CYP2D6 için uygun sübstratlar DEB, bufuralol, tramadol,

dekstrometorfan, metoprolol ve sparteini içermektedir^{11,14}. DEB metabolizma tarafından yaygın olarak elimine edilir. CYP2D6 tarafından katalize edilen 4 pozisyonundaki hidroksilasyon tamamen idrarla atılan 4-OH DEB oluşumu ile sonuçlanır¹⁵. Bu kapsamlı hidroksilasyon genetik olarak kontrol edilir ve popülasyonlarda YM ve ZM gibi mevcut iki fenotip olarak görülmektedir¹⁶. CYP2D6'nın *in vivo* aktivitesi tek bir per oral doz deprizokin uygulamasından sonra 6-8 saatlerde toplanan idrardaki DRO (DRO=4-OHD/D+4-OHD) veya DMO (DMO=D/4-OHD) hesaplanarak değerlendirilebilir. DMO parametresi, sıklıkla klinik çalışmalarda kullanılmasına rağmen *in vivo* CYP2D6 aktivitesinin linear bir ölçümünü temsil etmez. DRO, CYP2D6 aktivitesi ile orantılıdır ve 4-OH DEB oluşumu ile daha ilişkilidir. 0.12'den daha düşük DRO veya 12.6'dan daha büyük DMO'lu bireyler ZM olarak dikkate alınır^{17,18}.

Yapılan literatür incelemelerinde bugüne kadar sığır ırkları arasında *in vivo* CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipik belirlenmesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı prob olarak DEB kullanılarak İE, HOL, Sİ ve DAK ırkı ineklerde CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipik belirlenmesi ve ırklar arasında bu enzim aktivitesi bakımından polimorfizmin olup olmadığını ortaya koymaktır.

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

DEB sülfat, 4-OH DEB ve sodyum hidroksit Sigma (St Louis, MO, USA) şirketinden temin edildi. HPLC-gradeli asetonitril Merck'ten (Darmstadt, Germany) satın alındı. Analitik gradeli diklorometan, izopropanol ve sodyum asetat Merck'ten (Darmstadt, Germany) temin edildi. Mevcut çalışmada kullanılan su ELGA'dan (Bucks, UK) bir Milli-Q sistemi kullanılarak elde edildi.

Hayvanlar, Deneysel Dizayn ve Örnek Toplama

Çalışmada klinik olarak sağlıklı oldukları tespit edilen ve fenotipik özellikleri belirlenen HOL (350-400 kg), İE (350-400 kg), Sİ (360-420 kg) ve DAK (200-300 kg) ırklarından 18-24 aylık her ırktan 15'er inek olacak şekilde toplam 60 adet inek kullanıldı. Hayvanlar aynı şartlarda 1 ay bakım ve beslenmeye alındı. Hayvanlar bireysel bölmelerde barındırıldı ve kuru ot, saman, sığır süt yemi ve arpa tanesi ile beslendi. İçme suyu *ad libitum* olarak verildi. Bu süre boyunca hayvanlara herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleleri ve Etik Kurulunun resmi onayı (Protokol no: 2007/17) alınarak gerçekleştirildi.

Hayvanlara 0.5 mg/kg dozunda DEB sülfat 500 ml serum fizyolojik içerisinde çözülürldükten sonra bir sonda aracılığıyla direkt olarak rumene verildi. Uygulamayı takiben 12 ve 24. saatlere kadar çıkarılan idrarlar toplanarak 10-15 ml örnek alındı. Alınan idrar örnekleri analizler yapıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Cihazlar ve Sıvı Kromatografisi Şartları

DEB ve 4-OH DEB'in kromatografik analizleri HPLC sistemi (Shimadzu Corporation International Marketing Division, Tokyo, Japan) kullanılarak gerçekleştirildi. HPLC sistemi; sıvı kromatografi LC-20AT solvent dağıtıcı modülü, SIL-20A HT oto örnekleyici, DGU-20A5 degazer, RF-10AXL spektrofotometrik dedektör ve CTO-20A kolon fırınından oluşturuldu. Ayrıca analiz sonuçlarını değerlendirmek için Shimadzu LC Workstation LC-Solution kromatografik data sistemi yazılımı kullanıldı.

