

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

**SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLERDE TENOFVİR İLE
PARA-AMİNOSALİSİLİK ASİT ARASINDAKİ
FARMAKOKİNETİK ETKİLEŞMENİN İNCELENMESİ**

Dr. Said N. KALKIŞIM

**Tıbbi Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2018**

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

**SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLERDE TENOFOVİR İLE
PARA-AMİNOSALİSİLİK ASİT ARASINDAKİ
FARMAKOKİNETİK ETKİLEŞMENİN İNCELENMESİ**

Dr. Said N. KALKIŞIM

**Tıbbi Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU**

**ANKARA
2018**

**Sağlıklı Gönüllülerde Tenofovir ile Para-aminosalisilik Asit Arasındaki
Etkileşmenin İncelenmesi**

Said N. Kalkışım

Danışman: Prof. Dr. Melih Önder Babaoğlu

Bu tez çalışması 22.03.2018 tarihinde jürimiz tarafından “Tıbbi Farmakoloji Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Alper Bektaş İskit

Hacettepe Üniversitesi

(imza)

Üye:

Prof. Dr. Ümit Yaşar

Hacettepe Üniversitesi

(imza)

Üye:

Prof. Dr. Canan Uluoğlu

Gazi Üniversitesi

(imza)

Üye:

Prof. Dr. Zühal Aktuna

Yüksek İhtisas Üniversitesi

(imza)

Üye:

Doç. Dr. Mert Ertunç

Hacettepe Üniversitesi

(imza)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

29 Mart 2018

Diclehan

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Diclehan ORHAN

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**
(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)
- **Tezimin/Raporumun 01.04.2019 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)
- **Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**



22 /03/2018

Dr. Said N. KALKIŞIM

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Dr. Said N. KALKIŞIM

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Melih BABAOĞLU'na ve eş danışmanım Sayın Prof. Dr. Atilla BOZKURT'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince görüşlerinden faydalandığım Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalının değerli hocaları Prof. Dr. Ümit YAŞAR, Prof. Dr. Alper İSKİT, Prof. Dr. Yıldırım SARA, Doç. Dr. Mert ERTUNÇ ve Doç. Dr. Güray SOYDAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen ve Farmakogenomik Araştırma Merkezi laboratuvarları ve Klinik Araştırma Merkezinin olanaklarından yararlanmamı sağlayan Güney Kore İnje Üniversitesinden Sayın Prof. Dr. Jae-Gook SHİN'e ve Dr. Jin-Ah JUNG'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince birlikte çalıştığım ve çalışmalarım sırasında büyük bir özveri ile yardımcı olan tüm Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalının değerli çalışanlarına teşekkür ederim.

Güney Kore'deki çalışmaların gerçekleşmesi için yurtdışı araştırma bursu sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen eşime, kızıma ve aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Kalkışım, S. Sağlıklı Gönüllülerde Tenofovir ile para-Aminosalisilik Asit Arasındaki Farmakokinetik Etkileşmenin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018. Dünyada yılda yaklaşık on milyon yeni tanı alan tüberküloz hastası olduğu ve bunların bir milyonunun HIV ile de enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Tenofovir, HIV enfeksiyonu tedavisinde en sık kullanılan ilaçlardandır. *para*-Aminosalisilik asit (PAS) dirençli tüberküloz tedavisinde kullanılan ikinci sıra ilaçlar arasındadır. Tenofovir başlıca glomerüler filtrasyon ve OAT1 (Organik Anyon Taşıyıcısı 1) - OAT3 aracılı tübüler sekresyon ile atılır. PAS'ın *in vitro* ortamda tenofovirin OAT1 ve OAT3 aracılı taşınmasını baskıladığı gösterilmiştir. Bu tez çalışmasının amacı; *in vitro* ortamda gerçekleşen bu etkileşmenin sağlıklı insanlarda olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaçla açık etiketli, randomize, çift kollu, çift periyotlu, çapraz geçişli bir çalışma tasarlanmıştır. 20 sağlıklı, Güney Koreli gönüllüye tek doz tenofovir (300 mg, Referans grup) veya test grubu olarak tek doz tenofovir (300 mg) eşliğinde 7 doz PAS (2,64 g, 2x2) uygulandı. PAS'ın taşınmasında sorumlu olduğu gösterilen Organik Katyon Taşıyıcısı 2 (OCT2) genetik polimorfizmlerinin (c.808G>T, c.602C>T, c.596C>T) PAS farmakokinetiğine etkileri incelendi. Çalışmada katılımcıların plazma ve idrar örneklerinden tenofovir ve PAS ilaç düzeyleri ölçüldü. Plazma tenofovir düzeylerinin, PAS ile beraber uygulandığında anlamlı oranda azaldığı gözlemlendi. Plazma doruk konsantrasyonu (C_{maks}) değerleri (ortalama $\pm$ standart sapma) referans ve test grubunda sırasıyla $245,2 \pm 78,1$ ve $86,5 \pm 39,7$ ng/mL; eğri altındaki alan (EAA) değerleri, $2205,9 \pm 426,0$ ve $789,3 \pm 253,2$ ng·sa/mL olarak hesaplandı. C_{maks} ve EAA değerlerinin geometrik ortalama oranları (%90 güven aralığı) sırasıyla 0,33 (0,28-0,38) ve 0,29 (0,26-0,33) bulundu. Bu değerler, FDA tarafından önerilen 0,80-1,25 etkisizlik aralığından oldukça uzaktır ve bu nedenle önemli bir etkileşmeyi göstermektedir. OCT2 haplotiplerinin plazma PAS farmakokinetiğini etkilemediği gözlenmiştir. Sonuç olarak PAS ile beraber uygulandığında tenofovirin plazma konsantrasyonlarında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Bu etkileşmenin uygulamada klinik öneminin olup olmadığı hastalar üzerinde yapılacak diğer klinik çalışmalarla desteklenmelidir.

Anahtar kelimeler: tenofovir, *para*-aminosalisilik asit, ilaç-ilaç etkileşmesi, organik anyon taşıyıcısı (OAT), farmakokinetik, farmakogenetik.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 2214-A Doktora Sırası Yurtdışı Araştırma Bursu ile desteklenmiştir (No: 1059B14150052).

ABSTRACT

Kalkışım, S. Evaluation of Pharmacokinetic Interaction Between Tenofovir and para-Aminosalicylic Acid in Healthy Volunteers, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, PhD thesis in Medical Pharmacology Program, Ankara, 2018. Tuberculosis has an annual incidence rate of 10 million globally. One million of these new patients are expected to be HIV(+). Tenofovir is a widely used drug in HIV treatment. *para*-Aminosalicylic acid is a second line drug for treatment of drug resistant tuberculosis. Tenofovir is mainly excreted in urine via glomerular filtration and Organic Anion Transporter 1 (OAT1) and OAT3 mediated tubular secretion. It has been shown that PAS inhibits OAT1 and OAT3 mediated transport of tenofovir, *in vitro*. The aim of this study was to investigate if there is a drug-drug interaction between PAS and tenofovir in healthy human subjects. For this purpose, we designed an open-label, randomised, two-period and two-sequence, crossover clinical study. Twenty healthy Korean volunteers were included into the study. The drugs have been administered as single dose tenofovir (300 mg) in the reference group and simultaneous single oral dose of tenofovir (300 mg) and 7 oral doses of PAS (5.28 g, BID) in the test group. Since PAS is a substrate of organic cation transporter 2 (OCT2), effect of *OCT2* genetic polymorphisms (c.808G>T, c.602C>T, c.596C>T) on PAS pharmacokinetics was evaluated. Plasma and urine samples of the volunteers were collected and tenofovir and PAS concentrations were analysed. Plasma tenofovir concentrations significantly decreased when it was administered concomitantly with PAS. Maximum plasma concentration (C_{max}) values (mean $\pm$ SD) were 245.2 ± 78.1 and 86.5 ± 39.7 ng/mL; area under the curve (AUC) values were 2205.9 ± 426.0 and 789.3 ± 253.2 ng·h/mL in the reference and test groups, respectively. The geometric mean ratios (test/reference) and 90% CIs of the C_{max} and AUC were 0.33 (0.28-0.38) and 0.29 (0.26-0.33), respectively. These values were beyond the range of 0.80-1.25 "*no effect boundaries*" suggested by the FDA. Therefore the interaction was significant. OCT2 haplotypes did not affect PAS pharmacokinetics. In conclusion, concomitant administration of PAS significantly decreased plasma tenofovir concentration in healthy human subjects. Other clinical studies are warranted to support the clinical significance of this interaction.

Key words: tenofovir, *para*-aminosalicylic acid, drug-drug interaction, organic anion transporter (OAT), pharmacokinetics, pharmacogenetics.

This study was supported by TUBITAK 2214-A International Doctoral Research Programme (No: 1059B14150052).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xvi
TABLolar	xviii
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 İlaç-İlaç Etkileşmeleri	4
2.1.1 Farmakokinetik Etkileşmeler	4
2.1.2 Farmakodinamik Etkileşmeler	8
2.1.3 İlaç İlaç Etkileşmelerinin Önemi	8
2.2 Tüberküloz	9
2.2.1 Tüberküloz Tanısı	10
2.2.2 Tüberküloz Tedavisi	10
2.2.3 Tüberkülozda İlaç Direnci ve Advers Olaylar	11
2.3 HIV Enfeksiyonu	13
2.3.1 HIV Enfeksiyonu Tedavisi	13
2.4 Tenofovir Farmakolojisi	15
2.4.1 Tenofovir Farmakokinetiği	15

2.4.2	Tenofovir Farmakodinamiği	18
2.4.3	Tenofovirin İlaç-İlaç Etkileşmeleri	19
2.5	<i>para</i> -Aminosalisilik Asit Farmakolojisi	19
2.5.1	<i>para</i> -Aminosalisilik Asit Farmakokinetiği	21
2.5.2	<i>para</i> -Aminosalisilik Asit Farmakodinamiği	22
2.6	OAT1 ve OAT3 Taşıyıcı Proteinleri	22
2.7	OCT2 Taşıyıcı Proteini	24
3	BİREYLER VE YÖNTEM	27
3.1	Klinik Çalışma Tasarımı	27
3.2	Dahil Edilme ve Hariç Tutma Kriterleri	29
3.2.1	Dahil Edilme Kriterleri	29
3.2.2	Hariç Tutma Kriterleri	29
3.3	LC/MS-MS Analizleri	31
3.3.1	Plazma Tenofovir Düzeyinin Belirlenmesi	31
3.3.2	İdrar Tenofovir Düzeylerinin Belirlenmesi	31
3.3.3	Plazma <i>para</i> -Aminosalisilik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi	32
3.3.4	İdrar <i>para</i> -Aminosalisilik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi	32
3.4	Organik Katyon Taşıyıcısı-2 Genotip Analizi	32
3.5	Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	33
4	BULGULAR	35
4.1	Tenofovir Farmakokinetik Verileri	35
4.2	<i>para</i> -Aminosalisilik Asit Farmakokinetik Verileri	46
4.3	OCT-2 Polimorfizmlerinin Genetik Analizi	47
4.4	Advers Olaylar ve Ko-medikasyon Gereksinimi	47
5	TARTIŞMA	50
6	SONUÇ VE ÖNERİLER	60

7 KAYNAKLAR

61

8 EKLER

EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi

9 ÖZGEÇMİŞ



SİMGELER VE KISALTMALAR

5-ASA	5 aminosalisilik asit
α -KG	α -ketoglutarat
°C	Celsius
A	Adenin
A _e	Atılan miktar
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AK	Adenilat kinaz
Ala	Alanin
ALT	Alanin transaminaz
ARB	Aside dirençli basil
Arg	Arjinin
as-PAS	asetil <i>para</i> -aminosalisilik asit
AST	Aspartat transaminaz
ATP	Adenozin trifosfat
bç	Baz çifti
C	Sitozin
C _{maks}	Tepe plazma konsantrasyonu
CYP	Sitokrom p 450 enzimleri
DGT	Doğrudan gözlenen tedavi
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	deoksinükleotid
EAA	Eğri altındaki alan

EKG	Elektrokardiyografi
EMB	Etambutol
F	Biyoyararlanım
F.D.A.	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
G	Guanin
g	yerçekimi ivmesi
GOO	Geometrik ortalamaların oranları
HEK293	İnsan embriyonik böbrek hücresi 293
His	Histidin
HIV	İnsan immünyetmezlik virüsü
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	Maksimum inhibisyonun %50'sinin gözlemlendiği konsantrasyon
Ile	İzolösin
INH	İzoniyaizid
K _m	Michaelis-Menten sabiti
KL	klerens
LC	Sıvı kromatografisi
m/z	kütle-yük oranı
MDR-TB	Çoklu ilaç dirençli tüberküloz
MDR1(<i>MDR1</i>)	Çoklu ilaç direnci 1 proteini (<i>geni</i>)
Met	Metionin
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
MRP	Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein
MS	Kütle spektrometrisi

NAAT	Nükleik asit amplifikasyon testi
NAT	N-asetil transferaz
NDR	Nükleoid difosfat kinaz
OAT	Organik Anyon Taşıyıcısı
OCT	Organik Katyon Taşıyıcısı
PAS	<i>para</i> -Aminosalisilik asit
PAS-GR	<i>para</i> -Aminosalisilik asidin mide koruyucu kaplamalı olan farmasötik formu
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PZA	Pirazinamid
RIF	Rifampin
RR-TB	Rifamisine direçli tüberküloz
rs	referans tek nükleotid polimorfizmi
SAP	Karides alkalen fosfatazi
Ser	Serin
SLC	Solüt taşıyıcı ailesi
SS	Standart sapma
T	Timin
$t_{1/2}$	Yarılma ömrü
TAF	Tenofovir alafenamit
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TB	Tüberküloz
TDF	Tenofovir diposroksil fumarat
TFV	Tenofovir
TFVp	Tenofovir monofosfat

TFVpp	Tenofovir difosfat
Thr	Treonin
Vd	Sanal dağılım hacmi
XDR-TB	Yaygın ilaç dirençli tüberküloz