Analitlerin kromatografik ayrımları Inertsil ODS-3 kolon (5.0 µm particle size, 4.6 mm × 250 mm, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan) kullanılarak gerçekleştirildi. Mobil faz 0.25 M asetat tamponu (pH 5.0) ve asetonitril (9:1, h/h, son pH = 5.4) kullanılarak oluşturuldu. Akış hızı 0.7 ml/dakika olarak kullanıldı. Kolon akışı eksitasyon dalga boyu 210 nm ($\lambda_{\text{eksitasyon}}$) ve emisyon dalga boyu 290 nm (λ_{emisyon}) olarak izlendi. Her örnek için toplam analiz süresi 40 dakika olarak gerçekleştirildi.

Örnek Hazırlama

İdrarda DEB ve 4-OH DEB konsantrasyonları Pereria ve ark.¹⁹ tarafından bildirilen metoda göre gerçekleştirildi. Özetle; 400 µL idrar numunesi 80 mg sodyum klorür ilavesiyle purifiye edilerek 0.4 M sodyum hidroksit (20 µmol) ilavesiyle pH 9.0 alkanize edildi ve diklorometan: izopropanol (6:4, v/v) karışımı bir vorteks tüp içinde 1 dak. karıştırılarak ekstraksiyon gerçekleştirildi. Ekstraksiyondan sonra 10 dakika için 3000 rpm'de santrifüj edildi ve sulu faz organik fazdan aspirasyonla ayrılarak atıldı. Geri kalan organik faz 10 saniye için sıvı azota daldırılarak organik ekstrakt temiz ve kuru bir konik tüpe aktarıldı. Ekstraktlar azot akışı altında 37°C'de su banyosu içinde kurutularak yoğunlaştırıldı. Kurutulmuş ekstrakt daha sonra 100 µL mobil fazda çözdürüldü ve bunun 50 µL'si kolon içine injekte edildi.

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS for Windows 10.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Varyans analizi için en uygun kareler toplamı yöntemi belirlendi²⁰. Grupların karşı-

laştırılması tek yönlü varyans analizini takiben grup içi farklılıklar Tukey testi ile değerlendirildi. Sonuçlar ortalama ± standart hata (SH) olarak ifade edildi ve P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hayvanlarda prob ilaç olarak kullanılan 0.5 mg/kg dozunda DEB sülfat ile ilgili herhangi bir yan etki gözlenmedi.

CYP2D6'nın *in vivo* aktivitesini değerlendirmek için 0.5 mg/kg tek per oral doz DEB uygulamasından sonra 12 ve 24. saatlerde toplanan idrardaki DMO ve DRO hesaplandı. Hesaplanan DMO ve DRO değerlerine ait istatistiksel değerlendirmeler *Tablo 1*'de sunuldu. 24. saatte hesap edilen DMO ve DRO değerleri bakımından inek ırkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (P>0.05). 12. saat DMO değerleri DAK ırkı ineklerde diğer ırklara göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (P<0.01). 12. saat DMO değerleriyle uyumlu şekilde 12. saat DRO değerleri DAK ırkında diğer ırklara göre anlamlı şekilde düşük tespit edildi (P<0.01). DAK ırkı ineklerde DMO değeri 12.6'dan büyük ve DRO değeri de 0.12'den daha küçük olduğundan bu ırklar ZM olarak belirlendi. İE, HOL ve Sİ ırkı ineklerde DMO değerleri 12.6'dan küçük ve DRO değerleri de 0.12 den büyük olduğundan bu ırklarda YM olarak değerlendirildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

CYP2D6 enzim aktivitesinin değerlendirilmesinde bugüne kadar çeşitli prob ilaçlar kullanılmıştır. Bunlar içerisinde DEB, CYP2D6 ultra hızlı metabolizerlerinin belirlenmesinde kullanılan en iyi prob ilaçtır²¹. Antihipertansif bir ilaç olarak kullanılan DEB farmakogenetik tarihinde bir dönüm noktası olarak görülmektedir²². CYP2D6 insanlarda DEB hidroksilasyonunu katalize eden major enzim olarak tanımlanmakta²³ ve CYP2D6'nın genetik değişkenliğinde önemli bir rol oynamaktadır²⁴. CYP2D6 genotiplenmesi, CYP2D6 enzim aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmasına rağmen CYP2D6 metabolik kapasitesi dektrometorfan, DEB, metoprolol, tramadol, spartein gibi spesifik

Tablo 1. İsviçre Esmeri, Holştayn, Simental ve Doğu Anadolu Kırmızısı ineklerde (n=15) 0.5 mg/kg dozunda debrizokin sülfat uygulandıktan sonra 12 ve 24. saatlere ait idrar debrizokin metabolik oranları (DMO) ve debrizokin rekoveri oranları (DRO) ortalama±SH değerleri

Table 1. The debrisoquine metabolic ratio (DMR) and debrisoquine recovery ratio (DRR) values of urine samples taken at 12th and 24th hours after debrisoquine sulfate administration at dose of 0.5 mg/kg in Swiss Black, Holstein, Simmental, and Eastern Anatolian Red cows (n=15) (Mean±SE)

İnek İrkları	DMO		DRO	
	12. saat	24. saat	12. saat	24. saat
İsviçre Esmeri	4.38±0.41 ^b	6.46±0.80	0.20±0.02 ^{ab}	0.16±0.02
Holştayn	4.56±1.18 ^b	6.25±0.93	0.27±0.03 ^a	0.17±0.02
Simental	6.01±0.94 ^b	6.21±0.68	0.17±0.02 ^b	0.15±0.01
Doğu Anadolu Kırmızısı	14.41±1.69 ^a	6.42±0.34	0.08±0.01 ^c	0.14±0.01
P Değeri	0.000	0.993	0.000	0.557

^{a,b,c} Aynı sütündeki farklı satırlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)

bir ilacı içeren bir fenotipik test sonucunun değerlendirilmesi aracılığıyla belirlenebilir²⁵. DEB, metoprolol ve dekstrometorfan *in vivo* CYP2D6 aktivitesinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan prob sübstratlardır²⁶. Ancak, bu sübstratlar varolan pKa değerleriyle (sırasıyla; 11.9, 9.7 ve 8.3) farklı iyonizasyon özelliklerine sahiptirler²⁷. Buna ilave olarak, idrar pH'sı 4.5-8.5 değerleri arasında değişiklik gösterdiğinden bu ilaçların metabolik oranları kullanılarak enzim aktivitesinin tahmin edilmesinde idrar pH'sına bağımlı böbrek klerensi değişkenliklere yol açmaktadır. Daha önce yapılan çalışmada²⁸ idrar pH'sındaki değişkenliğin dekstrometorfan ve metoprolol'un metabolik oranlarında %20 ile %80 arasında bireylerarası farklılığa yol açtığı bildirilmiştir. Özdemir ve ark.²⁹ tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, dekstrometorfan ve metoprolol'un metabolik oranlarının idrar pH'sına bağlı olarak önemli düzeyde değişiklik gösterdiği ancak DEB'in metabolik oranlarının idrar pH değişkenliğinden etkilenmediği rapor edilmiştir. Mevcut çalışmada da CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipik değerlendirilmesi için prob ilaç olarak DEB tercih edilmiştir.