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1 Hipotezin şematik görünümü	3
2.1 İlaça duyarlı tüberküloz hastalığı tedavisinde önerilen tedavi protokolleri.	11
2.2 Tenofovirin molekül yapısı.	15
2.3 Tenofovirin farmakokinetiğinin şematik gösterimi.	16
2.4 Tenofovirin renal proksimal tübül hücreleri aracılığıyla taşınma mekanizması.	17
2.5 Tenofovirin hücre içinde tenofovir difosfata dönüşümü.	18
2.6 <i>para</i> -Aminosalisilik asidin molekül yapısı.	20
2.7 <i>para</i> -Aminosalisilik asidin farmakokinetiği.	20
2.8 OAT taşıyıcı proteinlerinin çalışma mekanizması	24
3.1 Klinik çalışma tasarımı	28
4.1 Plazma tenofovir konsantrasyonlarının gruplar arasındaki karşılaştırılması.	37
4.2a Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.	38
4.2b Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.	39
4.2c Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.	40
4.2d Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.	41
4.2e Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.	42
4.3 İdrar tenofovir miktarıyla hesaplanan 24 saatlik renal tenofovir klerensi	43
4.4 İdrar tenofovir miktarıyla hesaplanan 24 saatlik renal sekretuar tenofovir klerensi	43
4.5 Tenofovir renal klerensinin farklı zaman dilimlerindeki değişimi.	44

4.6 Bireyler arasında tenofovir renal klerensinin farklı zaman dilimlerindeki değişimi.	45
4.7 Ölçülen plazma PAS konsantrasyonları	46
4.8 Çalışmada gözlenen advers olaylar.	49



TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1 Farmakokinetik etkileşmelerin olası mekanizmaları	5
2.2 Rifampisine dirençli veya çoklu ilaca dirençli tüberküloz tedavisi için önerilen ilaç grupları	12
2.3 Tüberküloz tedavisinde gözlenen ilaç direnci sınıflamaları.	13
2.4 OAT1 ve OAT3 taşıyıcıların <i>in vitro</i> substratları	23
2.5 OCT2 taşıyıcısının <i>in vitro</i> substratları	26
3.1 Katılımcılardan tenofovir ve PAS analizi için ilaçların uygulanmasını takiben örnek alım saatleri	29
3.2 PCR koşulları	33
3.3 OCT-2 geninin çoğaltılmasında kullanılan primerler.	33
3.4 OCT-2 genetik polimorfizmlerinin SNaPshot analizinde kullanılan primerler	34
4.1 Katılımcılara ait demografik veriler.	35
4.2 Tenofovirin farmakokinetik parametreleri	36
4.3 Tenofovir uygulanan hastalardaki PAS plazma farmakokinetik verileri	46
4.4 Katılımcılardaki OCT-2 genotiplerinin dağılımı	47
4.5 OCT-2 haplotipleri arasında PAS farmakokinetiğinin karşılaştırılması.	48

1. GİRİŞ

Tüberküloz ve HIV her yıl milyonlarca insanı etkileyen küresel bir sağlık sorunudur. Her yıl yaklaşık on milyon kişi ilk defa tüberküloz tanısı almakta ve bunların yaklaşık bir milyonunun HIV (İnsan immünyetmezlik virüsü) ile aynı zamanda enfekte olduğu düşünülmektedir (1). Bu durum tüberküloz ve HIV tedavilerinin sıklıkla beraber verilmesini gerektirmektedir. Çoklu ilaç tedavilerinde karşılaşılan önemli sorunlardan bir tanesi, birlikte kullanılan ilaçların birbiriyle etkileşmesi ve bunun tedavi sonucunu olumsuz etkilemesi veya advers olaylara yol açmasıdır. Bu iki tedavinin beraber verilmesi, istenmeyen ters etkilerin artmasına ve ilaç-ilaç etkileşmelerine neden olarak hastaların tedaviye uyuncunu etkileyebilir (2).

Tenofovir HIV ve Hepatit B enfeksiyonunun tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaçtır. Tenofovir hastalara çeşitli ön-ilaç biçimlerinde uygulanabilir. Bu çalışmada dünyada da en sık kullanılan tenofovir ön-ilaç biçimi olan tenofovir disoproksil fumarat (TDF) kullanılmıştır. TDF barsaklardan absorbe olduktan sonra barsakta ve daha sonra plazmada bulunan spesifik olmayan esteraz enzimleri tarafından tenofovire (TFV) dönüştürülür (3). Tenofovir ise hücre içi ortamda iki fosfat ile birleşerek tenofovir difosfata (TFVpp) dönüştürülür. Major anti-viral etkiden tenofovir difosfat sorumludur (4). Tenofovirin büyük bir kısmı böbreklerden değişmeden atılır. Tenofovirin atılımında hem tübüler sekresyonun hem de glomerüler filtrasyonun rolü vardır. Tenofovirin tübüler sekresyonu bazal lümende Organik Anyon Taşıyıcısı 1 (OAT1) ve Organik Anyon Taşıyıcısı 3 (OAT3) taşıyıcı proteinleri; apikal lümende Çoklu İlaç Direnci ile İlişkili Protein 4 (MRP4) taşıyıcı proteinleri aracılığıyla gerçekleştirilir (5). Bu taşıyıcılar içerisinde OAT1 taşıyıcı proteininin aktivitesi hücresel tenofovir birikmesiyle ilişkili olduğundan dolayı bu taşıyıcının baskılanması tenofovire bağlı böbrek hasarını azaltabileceği düşünülmektedir (6–8).

para-Aminosalisilik asit (PAS) tüberküloz tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. İkinci sıra (*second-line*) tedavi seçenekleri arasında yer alır. PAS kullanımı günümüzde çoklu

ilaca dirençli tüberküloz (MDR-TB)¹ ve yaygın ilaç dirençli tüberküloz (XDR-TB)² olgularıyla sınırlandırılmıştır (9). PAS temel olarak karaciğerde N-asetil transferaz (NAT) enzimleri tarafından asetil-PAS'a (as-PAS) metabolize olur (10). PAS ve as-PAS çoğunlukla idrar yoluyla vücuttan atılır.

İnje Üniversitesi Farmakogenomik Araştırma Merkezindeki çalışma grubu tarafından daha önce yapılan bir çalışmada *para*-aminosalisilik asitin (PAS) *in vitro* OAT1 ve OAT3 taşıyıcı aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur (11). Bu çalışmada PAS, OAT1 ve OAT3 aktivitesi ölçümü için prob ilaçlar olarak kullanılan *para*-aminohippüratın ve östron sülfatın sırasıyla OAT1 ve OAT3 transfekte edilmiş HEK293 hücrelerine alımını azaltmıştır. Gerçekleşen *in vitro* baskılanmanın klinik önemini Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (F.D.A.) tarafından OAT taşıyıcıları için önerilen formül (1.1) numaralı eşitlikte belirtilmiştir (12). Bu formülde *in vitro* ortamda inhibisyon gösteren ilacın plazma maksimum serbest ilaç konsantrasyonu, aynı ilacın OAT1 veya OAT3 için *in vitro* olarak hesaplanmış IC₅₀ (yanıtı %50 azaltan konsantrasyon) değerine bölünür. Bunun sonucunda ilaç-ilac etkileşme indeksi hesaplanmış olur. Bu formüle göre PAS'ın OAT1 ve OAT3 için ilaç-ilac etkileşme indeksleri (ortalama±standart sapma) sırasıyla 9,3±0,24 ve 12,0±2,01 olarak hesaplandı. Bu değerler FDA'nın yeni araştırma ilaçları için ileri klinik araştırma istediği 0,1 değerinden oldukça fazlaydı.³

$$\frac{\text{Bağılı olmayan } C_{maks}}{IC_{50}} \geq 0,1 \quad (1.1)$$

Eğer PAS, *in vitro* ortamda olduğu gibi *in vivo* koşullarda da OAT1 ve OAT3 taşıyıcılarının aktivitesini baskılırsa tenofovirin renal tübüler sekresyonu azalacağı için tenofovir plazma konsantrasyonlarının yükselmesi beklenir. Ayrıca böbrek tübül hücrelerindeki tenofovir birikimi azalacağından tenofovire bağlı böbrek toksiste riski

¹Çoklu ilaca dirençli TB, (MDR-TB): En azından izoniyazid ve rifampin'e direnç gelişimi

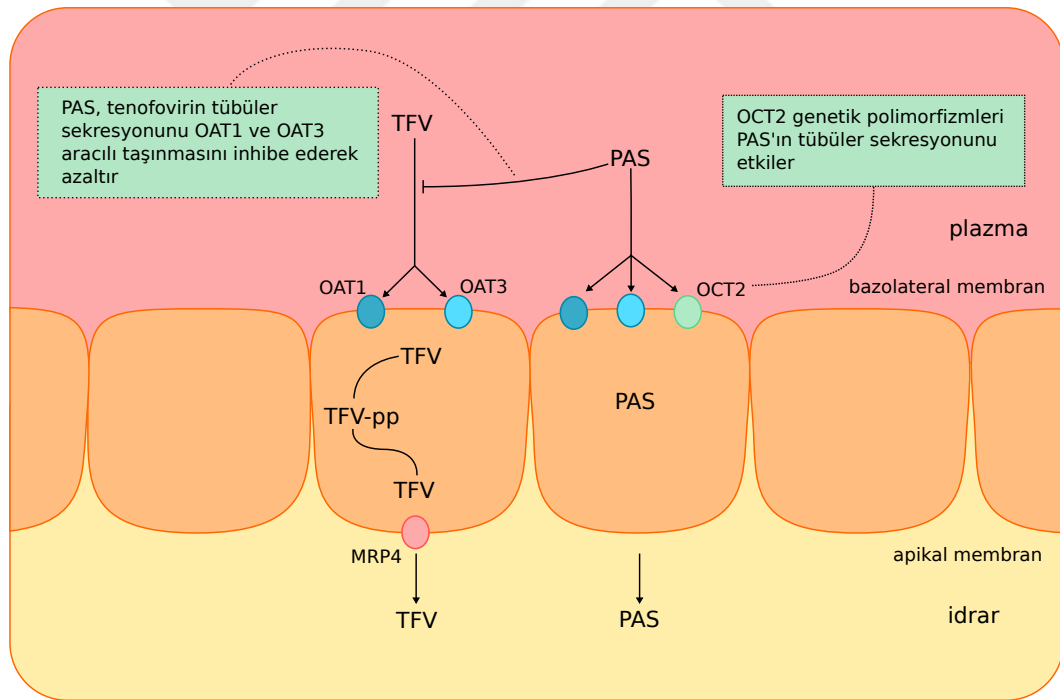
²Yaygın ilaç dirençli TB, (XDR-TB): MDR-TB hastalığının nadir bir formudur. MDR-TB'nin şartlarına ek olarak her hangi bir florokinolona ve ikinci-sıra injektabl ilaçlardan (amikasin, kanamisin ve kapreomisin gibi) en az birine direnç gelişmesidir. Ayrıntılar için bkz. s. 11

³Klinikte kullanılan ilaçlara yönelik her hangi bir kurum tarafından belirlenmiş ilaç-ilac etkileşimi sınır değeri bulunmamaktadır.

azalacaktır.

PAS'ın organik katyon taşıyıcı proteini (OCT) 1 ve 2 tarafından taşındığı *in vitro* deneylerde gösterilmiştir (13). OCT1 çoğunlukla karaciğerde bulunurken OCT2 böbreklerde bulunur (14). *OCT2* genetik polimorfizmleri olan bireylerde metformin gibi ilaçların tübüler sekresyonunun azaldığı gösterilmiştir (15).

Bu çalışmada PAS tarafından *in vitro* ortamda gözlenmiş OAT1 ve OAT3 inhibisyonundan yola çıkarak ilk kez insanda, sağlıklı gönüllülerde *in vivo* koşullarda tenofovir ve PAS arasında ilaç-ilaç etkileşmesi incelenmiştir. Bu çalışmadaki hipoteze göre, PAS OAT1 ve OAT3 aracılığıyla oluşan tenofovir tübüler sekresyonunu azaltır ve plazma tenofovir düzeylerinin artırır (Şekil 1.1). Ayrıca OCT2 genetik polimorfizmlerinin PAS farmakokinetiği üzerine etkileri de araştırılmıştır.



Şekil 1.1: Hipotezin şematik görünümü. TFV=tenofovir, TFV-pf=tenofovir difosfat, PAS=*para*-aminosalisilik asit

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İlaç-İlaç Etkileşmeleri

İlaç ilaç etkileşmeleri ilaç tedavisinde karşılaşılan önemli bir sorundur. Ölümcül yan etkilere yol açabileceği gibi tedavi başarısını da etkileyebilir. Nadir durumlarda ise tedavi etkililiğini artırmak amacıyla tasarlanmış olarak kullanılabilir. İlaç ilaç etkileşmelerinde etkileyen ilaç fail (*perpetrator*) etkilenen ilaç ise mağdur (*victim*) olarak adlandırılır. Temel olarak farmakodinamik ve farmakokinetik ilaç etkileşmeleri olarak iki gruba ayrılır.

HIV enfeksiyonu tedavisinde ritonavirin proteaz inhibitörlerinin plazma konsantrasyonlarını artırmak için kullanılması, tasarlanmış kullanıma bir örnektir (16). Ritonavir, proteaz inhibitörlerinin CYP3A4 aracılı metabolizmasını baskılayarak ilacın biyoyararlanımının artması ve klerensinin azalması sonucunda proteaz inhibitörlerinin daha seyrek verilebilmesini sağlamıştır (16).

2.1.1. Farmakokinetik Etkileşmeler

Farmakokinetik etkileşme, bir ilacın farmakokinetik parametrelerini değiştirir. Bu etkileşme, farmakokinetiğin temel aşamaları olan absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve itrah aşamalarından birinde veya birkaçında oluşabilir. İlaç-ilaç etkileşme mekanizmalarından bazıları Tablo 2.1’de açıklanmıştır.