Günümüzde, CYP2D6 polimorfizmi, aktivitesinin 4 seviyesinden birine göre; iki fonksiyonel alleli ile yaygın metabolizerler (YM), fonksiyonel alleli olmayan ve enzim aktivitesinin tam bir eksikliği ile zayıf metabolizerler (ZM), bir aktif heterozigot taşıyıcısında ve bir eksik allel ile orta metabolizerler (OM), son derece yüksek aktivite ile ultra hızlı metabolizerler (UM) sınıflandırılırlar. Buna ilave olarak; YM fenotipi popülasyonun çoğunluğu tarafından ifade edilir ve bu nedenle normal olarak kabul edilir. ZM, iki CYP2D6 allelinden yoksun olduğundan onlar ilaçları daha düşük bir oranda metabolize ederler. Dolayısıyla metabolize olmamış ilaçların seviyelerinde yükselmeye neden olurlar. UM fenotipi aktif CYP2D6'nın duplikasyonuna veya amplifikasyonuna neden olurlar. UM genotipi olan bireyler ultra hızlı bir oranda ilaçları metabolize edeceğinden ilaçların standart dozlardaki terapötik etkilerinde bir kayba yol açarlar. Defektif bir CYP2D6 alleleline sahip olan bireyler genellikle OM fenotipinde görülmektedir. Bu fenotip, ZM fenotipinden daha iyi ve YM fenotipine yakın bir metabolik aktiviteye sahip olmasıyla geniş bir spektruma sahiptir³⁰⁻³². Farklı etnik gruplarda YM, OM, ZM ve UM'lerin değişken yüzdelere dolaylı CYP2D6 sübstratları ile ilaç tedavisinin klinik sonuçları değişiklik göstermektedir³³. Mevcut çalışmada; hesap edilen DMO ve DRO değerlerine göre, DAK ırkı ineklerde DMO değeri 12.6'dan büyük ve DRO değeri de 0.12'den daha küçük tespit edildiği (Table 1) için bu ırklarda CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipi ZM olarak belirlenmiştir. Buna göre DAK ırkı ineklerde CYP2D6 sübstratı olan ilaçlarla tedavi uygulandığında, enzim aktivitesi zayıf olduğundan ilaçların daha yavaş metabolize olacağı, ilacın vücutta kalış sürelerinin ve etkilerinin uzayacağı sonucuna varılabilir. Çalışmada İE, HOL ve Sİ ırkı ineklerde ise DMO değerleri 12.6'dan küçük ve DRO değerleri de 0.12 den büyük olduğundan bu ırklarda CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipi YM olarak değerlendirilmiştir

(Table 1). YM popülasyonun çoğunda görülmekte ve normal olarak kabul edilmektedir.

İnsanlarda ilaç metabolizmasında rol alan enzimlerin aktivitelerinde etnik farklılıkların varlığı birçok çalışmada gösterilmiş olmasına rağmen özellikle besin değeri olan çiftlik hayvanları başta olmak üzere hayvanlarda biyotransformasyon enzimlerinin ırklar arası karşılaştırılması ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmanın prob ilaç olarak DEB kullanılarak farklı inek ırklarında *in vivo* CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipik belirlenmesi ile ilgili bu dizaynda hazırlanmış ilk çalışma olduğu söylenebilir. Bu çalışmada, İE, HOL, Sİ ve DAK ırkı ineklerde prob ilaç olarak DEB'in metabolizmasından sorumlu olduğu kabul edilen CYP2D6 enziminin aktivitesi fenotipik olarak belirlenmiş ve enzim aktivitesi bakımından ırklar arasında farklılık olup olmadığı ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak; ineklerde *in vivo* CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipinin belirlenmesinde prob ilaç olarak DEB'in 0.5 mg/kg dozunda uygulandıktan sonra 12. Saatte kadarki çıkarılan idrar örnekleri kullanılabilir. CYP2D6 enzim aktivitesinin fenotipi DAK ırkı ineklerde ZM; buna karşın İE, HOL ve Sİ ırkı inekler de ise YM olarak tanımlanmıştır. Buna bağlı olarak; ineklerde CYP2D6 sübstratı olan ilaçlarla tedavi uygulanmasında DAK ırkı ineklerde bu ilaçların daha yavaş metabolize olacağı, vücutta kalış ve etki sürelerinde artış olacağı sonucuna varılmıştır. Hayvan sağlığında kullanılan ilaçların klinik etkinlikleri ve halk sağlığını etkileyecek ilaç kalıntısı problemlerini aydınlatmak için özellikle çiftlik hayvanları başta olmak üzere tüm hayvan ırklarında CYP450 enzimlerinin metabolizma yollarının *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla ortaya konulması, yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi, ilaç etkinliğinin artırılması ve ilaç etkileşimlerinin tespiti gibi optimum tedavi uygulayabilmek için çok önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Mate ML, Lifschitz A, Sallovitz J, Ballent M, Muscher AS, Wilkens MR, Schröder B, Lanusse C, Virkel G: Cytochrome P450 3A expression and function in liver and intestinal mucosa from dexamethasone treated sheep. *J Vet Pharmacol Therap*, 35, 319-328, 2011.
2. Felmlee MA, Lon HK, Gonzalez FJ, Yu A: Cytochrome P450 expression and regulation in CYP3A4/CYP2D6 double transgenic humanized mice. *Drug Metab Dispos* 36, 435-441, 2008.
3. Fink-Gremmels J: Implications of hepatic cytochrome P450-related biotransformation processes in veterinary sciences. *Eur J Pharmacol* 585, 502-509, 2008.
4. Gurley BJ, Swain A, Hubbard MA, Williams DK, Barone G, Hartsfield F, Tong Y, Carrier DJ, Cheboyina S, and Battu SK: Clinical assessment of CYP2D6-mediated herb-drug interactions in humans: Effects of milk thistle, black cohosh, goldenseal, kava kava, St. John's wort, and Echinacea. *Mol Nutr Food Res* 52, 755-763, 2008.
5. Szotakova B, Baliharova V, Lamka J, Nozinova E, Wsol V, Velik J, Machala M, Neca J, Soucek P, Susova S, Skalova L: Comparison of *in vitro* activities of biotransformation enzymes in pig, cattle, goat and sheep. *Res Vet Sci*, 76, 43-51, 2004.
6. Yu AM, Idle JR, Gonzalez FJ: Polymorphic cytochrome P450 2D6: Humanized mouse model and endogenous substrates. *Drug Metab Rev*,

36, 243-277, 2004.

7. Ingelman-Sundberg M: Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J*, 5, 6-13, 2005.

8. Rendic S: Summary of information on human CYP enzymes: Human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev*, 34, 83-448, 2002.

9. Jiang XL, Shen HW, Yu AM: Pinoline may be used as a probe for CYP2D6 activity. Drug metabolism and disposition. *Drug Metab Dispos*, 37, 443-446, 2009.

10. Frank D, Jaehde U, Fuhr U: Evaluation of probe drugs and pharmacokinetic metric for CYP2D6 phenotyping. *Eur J Clin Pharmacol*, 63, 321-333, 2007.

11. Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M: Cytochrome P450 2D6: Overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 369, 23-37, 2004.

12. Li Q, Wang R, Guo Y, Wen S, Xu L, Wang S: Relationship of CYP2D6 genetic polymorphisms and the pharmacokinetics of tramadol in Chinese volunteers. *J Clin Pharm Ther*, 35, 239-247, 2010.

13. Jurica J, Barteczek R, Zourkova A, Pindurova E, Sulcova A, Kasperek T, Zendulka O: Serum dextromethorphan/dextrorphan metabolic ratio for CYP2D6 phenotyping in clinical practice. *J Clin Pharm Ther*, 37, 486-490, 2012.