Mide pH’sı ilaçların çözünürlüğü ve emilimini etkileyebilir. İlaçlar, barsaktan iyi emilebilmek için öncelikle çözünmeli ve non-iyonize durumda olmalıdır. Asidik ilaçlar bazik ortamda, bazik ilaçlar ise asidik ortamda daha iyi çözünmektedir. Ancak aynı durum iyonize olan ilaç oranını da artırmakta ve bunun sonucunda ilacın pasif difüzyon aracılı emiliminde azalma olmaktadır. Örneğin proton pompa inhibitörleri 19 saate kadar mide pH’sini 5’in üzerinde tutabilir (18). Mide pH’sinin artması ise zayıf

Tablo 2.1: Farmakokinetik etkileşmelerin olası mekanizmaları (17)

Absorpsiyon
Mide pH'sinin değişmesi
Şelasyon oluşması
İlaçların birbirlerini adsorbe etmeleri
Mide boşalma hızının değişmesi
Barsak motilitesinin değişmesi
Barsaktaki aktif ve pasif taşınmanın değişmesi
Barsaktaki metabolize edici enzimlerin aktivitelerinin değişmesi
Enterohepatik sirkülasyonun etkilenmesi
Dağılım
Proteine bağlanmanın değişmesi
İyon tuzağı oluşması
Metabolizma
Enzim aktivitesinin değişmesi
Enzim ekspresyonunun değişmesi
İtrah
Glomerüler filtrasyon hızının değişmesi
Tübüler sekresyonun değişmesi
Tübüler reabsorpsiyonun değişmesi

bazık ilaçların absorpsiyonunda ve kan konsantrasyonlarında azalmalara yol açar (19).

Şelasyon, merkezi bir atomla ligandın birden fazla bağlanma noktaları ile birbirine bağlanması veya etkileşmesidir (20). Tedavide de bu etkileşmeden yararlanılabilir. Ca-EDTA kurşun zehirlenmesi tedavisinde kullanılır. Vücutta biriken kurşunla şelasyon gerçekleştirip idrar yoluyla kurşunun atılmasını sağlar (21). Şelasyonun kalp damar hastalıklarında da kullanılabileceğini önerilmektedir. Kalp damar hastalığı olan 1708 hastanın ortalama 55 ay takip edildiği bir çalışmada, EDTA kullanımının 55 yaş üstü diyabetik hastalarda mortalite ve morbiditeyi azalttığı gösterilmiştir (22). Ancak klinikte rutin kullanım için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Adsorpsiyon, bir maddenin başka bir maddenin yüzeyi ile etkileşmesi olarak tanımlanır. Tüberküloz tedavisinde kullanılan rifampin ile PAS arasındaki ilaç ilaç etkileşmesinin PAS'ta kullanılan bentonit adlı ekspiyan bir maddenin rifampini ad-

sorbe etmesi sonucu gerçekleştiği gösterilmiştir (23). Klinikte zehirlenmelerde sıklıkla kullanılan aktif kömür bir çok maddeyi adsorbe etme özelliğine sahiptir (24).

Gastrointestinal motilite, migren atağı sırasında yavaşlamakta ve buna bağlı olarak aspirin emilimi azalmaktadır. Metoklopramid bu etkiyi motiliteyi arttırarak tersine çevirir (25). Ancak metoklopramid ve aspirin etkileşmesi sağlıklı insanda gözlenmez (26). Bu durum hastaya bağlı özelliklerin ilaç ilaç etkileşmesini etkilemesine de bir örnektir. Aspirin asidik bir ilaçtır. Yukarıda da açıklandığı üzere midedeki asidik ortamda non iyonize (difüzyonu daha kolay), barsaktaki bazik ortamda ise iyonize (difüzyonu daha zor) durumda bulunur. Ancak aspirin göründüğü kadarıyla barsaktan daha iyi ve hızlı emilmektedir. Mide ve barsak karşılaştırıldığında midenin yüzey alanı 1 m² ve perfüzyon hızı 150 mL/dk, barsağın yüzey alanı 200 m² ve perfüzyon hızı 1 L/dk olarak hesaplanmıştır. Buna ek olarak barsak membranlarının geçirgenliği mideye göre daha fazladır. Morfin türevleri de mide boşalmasını yavaşlatarak ilaçların emilimini geciktirebilir (27).

Barsakta bulunan CYP3A enzimlerinin midazolam metabolizmasında önemli rolü olduğu gösterilmiştir (28). Midazolam ile klaritromisinin etkileşmesinde karaciğer-deki CYP3A enzimlerinin yanında barsaktaki CYP3A enzimlerinin de etkileşmede rolü bulunmuştur (29). Buna ek olarak bu iki çalışmada da barsaktaki enzim aktivitelerinin midazolamda gözlenen bireyler arası farmakokinetik farklılıklarda ciddi rolü olduğu tahmin edilmektedir (28, 29). Kendisi bir ilaç olmasa da greyfurt suyu da barsaktaki CYP3A enzimlerini inhibe ederek ilaçlarla etkileşmektedir (30). Bu inhibisyonun barsaktaki enzimlerle sınırlı olduğu karaciğer metabolizmasını etkilemediği gösterilmiştir. (31).

Bazı durumlarda ilaçlar aynı plazma proteini için yarışabilir. Örneğin fenitoin ve salisilat beraber verildiklerinde albümin için yarışırlar ve salisilat fenitoinin proteine bağlı fraksiyonunu azaltır (32). Bu durumda plazmadaki toplam ilaç konsantrasyonu düşer. Bunun sebebi serbest konsantrasyonun evre dokularla olan dengesinden dolayı proteinden serbestleşen ilacın evre dokulara dağılmasıdır.

Simvastatin CYP3A enzim alt ailesi tarafından metabolitlerine çevrilir (33). Ketokonazol CYP3A4 enzimini inhibe eden bir ilaçtır. Ketokonazol ve simvastatinin beraber verilmesi simvastatine bağlı rabdomiyoliz vakalarına yol açabilmektedir (34, 35).

Metabolik enzimlerin indüklenmesi; tedaviye yeterli yanıtın alınamamasına, toksik metabolitlerin birikmesine veya tedaviye direnç gelişmesine yol açabilir (36). Sağlıklı gönüllülerde rifampin, CYP3A enzimini 5 günlük kullanım sonucu indüklemekte ve risperidon eğri altındaki alan değerini ortalama ($\pm$ standart hata) 157,5 ($\pm$ 48,8)'den 42,6 ($\pm$ 7,8) ng·sa/L'ye düşürmüştür (37).

İlaçların böbrekten atılmalarında glomerüler filtrasyon, tübüler sekresyon ve tübüler reabsorpsiyon yolları kullanılır. Glomerüler filtrasyonu etkileyen faktörler; böbrek kan akımı ve plazma serbest ilaç düzeyidir. Dopamin kullanımı gibi kalp debisinin arttığı durumlarda glomerüler filtrasyon aracılı eliminasyon artar. Glomerüler filtrasyon birçok ilaç için ana eliminasyon yolağıdır. Glomerüler filtrasyonun tahmin edilmesinde kreatinin klerensi kullanılır. Bir ilacın renal klerensinin kreatinin klerensinden yüksek olması, ilacın tübüler sekresyona da uğradığının bir göstergesidir. Böbrek tübül hücrelerinde, aktif olarak lümene atılan ilaçlar ve tübül lümeninden geri emilen ilaçlar bulunmaktadır. Bu işlem taşıyıcı protein aracılı gerçekleştiğinden afinite önem kazanır ve ilaçlar arası bir yarışma olabilmektedir. Örneğin, *para*-aminohippürat, adefovirin renal tübül hücrelerindeki OAT1 aracılı taşınmasını sağlıklı insanlarda baskılar (38).

İlaçların renal atılımında diğer önemli bir konu iyon tuzağıdır. Yukarıda da bahsedildiği üzere ilaçların hücre zarından difüzyon yoluyla kolaylıkla geçebilmesi için non iyonize olması önemlidir. Asidik ilaçlar bazik ortamda, bazik ilaçlar da asidik ortamda iyonize durumdadırlar. Bu duruma iyon tuzağı denir. Çünkü ilaç iyonize duruma geçtiği için bulunduğu kompartmandan çıkamaz. İdrarın bikarbonat aracılığıyla bazikleştirilmesi asidik ilaçların (varfarin, salisilat, v.b.) tübül lümeninde hapsolmasına ve reabsorbe olamamalarına neden olur. İdrarın amonyum klorür aracılığıyla asidleştirilmesi de bazik ilaçların (amfetamin, fenitoin, v.b.) tübül lümeninde hapsolmasına neden olur (39).

2.1.2. Farmakodinamik Etkileşmeler

Farmakodinamik etkileşme, ilacın farmakolojik etkisinin normal plazma konsantrasyon aralığında değişmesidir. Bu aşamadaki bir etkileşim ilacın etkisini artırabilir veya azaltabilir. İlaçların beraber verildiklerinde ayrı ayrı gösterdikleri etkinin toplamını göstermesi aditif etki, toplam etkiden daha fazla etki göstermesi supra-aditif (potansiyasyon, sinerjizma) etki olarak adlandırılmaktadır. Bir ilacın başka bir ilacın etkililiğini farmakodinamik düzeyde azaltması antagonizma olarak adlandırılmaktadır.

Antagonizma farklı şekillerde oluşabilir. Bir ilacın başka bir ilacın etkisini farklı bir yolağı kullanarak azaltması fizyolojik antagonizma, aynı reseptör üzerinden etkisinin azaltılması farmakolojik antagonizma olarak adlandırılır. Farmakolojik antagonizma kompetitif veya non-kompetitif olarak gerçekleşebilir. Kompetitif antagonizmada ilacın medyan etkin doz (ED_{50}) değeri artar ve ancak efikasitesi (E_{maks}) değişmez. Başka bir deyişle ilacın aynı etkiyi göstermesi için daha yüksek dozda uygulanması gerekir. Non-kompetitif antagonizmada ise ilacın efikasitesi yani gösterebileceği maksimum etki azalır.

Antagonist, bir ilaç hedefine bağlanıp hiç bir yanıt oluşturmeyen maddedir. Dolayısıyla antagonizma ortamda agonist olmadan etki göstermez. Kompetitif antagonizmada agonistin konsantrasyonunun artması ile antagonistin etkileri azalırken, nonkompetitif antagonizmada bu durum söz konusu değildir. Parsiyel agonist ise tek başına normal agonistten daha az bir etki gösterir ancak ortamda agonist varlığında onun hedefe bağlanmasını azaltacağı için antagonist gibi davranır. İnvers agonist ise yapısal aktivitesi olan reseptörlerin bu bazal etkisini de inhibe eden ilaçlardır.

2.1.3. İlaç İlaç Etkileşmelerinin Önemi

İlaç ilaç etkileşmelerinin değerlendirilmesinde ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, hangi amaçla kullanıldıkları ve hastalarla ilgili özellikler büyük

önem taşır. Örneğin terapötik indeksi dar olan bir ilacın plazma konsantrasyonlarındaki değişim terapötik indeksi geniş olan bir ilaca göre daha önemlidir. Akut hastalığı tedavi için verilen ilacın T_{maks} değerindeki değişim önemli olabilirken kronik kullanılan bir ilaçta genellikle önemsizdir.

İlaç yan etkileri ve hastane başvurularıyla ilgili 13 çalışmanın incelendiği bir meta analizde, toplam hastane başvurularındaki ilaç-ilaç etkileşme oranı %1,1 olarak hesaplanmıştır. İlaç yan etkisi yakınması ile poliklinik başvurularında bu oran %22,2 olarak hesaplanmıştır (40).

2.2. Tüberküloz

Tüberküloz (TB) hastalığı, *Mycobacterium tuberculosis* kompleksinin neden olduğu bir enfeksiyondur. Bu komplekste *M. tuberculosis*'e ek olarak *M. bovis*, *M. caprae* gibi başka mikobakteri türleri de bulunmaktadır. Genellikle Akciğer tutulumu ile seyreder. Vakaların 3'te 1'inde diğer organ tutulumları da gözlenebilir. Hastalığın bulaşması akciğer tüberkülozu olan hastalardan yayılan damlacıkların havayolu ile iletilmesi aracılığıyla olur. *M. tuberculosis* basil yapısında bir mikroorganizmadır. Hücre duvarı kalın mikolik asit ve yağ asitlerinin sağladığı izolasyon sayesinde boyanmaya direnç gösterir, boyandığında da asit veya alkol uygulaması boyayı hücreden yıkayamaz. Bu özelliği sayesinde erken tanıda aside dirençli basil fenotipinin varlığı önemlidir. Bu kalın hücre duvarının tüberküloz tedavisinde bir çok ilacın hücre içine girmesine engel olarak tedaviyi kısıtlayıcı etkisi de bulunmaktadır. Dünya genelinde 1,7 milyar tüberküloz basili taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir. Bu kişilerin %5 - %15'i ömürlerinde bir kez tüberküloz hastalığı geçirmektedir (41). Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2017 yılında 201 ülkeden toplanan verilere dayanarak tüberküloz insidansı 10.400.000 olarak tahmin edilmektedir. Bu hastaların 600.000'inde çoklu ilaç dirençli tüberküloz veya rifampisine dirençli tüberküloz geliştiği düşünülmektedir. Yeni tanı alan tüberküloz hastalarının 1.000.000'unda HIV enfeksiyonunun da bulunduğu tahmin edilmektedir (41).

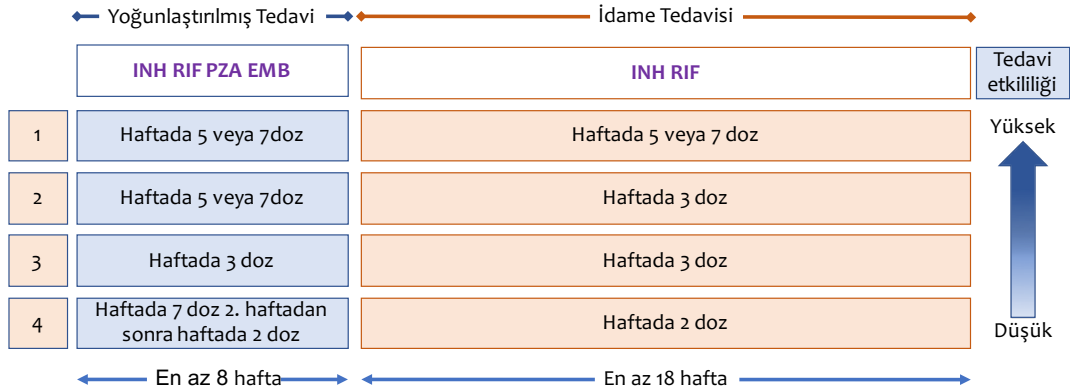
2.2.1. Tüberküloz Tanısı

ARB (Aside Resistan Basil) sürüntü mikroskopisi pulmoner tüberkülozdan şüphelenilen hastalara uygulanması tavsiye edilmektedir (42). Bu yöntem ucuz, basit ve saatler içerisinde sonuç verebilen bir yöntemdir. Hastadan alınan 3 farklı örnekte sürüntü mikroskopisi yapılması duyarlılık değerini %70'e kadar çıkarmaktadır (43). Örneklerin değerlendirilmesinde floresan mikroskop kullanmak sensitivite değerlerini %10 artırmaktadır (44). Tanıda altın standart hücre kültürüdür. Nükleik asit amplifikasyon testi (NAAT) de önerilen yöntemler arasındadır (45).

2.2.2. Tüberküloz Tedavisi

Tüberküloz tedavisinde önerilen tedavi protokolleri şekil 2.1'de özetlenmiştir (46). Şekilde belirtilen tedavi protokollerindeki tedavi etkililiği 1 numaralı protokolden 4 numaralı protokole doğru giderek azalmaktadır. Özellikle 3 ve 4 numaralı protokoller HIV(+) hastalarda önerilmemektedir. Aynı protokolde farklı iki alternatif dozlam şemasının bulunabilmesinin temel nedeni Doğrudan Gözlenen Tedavi (DGT, *Directly Observed Therapy - DOT*) yaklaşımının uygulanmasıdır.

TB hastalığının tedavi süresinin uzun olması ve advers olaylar hastaların tedaviye uyuncunda sorunlar oluşturabilmektedir. Tedaviye uyuncu takip etmek için DGT protokolü uygulanabilmektedir. Bu tedavi protokolü hastanın ilacı kullanımının bir sağlık kuruluşunda veya hastanın çevresindeki biri tarafından takip edilmesini içerir. Sağlık çalışanı tarafından takip edilen DGT'lerde hastanın bir sağlık kuruluşuna gelmesi gerekmekte ve bunun haftada 7 doz yerine 5 doz alınması gibi doz sıklığını sınırlayıcı bir etkisi bulunabilmektedir. Yapılan çalışmalar DGT ile uygulanan TB hastalığı tedavisinde hasta uyuncunun arttığını ve mikrobiyolojik başarısızlığın azaldığını ortaya koymaktadır. Ancak bu yöntemin sağladığı sınırlı olumlu etkinin karşılığı olarak artan tedavi maliyetinin ve harcanan emeğin karşılığının alınabildiği tartışma konusudur (47). Bu yöntemin bir diğer dezavantajı da bazı durumlarda fiziksel imkanların yetersizliğinden



Şekil 2.1: İlaça duyarlı tüberküloz hastalığı tedavisinde önerilen tedavi protokolleri.
INH=izoniyazid, RIF=rifampin, PZA=pirazinamid, EMB=etambutol

dolayı tedavinin her gün uygulanmasına olanak sağlayamamasıdır.

2.2.3. Tüberkülozda İlaç Direnci ve Advers Olaylar

Tüberkülozda ilaç direnci, hastalığın tedavi protokolünü ve prognozunu ciddi oranda etkiler. Tüberkülozda gözlenen ilaç direnci şekilleri tablo 2.3'te sıralanmıştır. Tablo 2.2'de dirençli tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaç grupları gösterilmektedir.

Yapılan bir meta analizde dirençli TB tedavisinde 1706 hastanın 208'inde (%12,2) PAS ile ilişkilendirilen ciddi advers olay gözlenmiştir (51). Bu oran aynı meta analizde incelenen ilaçlar arasında linezolidin (%14,7) ardından ikinci en yüksek ciddi advers olay görünme oranıdır. PAS kullanımına bağlı gözlenen ciddi advers olaylar gastroin-testinal sistem rahatsızlıkları ve hipotiroidi şeklinde olup ilacın kesilmesinin ardından kendiliğinden düzelme eğilimindedir (48). Ancak yazarların dikkat çektiği bir başka husus ise PAS tedavisi uygulanan hastaların görece genel durumlarının daha kötü olduğu, çocuk hasta oranlarının fazla olduğu, eşlik eden HIV enfeksiyonunun bulunması gibi advers olay sıklığını olumsuz yönde etkileyecek faktörlerin bulunmasıdır (48).

Tablo 2.2: Rifampisine dirençli veya çoklu ilaca dirençli tüberküloz tedavisi için önerilen ilaç grupları (48).

A Grubu; Florokinolonlar	Levofloksasin Moksifloksasin Gatifloksisin
B Grubu; İkinci sıra enjektebl ilaçlar	Amikasin Kapreomisin Kanamisin Streptomisin ¹
C Grubu; Diğer temel ikinci sıra ilaçlar	Etionamid / protionamid Sikloserin / terizidon Linezolid Klofazimin
D Grubu; Ek ilaçlar	D1 Pirazinamid Etambutol Yüksek doz izoniyazid
	D2 Bedakilin Delamanid
	D3 <i>para</i> -Aminosalisilik asit İmipenem-silastatin Meropenem Amoksisilin-kluvanat Tioasetazon ²

¹ İkinci sıra enjektebl ilaçlardan yalnız streptomisine direnç gelişmesi XDR-TB tanısı için yeterli değildir (49).

² Tioasetazon tedavisi uygulanmadan önce hastanın HIV(-) olduğundan emin olunması gerekmektedir.

Tablo 2.3: Tüberküloz tedavisinde gözlenen ilaç direnci sınıflamaları (50).

Tekli ilaç dirençli <i>Monoresistance</i>		İlk sıra ilaçlardan sadece birine direnç gelişmesi
Çoklu ilaç dirençli <i>Multidrug resistance</i>	MDR-TB	İzoniiazid ve rifampine direnç gelişmesi
Çoğul ilaç dirençli <i>Polydrug resistance</i>		İzoniiazid ve rifampin dışında birden fazla ilk sıra ilaca direnç gelişmesi
Yaygın ilaç dirençli <i>Extensive drug resistance</i>	XDR-TB	MDR-TB'ye ek olarak florokinolonlardan birine ve ikinci sıra enjektabl ilaçlardan birine direnç gelişmesi
Rifampisine dirençli <i>Rifampicin resistance</i>	RR-TB	Rifampisine direnç gelişmesi

2.3. HIV Enfeksiyonu

İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV , *Human Immunodeficiency Virus*), retrovirüs yapısında olup kronik persistan bir enfeksiyona yol açar. 2016 yılı verilerine göre HIV enfeksiyonunun prevalansı 36,7 milyon, insidansı 1,8 milyon olup HIV enfeksiyonuyla ilişkili olarak yılda 1 milyon kişinin yaşamını kaybettiği tahmin edilmektedir (52).

2.3.1. HIV Enfeksiyonu Tedavisi

HIV enfeksiyonu tedavisinde anti retroviral tedavi (ART) uygulanmaktadır. ART ile aşağıdaki tedavi amaçlarına ulaşılması hedeflenir (53):

- Maksimum düzeyde ve stabil olarak HIV RNA'sının baskılanması
- İmmünolojik fonksiyonların geri getirilmesi ve korunması
- HIV ile ilişkili morbiditelerin azaltılması ve kaliteli yaşam süresinin uzatılması
- HIV bulaşının engellenmesi

Tedaviye başlangıç son yıllara kadar üzerinde tartışma bulunan bir konuydu. Kılavuzlarda asemptomatik hastaların veya CD4+ sayısının 350 veya 500 hücre/mm³

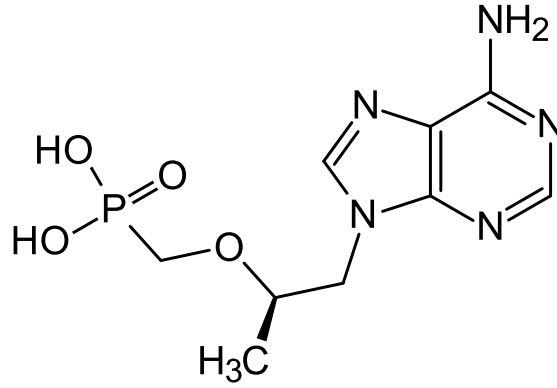
seviyesinin üzerindeki hastaların tedavisinin ertelenebileceği önerilmekteydi (54). Prospektif olarak 4685 hastanın ortalama 3 yıl (55) ve 2056 hastanın ortalama 2,3 yıl takip edildiği (56) iki çalışmada CD4 + hücre sayısı yüksek olup tedaviye başlanan hastalarda tedavisi ertelenenlere göre hastalığın daha iyi seyrettiği gösterilmiştir. Bunun sonucunda günümüzde ART'nin tanı konur konmaz başlanması gerektiği vurgulanmaktadır (53).

Hastanın tedaviye uyumu oldukça önemlidir. Hastanın bu konuda eğitilmesi ve tedavinin hastanın eşlik eden durumlarına göre optimize edilmesi ve tedavinin aksatılmamasının sağlanması gerekmektedir. Prospektif olarak 5472 hastanın ortalama 16 ay takip edildiği randomize bir çalışmada (kontrollü olarak) tedaviye ara verilmesinin; fırsatçı enfeksiyonlar ve ölüm riskini artırdığı, ilaç yan etki sıklığını ise değiştirmedeği gösterilmiştir (57).

HIV ile enfekte hastaların ilk tedavisi genel olarak iki nükleozid revers transkriptaz inhibitörü (NRTI) ve aşağıda belirtilen antivirallerden birinin kombinasyonu ile gerçekleştirilir (53).

- İntegraz zincir transfer inhibitörü (INSTI)
- Nükleozid olmayan revers transkriptaz inhibitörü (NNRTI)
- Proteaz inhibitörü (PI)

NRTI grubundan genellikle abakavir/lamivudin ve tenfovir/emtrisitabin kombinasyonları kullanılır. İlaç seçiminde genellikle tenfovir ve abakavir arasında bir tercih yapılır. Tenfovir, abakavirin aksine tedavisinde de kullanılır ve tedaviye başlanırken HLA-B*5701 testine ihtiyaç duyulmaz. Lamivudin ve emtrisitabin görece güvenli ilaçlardır ve kombinasyonlarda birbirlerinin yerine kullanılabilirler. Kombinasyonun üçüncü ilacı seçilirken hastanın eşlik eden durumu ve genetik direnç göz önünde bulundurulabilir. Çoğu hasta için INSTI grubu (raltegravir veya dolutegravir) bir ilacın tedaviye eklenmesi etkililik ve güvenlik açısından önerilmektedir (53).



Şekil 2.2: Tenofovirin molekül yapısı.

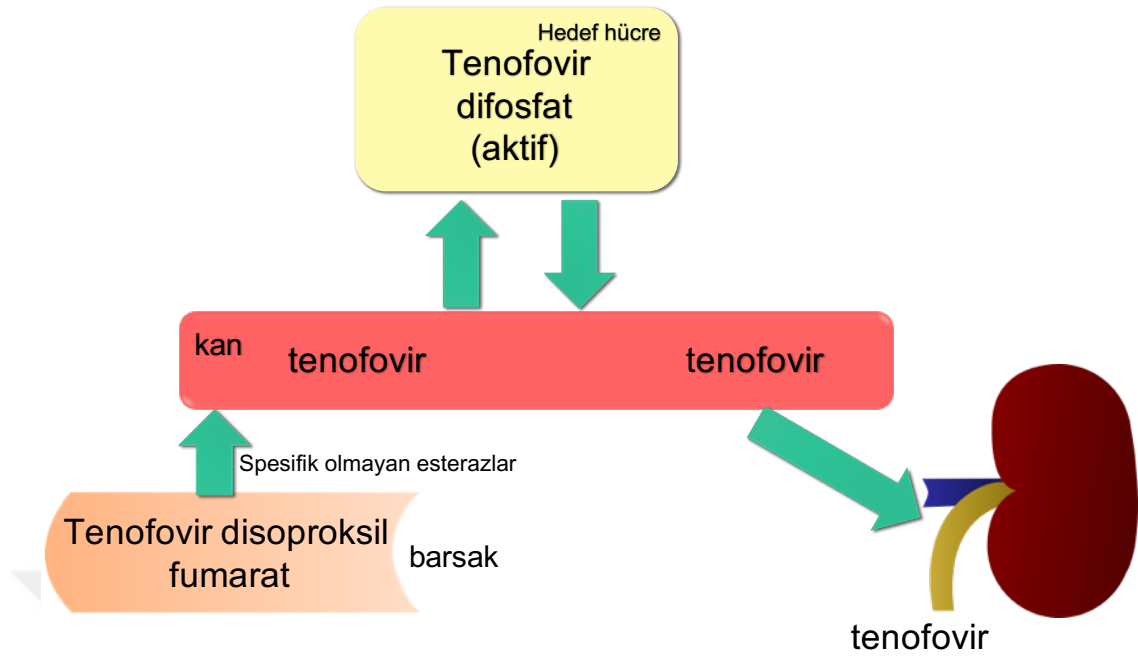
2.4. Tenofovir Farmakolojisi

Tenofovir nükleotid analogları grubundan bir anti-viral ilaçtır. HIV ve Hepatit B tedavisinde geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. 2015'te düşük ve orta gelirli ülkelerdeki 8,7 milyon HIV+ hastada (toplam hastaların %60'ı) tenofovir içeren tedavi protokolleri kullanmıştır. Buna ek olarak ABD ve Avrupa'da Hepatit B tedavisinde en sık kullanılan ilaçtır (58). Tenofovir, adenozin 5'-monofosfatın analogudur. Tenofovirin molekül yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

2.4.1. Tenofovir Farmakokinetiği

Tenofovir molekülünün kendisinin gastrointestinal sistemde absorpsiyonu istenen düzeyde olmadığı için ön ilaç biçimlerinde hazırlanmaktadır. Bunlar içinde en yaygın kullanılanı tenofovir disoproksil fumarat (TDF) biçimidir. TDF emildikten sonra spesifik olmayan esterazlar tarafından hızlıca tenofovire yıkılır (3). Tenofovir hücre içine geçtikten sonra tenofovir difosfata dönüştürülür (4) (Şekil 2.5). Tenofovir difosfat¹ (TFVpp) antiviral etkinlikten sorumludur (4). Tenofovirin büyük çoğunluğu böbreklerden değişmeden atılır. İtiraında hem glomerüler filtrasyon hem de tübüler sekresyon rol oynar. Tenofovirin tübüler sekresyonu temel olarak bazal membranda OAT1-OAT3 ve apikal membranda MRP4 taşıyıcısı aracılığıyla gerçekleştirilir (5). Tenofovir farmakokinetiği

¹Diğer nükleotid analogları gibi tenofovir molekülünde de bir fosfat vardır. Dolayısıyla tenofovir difosfat içinde toplam üç fosfat bulunur.