14. Zhou SF: Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance Part I. *Clin Pharmacokinet*, 48, 689-723, 2009.

15. Eiermann B, Edlund PO, Tjernberg A, Dalen P, Dahl ML, Bertilsson L: 1- and 3-hydroxylations, in addition to 4-hydroxylation, of debrisoquine are catalyzed by cytochrome P450 2D6 in humans. *Drug Metab Dispos*, 26, 1096-1101, 1998.

16. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL: Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet*, 2, 584-586, 1977.

17. Johansson I, Lundqvist E, Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, Ingelman Sundberg M: Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Proc Natl Acad Sci*, 90, 11825-11829, 1993.

18. Bertilsson L: Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet*, 29, 192-209, 1995.

19. Pereira VA, Auler JO, Carmona MJ, Mateus FH, Lanchote VL, Breimer DD, Santos SR: A micromethod for quantitation of debrisoquine and 4-hydroxydebrisoquine in urine by liquid chromatography. *Braz J Med Biol Res*, 33, 509-514, 2000.

20. Ergün G, Aktaş S: ANOVA modellerinde kareler toplamı yöntemlerinin karşılaştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (3): 481-484, 2009.

21. Streetman DS, Bertino JS and Nafziger AN: Phenotyping of drug metabolizing enzymes in adults: A review of *in-vivo* cytochrome P450 phenotyping probes. *Pharmacogenetics*, 10, 187-216, 2000.

22. Saadatmand AR, Tadjerisheh S, Brockmöller J, Tzvetkov MV: The prototypic pharmacogenetic drug debrisoquine is a substrate of the genetically polymorphic organic cation transporter OCT1. *Biochem Pharmacol*, 83, 1427-1434, 2012.

23. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ: The human debrisoquine 4 hydroxylase (CYP2D) locus: Sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet*, 45, 889-904, 1989.

24. Kagimoto M, Heim M, Kagimoto K, Zeugin T, Meyer UA: Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 gene (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. Study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem*, 265, 17209-17214, 1990.

25. LLerena A, Dorado P, Peñas-Lledó EM: Pharmacogenetics of debrisoquine and its use as a marker for CYP2D6 hydroxylation capacity. *Pharmacogenomics* 10, 17-28, 2009.

26. Tucker GT, Houston JB, Huang SM: Optimizing drug development: Strategies to assess drug metabolism/transporter interaction potential-towards a consensus. *Br J Clin Pharmacol*, 52, 107-117, 2001.

27. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B: Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. Vol. 2, 3rd ed., Pharmaceutical Press, London, 2004.

28. Labbe L, Sirois C, Pilote S, Arseneault M, Robitaille N, Turgeon J, Hamelin B: Effect of gender, sex hormones, time variables and physiological urinary pH on apparent CYP2D6 activity as assessed by metabolic ratio of marker substrates. *Pharmacogenetics*, 10, 425-438, 2000.

29. Özdemir M, Crewe KH, Tucker GT, Rostami-Hodjean A: Assessment of *in vivo* CYP2D6 activity: Differential sensitivity of commonly used probes to urine pH. *J Clin Pharmacol*, 44, 1398-1404, 2004.

30. Jann MW, Cohen LJ: The influence of ethnicity and antidepressant pharmacogenetics in the treatment of depression. *Drug Metabol Drug Interact*, 16, 39-67, 2001.

31. Meyer UA: Pharmacogenetics-five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet*, 5, 669-676, 2004.

32. Sistonen J, Sajantila A, Lao O, Corander J, Barbujani G, Fuselli S: CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genoms*, 17, 93-101, 2007.

33. Huber-Wechselberger AE, Niedetzky P, Aigner I, Haschke-Becher E: Impact of CYP2D6 polymorphism on tamoxifen therapy: Where are we? *Wien Med Wochenschr* 162, 252-261, 2012.