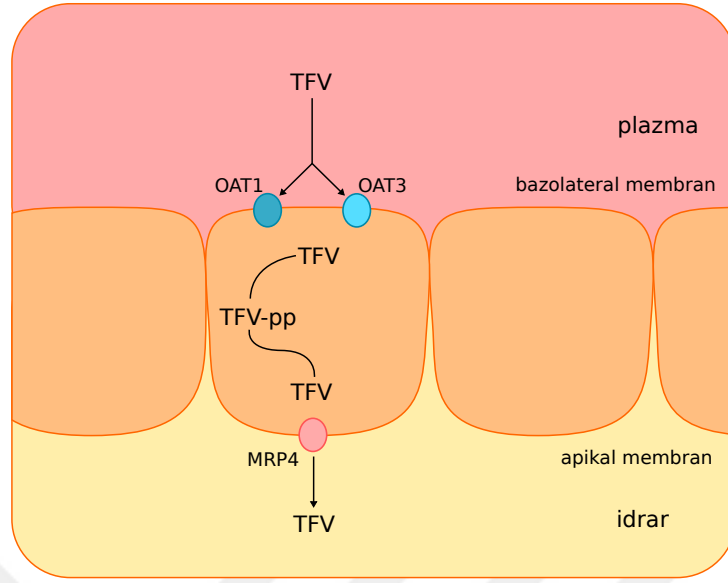
Şekil 2.3: Tenofovirin farmakokinetiğinin şematik gösterimi.

Şekil 2.3'te gösterilmiştir.

Tenofovir disoproksil fumarat piyasada kullanılan tenofovir preparatları içinde en yaygın kullanılan ön ilaç formudur. Bu ön ilacın farmakokinetik profili yukarıda açıklanmıştır. Başka bir tenofovir ön ilaç formu olan tenofovir alafenamit (TAF) 2015 FDA onayı alarak HIV tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır.

Tenofovir alafenamit, klasik tenofovir disoproksil fumarat kullanımına bağlı gelişen böbrek toksisitesinin önüne geçmek için tasarlanmış bir ilaçtır (59). Tenofovir alafenamit barsaklardan emildikten sonra plazmada büyük oranda değişmeden kalır. Aynı zamanda tedavi hedefi olan lenfoid hücrelerde birikir (60).

Bu birikmenin savunma hücrelerinde yoğunlukla bulunan ve tenofovir alafenamidin tenofovire dönüşümünü gerçekleştiren katepsin A enziminin rolü olduğu düşünülmektedir (61, 62). Bu da plazmadaki tenofovir düzeylerinin TDF uygulanan bireylere oranla oldukça düşük seyretmesine neden olur. HIV(+) hastalarda yapılan kısa süreli bir klinik çalışmada tenofovir alafenamit ile TDF formülasyonları karşılaştırıldığında erken dönemde daha az idrarda protein, albümin, retinol bağlayıcı protein gibi böbrek toksi-



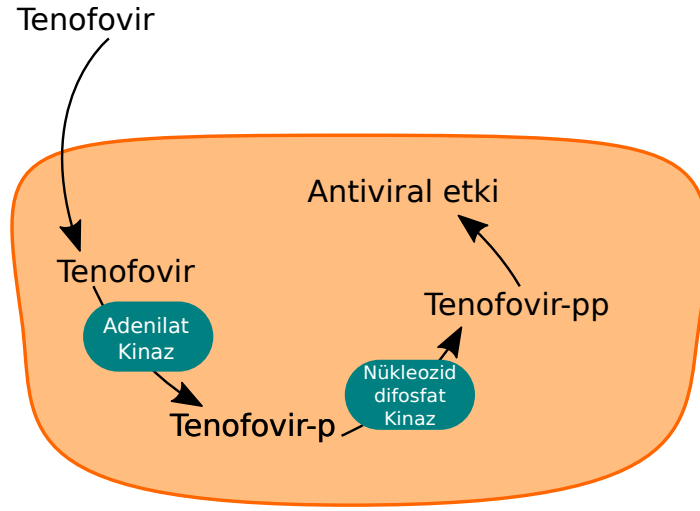
Şekil 2.4: Tenofovirin renal proksimal tübül hücreleri aracılığıyla taşıma mekanizması. Tenofovir-PP; tenofovir difosfat

sitesi belirteçleri gözlenmiştir (63). Ancak uzun dönem kullanımda böbrek toksisitesi üzerine etkileri veya tedavi etkililiği üzerine çalışmalar henüz tamamlanmamıştır.

Tenofovir disoprosil fumaratın tenofovire yıkımı barsak ve plazmada bulunan spesifik olmayan esterazlar tarafından gerçekleştirilir (64). TDF'den tenofovire dönüşüm dakikalar içinde gerçekleşir. Yapılan farmakokinetik çalışmalarda plazma örneklerinde hızlı dönüşümden dolayı ölçülebilir düzeyde TDF'ye rastlanılamamıştır (3). Tenofovir hedef hücrede adenilat kinaz ve nükleozid difosfat kinaz enzimleri aracılığıyla sırasıyla tenofovir monofosfata (TFVp) ve tenofovir difosfata (TFVpp) çevrilir 2.5. Tenofovir difosfat ilacın aktif halidir (4).

Tenofovir glomerüler filtrasyon ve aktif tübüler sekresyon ile başlıca böbrek yoluyla vücuttan uzaklaştırılır. Bazolateral yüzeyde OAT1 ve OAT3 aracılığıyla kandan tübül epiteline alınır, apikal yüzeyde ise MRP4 (5, 65) ve MRP7 (66) aracılığıyla tübül epitelinin idrara atılır (Şekil 2.4).

Tenofovire bağlı gelişen tübüler toksisite hücre içi tenofovir konsantrasyonuyla ilişkilidir (6–8). Bu bağlamda OAT1 ve OAT3 aktivitesinin azalması hücre içi teno-



Şekil 2.5: Tenofovirin hücre içinde tenofovir difosfata dönüşümü (3).

fovir birikmesini azaltacağından tenofovire bağlı tübüler toksisiteye karşı koruyucu rolü olabilir (6). MRP4 aktivitesinin azalması ise tenofovirin hücre içinde birikmesini arttıracığından tübüler toksisiteyi arttırıcı yönde etki gösterir.

Tenofovirin toksisitesi üzerine yapılan farmakokinetik çalışmalarda MPR2 (*ABCC2*) ve MRP7 (*ABCC10*) genetik polimorfizmlerinin tenofovir toksisitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (67). Ancak *in vitro* ortamda yapılan deneylerde MRP2'nin tenofovirin taşınmasında etkisinin olmadığı gösterilmiştir (65). Bu nedenle *MRP2* genetik polimorfizmlerinin bir bağlantı eşitsizliği (*linkage disequilibrium*) üzerinden veya indirekt bir yolla bu etkiyi oluşturduğu düşünülmektedir. *OAT1* geni silinmiş fareler tenofovir böbrek toksisitesine karşı korunurken *MRP4* geninin silinmesi tübüler toksisitenin artmasıyla ilişkili bulunmuştur (8).

2.4.2. Tenofovir Farmakodinamiği

Tenofovir, HIV ve Hepatit B enfeksiyonu tedavisinde kullanılan nükleotid analogları grubundan bir antiviraldir. Tenofovirin aktif formu olan tenofovir-di-fosfat (TFV-pp) DNA sentezi sırasında deoksiadenozin 5'-trifosfat ile yarışarak virüs transkripsiyonu sırasında DNA'ya entegre olur. Daha sonra revers transkriptaz enzimini bloke ederek

uzamayı engeller (3). Tenofovir, 2001 yılında HIV tedavisinde; devam eden yıllarda Hepatit B tedavisinde kullanılmak üzere onay almıştır.

2.4.3. Tenofovirin İlaç-İlaç Etkileşmeleri

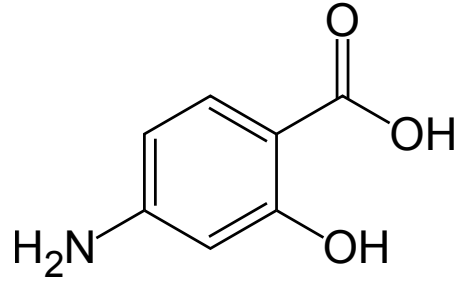
HIV (+) hastalar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada tenofovir, ritonavir ve aztanavirin C_{maks} ve EAA_{0-24} değerlerinde anlamlı olarak azaltmıştır. Geometrik ortalama oranları ve %90 güven aralıkları aztanavir için sırasıyla 0,72 (0,50-1,05) ve 0,75 (0,58-0,97); ritonavir için 0,72 (0,43-1,21) ve 0,75 (0,44-1,24) olarak hesaplanmıştır (68). Boscprevir 7 gün birlikte kullanıldığında tenofovir maksimum plazma konsantrasyonunu %32 artırmıştır (69). Darunavir, tenofovir C_{maks} ve EAA değerlerini sırasıyla %19 ve %23 artırmıştır (70).

Tenofovir ve didanozin arasındaki ilaç-ilaç etkileşmesinin ve bu ilaçların yemekle etkileşmesinin sağlıklı gönüllülerde incelendiği bir çalışmada. Tenofovir ve didanozin standart yemekle birlikte uygulandığında didanozinin C_{maks} ve EAA değerleri sırasıyla %64 ve %60 artmıştır. Tenofovir konsantrasyonları ise didanozinden etkilenmemiştir (71).

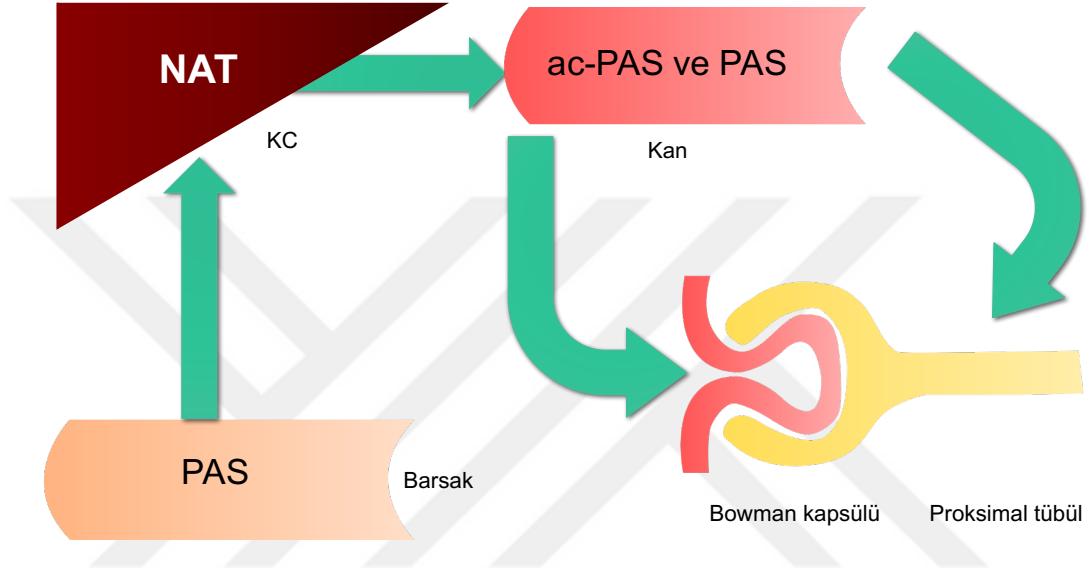
2.5. *para*-Aminosalisilik Asit Farmakolojisi

para-Aminosalisilik asit tüberkülozun kemoterapisinin ilk yıllarında yoğun olarak kullanılmış olan bir ilaçtı. Ancak yeni ilaçların piyasaya sürülmesi ve PAS'a bağlı gastrointestinal yan etkiler bu ilacın kullanımında azalmaya sebep olmuştur. PAS günümüzde MDR-TB ve XDR-TB tedavilerinde kullanılır. Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada 48 XDR-TB hastasından alınan örneklerin sadece 3 tanesinde PAS direnci gözlenmiştir (72). *para*-Aminosalisilik asidin molekül yapısı Şekil 2.6'da gösterilmiştir.

Son 70 yılda bir çok PAS formülasyonu üretilmiştir (9). Bu formülasyonlardaki en belirgin özellik PAS'ın bir tuzla kombine edilip edilmediğidir. PAS tuzları da diyebileceğimiz bu grup diğer formülasyonlara göre daha farklı bir farmakokinetik profil



Şekil 2.6: *para*-Aminosalisilik asidin molekül yapısı.



Şekil 2.7: *para*-Aminosalisilik asidin farmakokinetiği.

göstermektedir. PAS tuzları normal PAS'a göre barsaktan daha hızlı emilirler (73). Bunun sonucunda T_{maks} değeri azalırken ve C_{maks} değeri artar (73–75). Hızlı emilim kısa süre içinde yüksek miktarda PAS'ın NAT enzimlerine sunulmasına ve enzim kapasitesinin doyurulmasına ve uygulanan PAS'ın bir kısmının doyurulmuş NAT enzimi sayesinde ilk geçiş etkisine maruz kalmadan kana geçişine olanak sağlar.

PAS ilk kullanılmaya başlandığı dönemlerde 12 grama varan dozlarda kullanılmaktaydı (76). Bazı durumlarda ise günde toplam 20 g'ye ulaşan dozlar uygulanmaktaydı (77). Lehmann ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 4, 8 ve 12 g PAS uygulanan hastaların idrar örneklerinde biyoaktif PAS, 4 g uygulanan hastalarda %17, 8 g uygulananlarda %28 ve 12 g uygulanan hastalarda %44 olarak bulunmuştur. Bu oranlardaki ciddi değişim sınırlı NAT enzim kapasitesiyle açıklanmıştır (78). Dikkat edilirse PAS diğer ilaçlara kıyasla çok yüksek dozlarda uygulanmaktadır. Bu da NAT kapasitesini doyura-

bilme potansiyeline imkan tanımakta ve 12 g dozunda uygulanan PAS'ın 4 g dozunda uygulanan PAS'dan daha az ilk geçiş etkisine uğramasıyla sonuçlanmaktadır. PAS'ın ilk kullanıldığı yıllarda kendi anti-tüberküloz etkisinin yanında NAT enzimini doyurucu etkisi izoniyazid plazma seviyeleri yeterli olmayan hastalarda izoniyazidin NAT tarafından metabolizmasını baskılayarak plazmada istenen izoniyazid konsantrasyonlarını sağlamak amacıyla da kullanılmaktaydı (79, 80).

Günümüzde bazı ülkelerde mide asidine dayanıklı (GR, *GastroResistant*) kaplamalı farmasötik şekillerde PAS ürünleri (PAS-GR) kullanılmaktadır. İlacın böyle tasarlanmasında iki ana neden bulunmaktadır. Bunlardan ilki PAS'ın hızlı emilmesinin gastrointestinal advers etkileri arttırdığını destekleyen çalışmaların bulunmasıdır (81). İkincisi ise PAS molekülünün asidik ortamda *meta*-aminofenol adlı bir maddeye dönüşmesidir. *meta*-Aminofenol toksik bir madde olarak sınıflandırılmıştır. İnsandaki gastrointestinal sistem etkileri ile ilişkili bir çalışma yapılamamış olsa da *meta*-aminofenolün gastrointestinal sistemi irrite ettiği düşünülmektedir (9). Bu sebeple mide asidine dayanıklı kaplama uygulanarak ilacın mide asitlerine maruz kalmasının önüne geçilmiştir (81). Yapılan çalışmalarda PAS-GR kullanan tüberküloz hastalarda gastrointestinal ve hipersensitivite tipi yan etkilerin klasik PAS-tuzları ile tedavi edilmiş tüberküloz hastalarına göre daha az gözlendiği belirtilmiştir (81).

2.5.1. *para*-Aminosalisilik Asit Farmakokinetiği

para-Aminosalisilik asit gastrointestinal sistemden emildikten sonra büyük oranda NAT enzimi tarafından asetil-PAS (as-PAS) metabolitine dönüştürülür (10). Glisinle konjugasyon ile de metabolize olduğu gösterilmiştir. Glisin ile konjugasyon sonucu glisin-PAS oluşur (82). Yüksek PAS uygulanması NAT aracılı metabolizmanın doyurulmasını ve PAS'ın glisin ile konjugasyona daha çok yönelmesine neden olur (9, 78). Plazma proteinlerine bağlanma oranı %50-60 olarak ölçülmüştür (83). PAS ve as-PAS başlıca glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon yoluyla vücuttan atılır (10).

2.5.2. *para*-Aminosalisilik Asit Farmakodinamiği

PAS'ın etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (84). 2013 yılında önerilen bir mekanizmaya göre PAS tetrahidrofolat biyosentezindeki dihidropteroat sentaz enzimine *para*-aminobenzoik asit ile yarışarak bağlanır. Bunun sonucunda oluşan hidroksi dihidrofolat, dihidrofolat redüktaz enzimini baskılar. Bundan dolayı PAS'ın kendisinin değil hücre içinde folat biyosentezindeki hidroksi dihidrofolat aracılığıyla etki göstermesinden dolayı bir ön ilaç olduğu öne sürülmüştür (84).

2.6. OAT1 ve OAT3 Taşıyıcı Proteinleri

Organik anyon taşıyıcıları insan vücudunda çoğunlukla böbrek proksimal tübül hücrelerinin bazolateral kısmında bulunan bir içe alım (*influx*) taşıyıcısıdır. Bu taşıyıcı proteinler bir çok endojen ve ekzojen maddenin hücre zarından taşınmasında görev alır. Sadece anyonik maddelerin değil nötr veya katyonik maddelerin taşınmasında da rol oynayabilmektedir (14, 85, 86). OAT1 taşıyıcı proteini *SLC22A6* geni tarafından, OAT3 taşıyıcı proteini ise *SLC22A8* geni tarafından kodlanır.

OAT taşıyıcı proteinleri üçlü aktif taşıma sistemiyle çalışır. Şekil 2.8'de de özetlendiği gibi ilk olarak Na^+/K^+ ATPaz taşıyıcı proteini aracılığıyla hücre içi ve hücre dışı arasında Na^+ iyon gradienti oluşturulur. Bu gradientten yararlanarak $\text{Na}^+/\text{Dikarboksilat}$ taşıyıcı proteini (NaDC3) ile Na^+ ve α -ketoglutarat (α -KG) hücre içine taşınır. Son olarak OAT taşıyıcı proteini içeri taşıyacağı substratı ile α -ketoglutaratı karşılıklı olarak taşır (88).

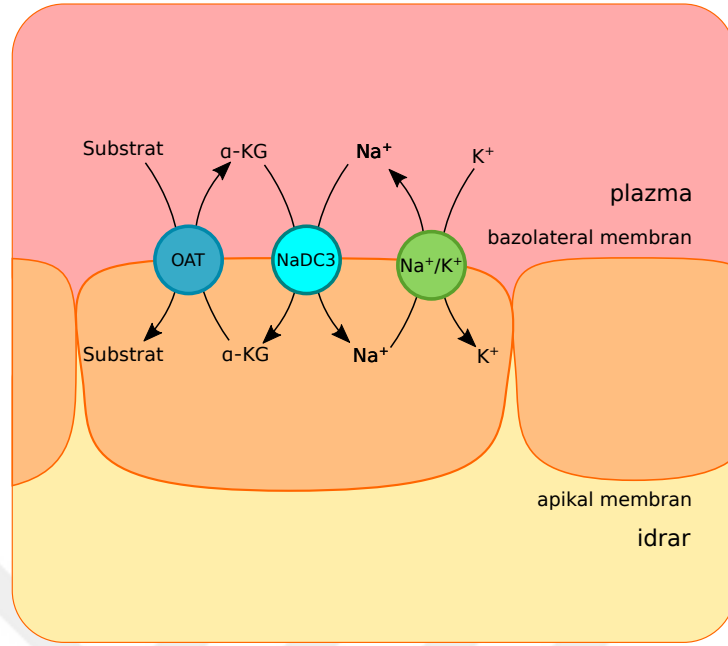
Literatürde bildirilen başlıca OAT1 ve OAT3 substratları Tablo 2.4'te verilmiştir.

20 OAT1 genetik polimorfizminin *in vitro* etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada R50H (149G>A; rs11568626) genetik polimorfizminin *in vitro* ortamda OAT1 taşıyıcısı için prob ilaç olarak kullanılan *para*-aminohippüratın taşınmasına etkisi olmazken adefovir, tenofovir ve sifedovir gibi antiviral ilaçların Km değerlerinde azalma gözlen-

Tablo 2.4: OAT1 ve OAT3 taşıyıcıların *in vitro* substratları.

Substrat	OAT1 Km (μ M)	OAT3 Km (μ M)	Kullanılan hücre tipi	Ref
Adefovır	23,8 $\pm$ 4,2	—	CHO ¹ hücreleri	(89)
Estron 3-sülfat	—	2,21 $\pm$ 0,27	S ₂ ² hücreleri	(90)
Kortizol	—	2,4 $\pm$ 0,6	NCI-H295R ³ hücreleri	(91)
Metotreksat	—	17,2 $\pm$ 3,6	<i>Xenopus laevis</i> oositleri	(92)
Olmesartan	0,07 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,03	HEK-293 ⁴ hücreleri	(93)
<i>para</i> -Aminohippürat	3,9 $\pm$ 1,3	—	<i>Xenopus laevis</i> oositleri	(94)
Pitavastatin	—	3,3 $\pm$ 1,1	<i>Xenopus laevis</i> oositleri	(95)
Pravastatin	—	27,7	S ₂ ² hücreleri	(96)
Prostoglandin E ₂	0,97 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,04	S ₂ ² hücreleri	(97)
Prostoglandin F _{2α}	0,58 $\pm$ 0,04	1,09 $\pm$ 0,08	S ₂ ² hücreleri	(97)
Rozuvastatin	—	7,4 $\pm$ 2,5	<i>Xenopus laevis</i> oositleri	(98)
Sidofovır	58,0 $\pm$ 5,7	—	CHO ¹ hücreleri	(99)
Tenofovır	33,8 $\pm$ 3,4	—	CHO ¹ hücreleri	(100)
Zidovudin	45,9 $\pm$ 5,98	145,1 $\pm$ 13,2	S ₂ ² hücreleri	(101)

¹ *Chinese Hamster Ovary*² Farelerin proksimal tübül S₂ segmentinden elde edilmiş hücre serisi³ İnsan adrenokortikal karsinomundan elde edilmiş bir hücre serisi.⁴ İnsan embriyonik böbrek hücre serisi



Şekil 2.8: OAT taşıyıcı proteinlerinin çalışma mekanizması (87)

miştir (102). Ancak bu polimorfizm oldukça nadir gözlenmektedir. Dünya genelinde sadece Afrikalı popülasyonda varyant allel %7 oranında gözlenmektedir (103). Diğer toplumlarda varyant allel frekansı sıfıra yakındır (103). Nefrektomi gerçekleştirilen böbrek kanseri hastalarında yapılan bir çalışmada OAT3 genetik polimorfizmleri arasında böbrek örneklerindeki mRNA seviyelerinin değişmediği gösterilmiştir (104).

OAT1 ve OAT3 taşıyıcı proteinlerinin tenofovire bağlı gelişen böbrek toksisitesindeki rolü ilgili bölümde (Bölüm: 2.4.1, s. 17) açıklanmıştır.

2.7. OCT2 Taşıyıcı Proteini

Organik katyon taşıyıcı proteini 2 (*organic cation transporter 2*, OCT2) insanda en çok böbrekte bulunan bir içe alım (*influx*) taşıyıcısıdır (14, 105).

OCT2 taşıyıcısı eksprese eden HEK-293 hücrelerinde yapılan bir çalışmada OCT2'nin PAS'ın hücresel içe alımına aracılık ettiği gösterilmiştir (13). Literatürde bildirilen başlıca OCT2 substratları Tablo 2.5'te özetlenmiştir.

OCT2 genetik polimorfizmlerinin taşıyıcı aktivitesinde değişime yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur. *Xenopus laevis* oositlerinde yapılan bir çalışmada c.808G>T (Ala270Ser, rs316019) genetik polimorfizmi tetrabütülamonyumun (TEA)1-metil-4-fenilpiridinum (MPP⁺) taşınması üzerindeki K_i değerini yaklaşık iki kat artırmıştır (106). Başka bir çalışmada c.808G>T, c.602C>T, c.596C>T genetik polimorfizmlerinde metforminin HEK293 hücrelerindeki taşınması azaldığı gösterilmiştir (15). İnsanda yapılan farmakokinetik çalışmalarda, OCT2 genetik polimorfizmlerinin ilaçların dispozisyonunu değiştirebildiği gösterilmiştir. Koreli sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada c.808G>T (rs316019), c.602C>T (rs145450955) ve c.596C>T (rs2019198874) varyantlarının metforminin böbrekteki eliminasyonunu tübüler sekresyon üzerinden azalttığı ve bunun sonucunda kan konsantrasyonlarını arttırdığı gözlenmiştir (15). Sisplatin tedavisi uygulanan hastalarda ise c.808G>T varyantının sisplatin farmakokinetiğini değiştirmese de sisplatine bağlı gelişen böbrek toksistesine karşı koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir (107, 108). Bu tez çalışmasında, ek bir hedef olarak PAS farmakokinetiğinin OCT2 genetik polimorfizmlerinden etkilenip etkilenmediği de araştırılmıştır.

Tablo 2.5: OCT2 taşıyıcısının *in vitro* substratları.

Substrat	OCT2 Km (μ M)	Kullanılan hücre tipi	Ref
Amantadin	27 ± 3	<i>Xenopus laevis</i> oositleri	(109)
Famotidin	$56,1 \pm 4,0$	HEK-293 ¹ hücreleri	(110)
Lamivudin	$46,3 \pm 13$	OCT2 eksprese eden oositler	(111)
Memantin	34 ± 5	<i>Xenopus laevis</i> oositleri	(109)
Metformin	1072 ± 305	MDCK ² hücreleri	(112)
PAS	$28,7 \pm 6,8$	HEK-293 ¹ hücreleri	(13)
Prostoglandin E ₂	$0,03 \pm 0,003$	S ₂ ³ hücreleri	(97)
Prostoglandin F _{2α}	$0,33 \pm 0,02$	S ₂ ³ hücreleri	(97)
Ranitidin	$65,2 \pm 8,1$	HEK-293 ¹ hücreleri	(110)
Sepantronium bromür	$2,67 \pm 0,19$	HEK-293 ¹ hücreleri	(113)
Simetidin	$72,6 \pm 13,9$	HEK-293 ¹ hücreleri	(110)
Vareniklin	370 ± 90	HEK-293 ¹ hücreleri	(114)

¹ İnsan embriyonik böbrek hücre serisi² *Madin-Darby Canine Kidney* hücre serisi³ Farelerin proksimal tübül S₂ segmentinden elde edilmiş hücre serisi

3. BİREYLER VE YÖNTEM

3.1. Klinik Çalışma Tasarımı

Bu çalışma İnje Üniversitesi Tıp Fakültesi (Pusan/ Kore Cumhuriyeti) Farmakogenomik Araştırma Merkezi ve Klinik Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilme ve hariç tutma kriterlerine uygun olarak belirlenen Koreli sağlıklı gönüllüler çalışmaya davet edildi. Dahil edilme ve hariç tutma kriterleri bölüm 3.2’de (s. 29) ayrıntılı olarak belirtilmektedir.

Çalışma Helsinki bildirgesine ve İyi Klinik Uygulamalara uygun olarak yürütüldü. Çalışma İnje Üniversitesi Etik Kurulu *Institutional Review Board* tarafından onaylandı (16-0138). Aydınlatılmış onam formu tüm katılımcılar tarafından imzalandı. Çalışma *ClinicalTrials.gov* sitesine kaydedildi (NCT03070405).

Çalışma açık-etiketli, randomize, iki dizi, iki periyotlu çapraz geçişli bir çalışma olarak tasarlandı. Çalışmaya 19-45 yaş aralığında 20 sağlıklı Koreli gönüllü dahil edildi. Çalışmadan önce tüm katılımcılara fizik muayene, EKG, rutin kan biyokimya, hemogram ve idrar analizleri uygulandı. Katılımcılardan bu testler sonucunda normal sınırlar dışında olan veya eşlik eden hastalığı bulunanlar çalışmadan çıkartıldı.

Katılımcılar randomize edilerek onar kişilik iki kola ayrıldı ve aşağıda belirtildiği gibi sıralandı. Randomizasyon, katılımcılar hakkında bilgisi olmayan ve çalışma ekibinde yer almayan bir biyoistatistik uzmanı tarafından yapıldı.

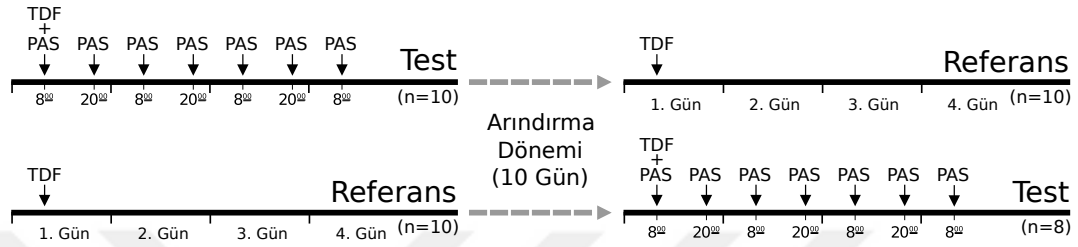
- Birinci kol: *Tenofovir* + *PAS* → Arındırma dönemi → *Tenofovir*;
- İkinci kol: *Tenofovir* → Arındırma dönemi → *Tenofovir* + *PAS*

Tenofovir ¹ ve PAS²’ın beraber uygulandığı grup, test; sadece tenofovir (300 mg, tek doz) uygulanan grup ise referans olarak adlandırıldı. Test grubunda tenofovir (300 mg, tek doz) ile *para*-aminosalisilik asit (2,64 g, 2x2, 7 doz) beraber uygulanırken,

¹VIREAD®, Gilead Sciences Inc., tenofovir disoproksil fumarat, 300 mg, tablet

²PAS kalsiyum granül, CMG, 2.64 g, saşe

referans grubunda sadece tenofovir (300 mg, tek doz) uygulaması yapıldı. Çalışmaya 20 sağlıklı gönüllü dahil edildi. İlk periyodu tüm katılımcılar tamamlarken, 2. periyota 2 katılımcı kişisel programlarına uymamasını gerekçe göstererek çalışmaya katılmadı. Çapraz geçişli bir çalışma olduğundan bu iki katılımcının verileri analizde kullanılmadı. 18 katılımcı çalışmanın tamamına katıldı. Çalışma tasarımı Şekil 3.1’de belirtilmektedir.



Şekil 3.1: Klinik çalışma tasarımı

Katılımcılar İnje Üniversitesi Klinik Araştırma Merkezi'ne ilaç uygulanmasından bir gün önce yatırıldı. İlaç uygulama saatleri Şekil 3.1’de belirtilmektedir. Tüm katılımcılar ilk ilaç alımından önce geceyarısından itibaren aç bırakıldı. İlaçlar 200 mL su ile uygulandı. İlaç alımından sonra katılımcıların ağızları kontrol edilip ve ilaçların tam olarak yutulduğundan emin olundu. Katılımcıların ilaç alımından sonraki 2 saat içinde bir şey içmemesi ve ilk 4 saat içinde bir şey yememesi sağlandı. Katılımcılar her periyotta ilk ilaç uygulamasından itibaren 24 saat boyunca araştırma merkezinde tutuldu. 24 saatten sonraki kan örnekleri araştırma merkezinin ayaktan hasta polikliniğinde alındı.

Örneklerin alım saatleri Tablo 3.1’de belirtilmektedir. Kan örnekleri (5-7 ml) heparin kaplı tüplere alındı. Örnekler, 2000g ve +4°C’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazma örnekleri toplandı ve analiz gününe kadar -80°C’de saklandı. 24 saatlik idrar örnekleri toplanılan gün içerisinde +4°C’de tutuldu gün sonunda -80°C’ye konuldu ve analiz gününe kadar -80°C’de saklandı.

Advers olaylar düzenleyici faaliyetler için tıp sözlüğü (*Medical Dictionary for Regulatory Activities*, MedDRA) yönergelerine göre sınıflandırılıp kaydedildi.

Tablo 3.1: Katılımcılardan tenofovir ve PAS analizi için ilaçların uygulanmasını takiben örnek alım saatleri

		Saatler
Tenofovir	Plazma	0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 84*
	İdrar	0-6, 6-12, 12-24
PAS	Plazma	0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12
	İdrar	0-6, 6-12

* PAS'ın tenofoviri eliminasyonunu inhibe edeceği öngörüldüğünden test grubuna 84. saat örneği eklenmiştir

3.2. Dahil Edilme ve Hariç Tutma Kriterleri

3.2.1. Dahil Edilme Kriterleri

1. Güney Koreli, 19-45 yaş arası, sağlıklı ve erkek gönüllüler
2. Yapılan incelemeler sonucunda konjenital veya kronik bir hastalığının bulunmaması.
3. Vücut kitle indeksinin¹ 18-25 kg/m² aralığında olunması
4. EKG, fizik muayene, tıbbi öykü ve laboratuvar testleri sonuçlarının incelenmesinden sonra araştırmacılar tarafından gönüllünün çalışmaya uygun olduğunun değerlendirilmesi
5. Çalışmanın tamamına katılınabilecek durumda olunması
6. Çalışmanın amacı, içeriği ve çalışma ilaçlarının genel özellikleri hakkında bilgi aldıktan sonra aydınlatılmış onam formunun imzalanılması

3.2.2. Hariç Tutma Kriterleri

1. Tıbbi Öykü
 - a. Katılımcıda; karaciğer, sindirim sistemi, solunum sistemi, kas-iskelet sistemi, endokrin sistem, nöropsikiyatrik sistem, hemato-onkolojik sistem, üriner ve kardiyovasküler sistem ile ilişkili ciddi bir hastalığının bulunması

¹Vücut Kitle İndeksi= Vücut Ağırlığı(kg) / (Boy(m))²

- b. Katılımcıdaki gastrointestinal hastalık veya durumun çalışma ilacının emilimini etkileme olasılığının olması

2. Laboratuvar ve EKG bulguları

- a. AST ve ALT düzeylerinin normal üst değerinin 1,5 katının üzerinde olması
- b. Total bilirubin düzeyinin normal üst değerinin 1,5 katının üzerinde olması
- c. Hesaplanmış kreatinin klerensi değerinin 60mL/dakikanın altında olması
- d. EKG’de klinik olarak anlamlı anormallik saptanması

3. Herhangi bir ilaca karşı alerji öyküsünün olması veya klinik olarak anlamlı alerji öyküsünün olması

4. İlaç ve besin kullanımı

- a. Çalışmaya başlamadan 2 hafta önceki dönemde reçeteli ilaç/bitkisel ilaç kullanımı veya 1 hafta önceki dönemde tezgah üstü ilaç/vitamin haplarının kullanılması
- b. Katılımcılar tarafından çalışma ilaçlarının farmakokinetiklerini etkileyecek diyet uygulanması
- c. Probenesid ve penisilin gibi OAT1 taşıyıcı proteinini fonksiyonlarını etkilediği bilinen ilaçların son iki hafta içinde kullanılmış olması

5. Kan bağıışı ve transfüzyon

- a. Son 60 gün içerisinde kan veya plazma bağıışında bulunmak veya klinik çalışma için kan vermek
- b. Son 30 gün içinde kan transfüzyonu yaptırmak

6. Diğer Dışlanma kriterleri

- a. Günde 30 g’dan fazla alkol almak
- b. Son 3 ay içerisinde sigara içmiş olmak veya çalışma süresince sigara içmeyi kesmemek
- c. Çalışma süresince alkol veya kafein içeren içeceklerin alımını kesemeyecek olmak
- d. Araştırmacı tarafından çalışmaya uygun olmadığı belirtilmek

3.3. LC/MS-MS Analizleri

Tenofovir ve *para*-aminosalisilik asit konsantrasyonları LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi - Ardışık Kütle Spektrometrisi) yöntemiyle analiz edildi. İlaçlar ve internal standartların analizinde pozitif iyon ve çoklu reaksiyon monitörleme yöntemi kullanıldı. Agilent 1200 serisi HPLC (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi) sistemi (Agilent, Wilmington, DE, ABD) Qtrap 5500 LC-MS/MS sistemine (AB-SCIEX, Toronto, Kanada) veya Agilent 6410 LC-MS/MS sistemine (Agilent, Wilmington, DE, ABD) bağlandı. Plazma tenofovir analizi Qtrap 5500 sistemiyle yapılırken diğer maddeler Agilent 6410 sistemiyle analiz edildi.

3.3.1. Plazma Tenofovir Düzeyinin Belirlenmesi

Plazma tenofovir analizinde Atlantis HILIC (150 x 2,1 mm, partikül çapı: 3 µm) kolonu, iç standart için adefovir kullanıldı. Kütle değişimleri tenofovir için m/z 288,1/176, adefovir için 274,1/162 olarak ölçüldü. Mobil faz olarak %0,1 formik asit içeren %10'luk asetonitril solüsyonu kullanıldı ve 0,25 mL/dakika hızında kolona gönderildi. 2 µg/mL konsantrasyondaki adefovir solüsyonundan 10 µL internal standart 50 µL plazma örneğine eklendi. Daha sonra 200 µL %0,5'lik triflüro asetik asit protein çöktürme için eklendi. Karışım vorteks cihazıyla karıştırıldıktan sonra 16100 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakadan 1 µL'lik örnek LC-MS/MS sistemine enjekte edildi. Validasyon sınırı 5-1000 ng/mL olarak belirlendi.

3.3.2. İdrar Tenofovir Düzeylerinin Belirlenmesi

İdrar tenofovir analizinde Atlantis HILIC (150 x 2,1 mm, partikül çapı: 3 µm) kolonu, iç standart olarak tenofovir-d₆ (tenofovir-döteryum) kullanıldı. Kütle değişimleri tenofovir için m/z 288,3/176, tenofovir-d₆ için 294,3/182,3 olarak ölçüldü. Mobil faz olarak %0,1 formik asit içeren %15'lik asetonitril solüsyonu kullanıldı ve 0,25 mL/dakika hızında kolona gönderildi. 10 µg/mL konsantrasyondaki tenofovir-d₆ solüsyonundan 10 µL internal standart 50 µL idrar örneğine eklendi. Daha sonra 100 µL %0,5'lik triflüro asetik asit karışıma eklendi. Karışım vorteks cihazıyla karıştırıldıktan sonra 16100 g'de

5 dakika santrifüj edildi. Üst tabakadan 5 µL'lik örnek LC-MS/MS sistemine enjekte edildi. Validasyon sınırı 1-100 µg/mL olarak belirlendi.

3.3.3. Plazma *para*-Aminosalisilik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma *para*-aminosalisilik asit analizinde Atlantis Luna C18 (100 x 2 mm, partikül çapı: 3 µm) kolonu (Phenomenex, Torrance, CA, ABD), iç standart için 5-aminosalisilik asit (5-ASA) kullanıldı. Kütle değişimleri PAS ve 5-ASA için m/z 154,1/136 olarak ölçüldü. Mobil faz olarak %0,1 formik asit içeren %40'lık asetronitril solüsyonu kullanıldı ve 0,2 mL/dakika hızında kolona gönderildi. PAS ve 5-ASA'nın pik zamanları sırasıyla 2,04 ve 1,16 dk. olarak gözlemlendi. 180 µL asetronitril içinde çözünmüş 0,1 µg/mL 5-ASA 20 µL'lik plazma örneklerine eklendi. Karışım vorteks cihazıyla karıştırıldıktan sonra 16100 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakadan 2 µL'lik örnek LC-MS/MS sistemine enjekte edildi. Validasyon sınırı 0,5-300 µg/mL olarak belirlendi.

3.3.4. İdrar *para*-Aminosalisilik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi

İdrar *para*-aminosalisilik asit analizinde Atlantis dC18 (150 x 2,1 mm, partikül çapı: 3µm) kolonu (Waters, Milford, MA, ABD), iç standart için moksifloksasin kullanıldı. Kütle değişimleri PAS için m/z 154,1/136, moksifloksasin için 402/384 olarak ölçüldü. Mobil faz olarak %0,1 formik asit içeren %20'lik asetronitril solüsyonu kullanıldı ve 0,2 mL/dakika hızında kolona gönderildi. 400 µL asetronitril içinde çözünmüş 1 µg/mL moksifloksasin 100 µL'lik idrar örneklerine eklendi. Karışım vorteks cihazıyla karıştırıldıktan sonra 16100 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst tabakadan 1 µL'lik örnek LC-MS/MS sistemine enjekte edildi. Validasyon sınırı 1-2000 µg/mL olarak belirlendi.

3.4. Organik Katyon Taşıyıcısı-2 Genotip Analizi

Organik Katyon Taşıyıcısı-2 (OCT2) genetik polimorfizmleri PCR - SNaPshot metodu kullanılarak analiz edildi. Analiz edilecek 3 genetik polimorfizmin ikisi ekzon 3'te (596C>T ve 602C>T) biri ekzon 4'te (808G>T) idi. OCT-2 ekzon 3 ve ekzon 4 için kullanılan primerler Tablo 3.3'te gösterilmiştir. İki ekzon da tek seferde multipleks PCR yöntemiyle çoğaltıldı. PCR için 30 µL toplam hacim içinde 1x PCR Buffer, 0,25 mM

Tablo 3.2: PCR koşulları

	Derece	Süre
İlk denatürasyon fazı	94°C	5 dakika
35 tur	94°C	30 saniye
	57°C	30 saniye
	72°C	30 saniye
Son uzama fazı	72°C	10 dakika

Tablo 3.3: OCT-2 geninin çoğaltılmasında kullanılan primerler (115).

Ekzon	Primer	Ürün
3	F: 5'-TCCATGCATTTTCCACAATC-3' R: 5'-TCTATTTTGGCAGCGAGGTT-3'	283bç
4	F: 5'-CTGATAGCTGGACAGCCAAC-3' R: 5'-TTAAGGAAGGCAGACTTCTT-3'	306bç

dNTP karışımı, primerlerin her birinden 0,16 μ M, 1,25 U d-Taq DNA polimeraz ve 100 ng DNA örneği içerikleri hazırlandı. Reaksiyon koşulları Tablo 3.2'de özetlenmiştir. PCR'den sonra örnekler 1 ünite ExoSAP-IT ile 37°C'de 30 dakika bekletilerek SNaPshot analizine hazır hale getirildi. SNaPshot analizi için Tablo 3.4'teki primerler kullanılmıştır. Uzatma reaksiyonu 96°C'de 10 saniye, 50°C'de 5 saniye ve 60°C'de 30 saniyeden oluşan 40 siklusa oluşturulmuştur. Uzatma reaksiyonu ürünlerine 37°C'de 30 dakika süreyle 1 ünite shrimp alkaline fosfataz uygulandı ve 1 μ L'lik ürüne 0,25 μ L GeneScan-120LIZ standartı ve 8,75 μ L Hi-Di formamid eklendi. Ürünler 95°C'de 5 dakika bekletilerek denatüre edildi. Sonuçlar ABI PRISM 3130 DNA Analizyer (Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) ve GeneMapper v3,7 programı ile analiz edildi.

3.5. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Farmakokinetik analiz kompartmansız analiz yöntemi kullanılarak Winnonlin® (NJ, ABD) programı ile yapıldı. EAA ve C_{maks} değerlerinin geometrik ortalamaları ve %90 güven aralığı (%90 CI) hesaplandı. Gruplar arası karşılaştırmada bu geometrik

Tablo 3.4: OCT-2 genetik polimorfizmlerinin SNaPshot analizinde kullanılan primerler

SNP	Ekzon	SNaPshot Primeri
596C>T	3	F(T0): 5'-CTCATGGCCATTTCCTCCAA-3'
602C>T	3	R(T19): 5'-T..TTGGATTAAGCGAAAAATTAACATCCAC-3'
808G>T	4	F(T3): 5'-TTTTGGAGGTGGTTGCAGTTCACAGTT-3'

ortalamaların oranları (GOO) hesaplandı. Geometrik ortalama oranları için 0,80 ve 1,25 değerleri etkisizlik sınırları (*no effect boundary*) olarak değerlendirildi (12). Yan etkilerin değerlendirilmesinde McNemar'ın testi kullanıldı (116).

4. BULGULAR

Çalışmaya 20 sağlıklı erkek gönüllü özne dahil edildi ve bunların 18'i çalışmanın tümünü tamamladı. İki gönüllü özne kişisel programları nedeniyle çalışmanın ikinci yarısına katılmadı. Katılımcılara ait demografik veriler Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1: Katılımcılara ait demografik veriler. (Ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir)

Özellik	
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	20/0
Yaş (yıl)	26,8 $\pm$ (2,9)
Boy (cm)	174,5 $\pm$ (4,6)
Ağırlık (kg)	70,6 $\pm$ (7,2)
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	23,2 $\pm$ (1,9)

4.1. Tenofovir Farmakokinetik Verileri

Çalışmayı tamamlayan 18 sağlıklı öznde, beraberinde PAS verilmesi (test grubu) referans (kontrol) grubuna göre tenofovir plazma konsantrasyonlarının önemli derecede azalmasına neden oldu (Şekil 4.1). Maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) değerleri kontrol grubunda $245,2 \pm 78,1$; test grubunda (PAS+tenofovir) $86,5 \pm 39,7$ ng/mL idi. Ortalama EAA oranları (EAA_{son}/EAA_{∞}) referans ve test gruplarında sırasıyla 0,89 ve 0,78 olarak hesaplandı.

Referans ve test gruplarının eğri altındaki alan (EAA) ve maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) değerlerinin geometrik ortalamaları ve geometrik ortalama oranı (GOO, *Geometric Mean Ratio*) ve %90 güven aralığı hesaplandı. Bu oranlar C_{maks} için (test/referans) 0,33 (0,28-0,38); EAA_{∞} için 0,29 (0,26-0,33) olarak hesaplandı. Başka bir deyişle C_{maks} ve EAA_{∞} değerleri test grubunda referans (kontrol) grubuna göre yaklaşık %70 azaldı.

Bireysel farmakokinetik eğriler incelendiğinde her katılımcının test fazındaki plazma tenofovir düzeylerinin referans fazındakine oranla anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. Çalışmayı tamamlayan 18 katılımcının bireysel farmakokinetik eğrileri Şekil

Tablo 4.2: Tenofovir için hesaplanan farmakokinetik parametreler. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir (n=18).

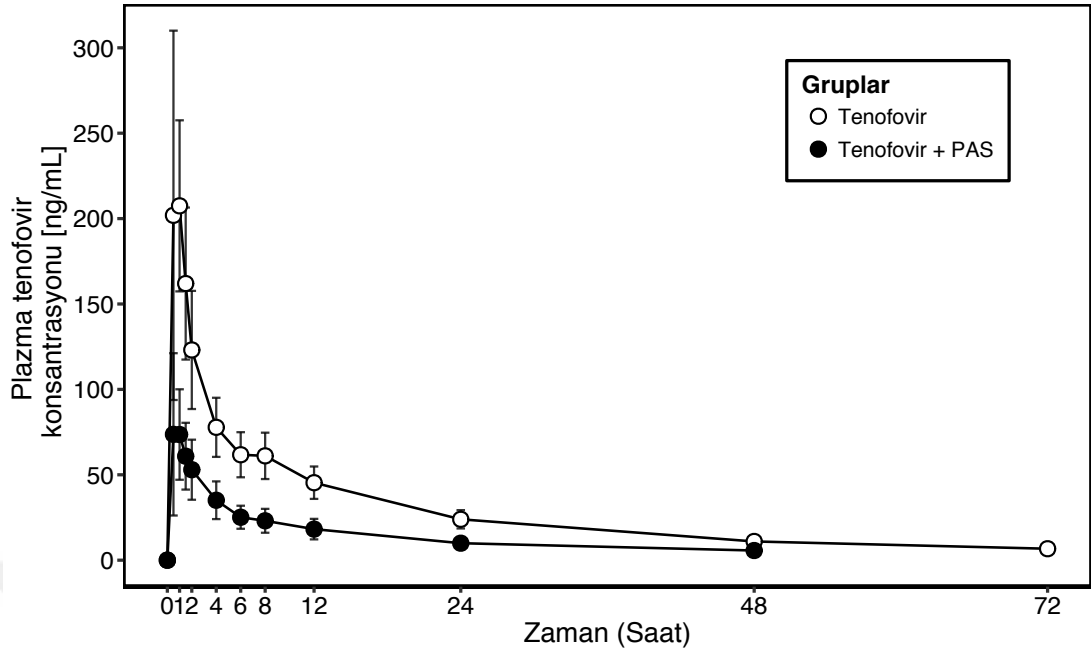
	Referans	Test	GOO ¹ (Test/Referans)	%90 GA
C _{maks}	245,1 $\pm$ 78,2	86,5 $\pm$ 39,7	0,33	0,28 - 0,38
EAA _∞	2205,9 $\pm$ 426,0	789,3 $\pm$ 253,2	0,29	0,26 - 0,33
EAA _{son}	1976,6 $\pm$ 424,5	612,6 $\pm$ 234,7		
t _{maks} ²	0,75 (0,50-1,50)	0,75 (0,50-1,50)		
t _{1/2}	18,7 $\pm$ 3,4	14,8 $\pm$ 3,3		
KL/F	141,6 $\pm$ 31,6	418,1 $\pm$ 131,0		
V _d /F	6,4 $\pm$ 1,9	23,6 $\pm$ 9,5		
KL _{renal}	14,7 $\pm$ 3,7	13,2 $\pm$ 2,8		
KL _{sekretuar} ³	7,9 $\pm$ 2,6	7,0 $\pm$ 1,7		
A _e ⁴	20,9 $\pm$ 5,6	7,4 $\pm$ 2,6		

¹ Geometrik ortalama oranları. FDA, farmakokinetik parametreleri karşılaştırırken istatistiksel yöntemler değil geometrik ortalamaların oranlanmasını önermektedir (12). Bu sebeple p değerleri hesaplanmamıştır.

² Ortanca ve aralık değerleri verilmiştir.

³ Sekretuar klerens toplam renal tenofovir klerensinden idrar kreatinin konsantrasyonları ile ölçülen kreatinin klerensinden çıkarılmasıyla hesaplanmıştır

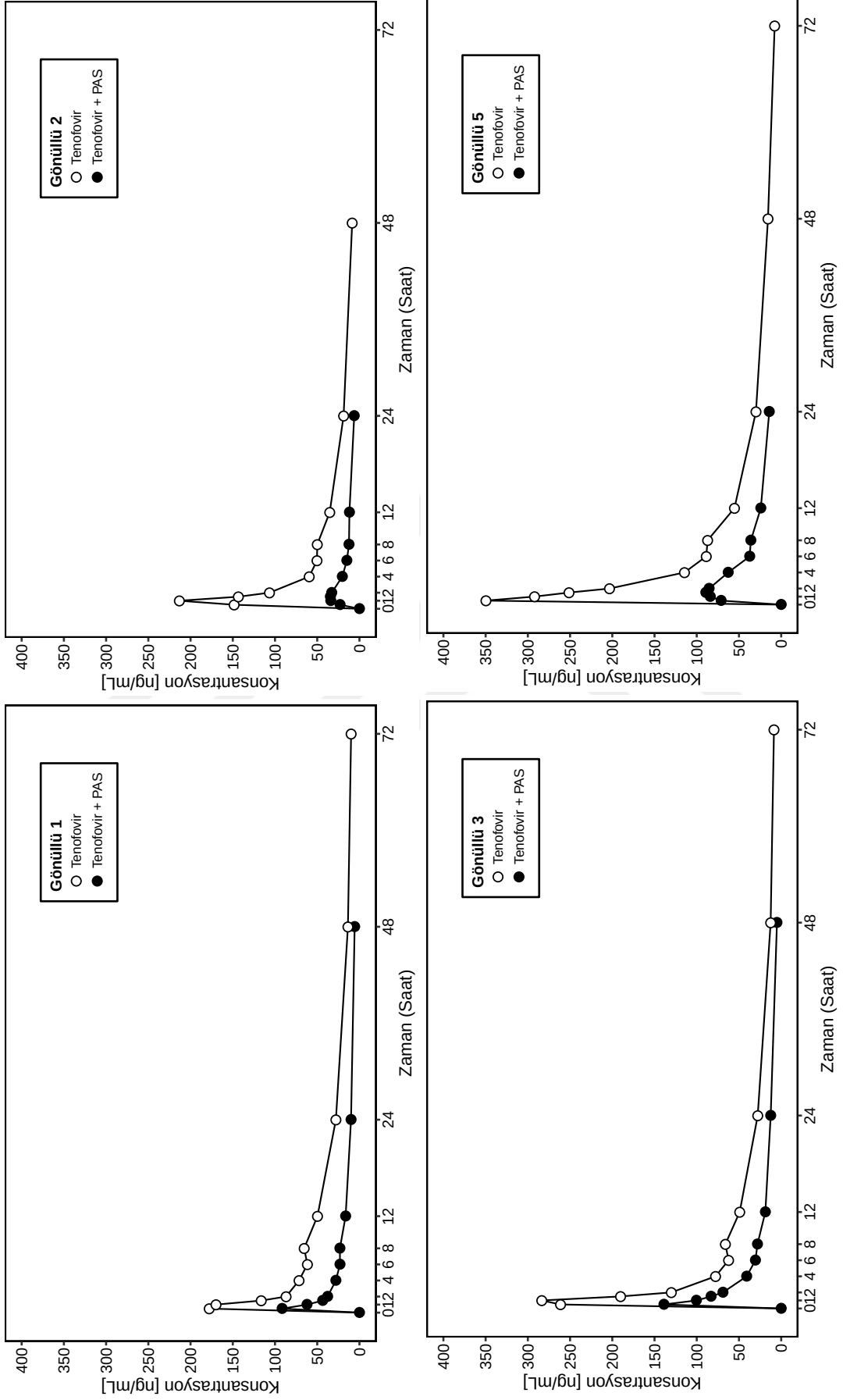
⁴ 24 saatlik idrarda atılan toplam tenofovir miktarı



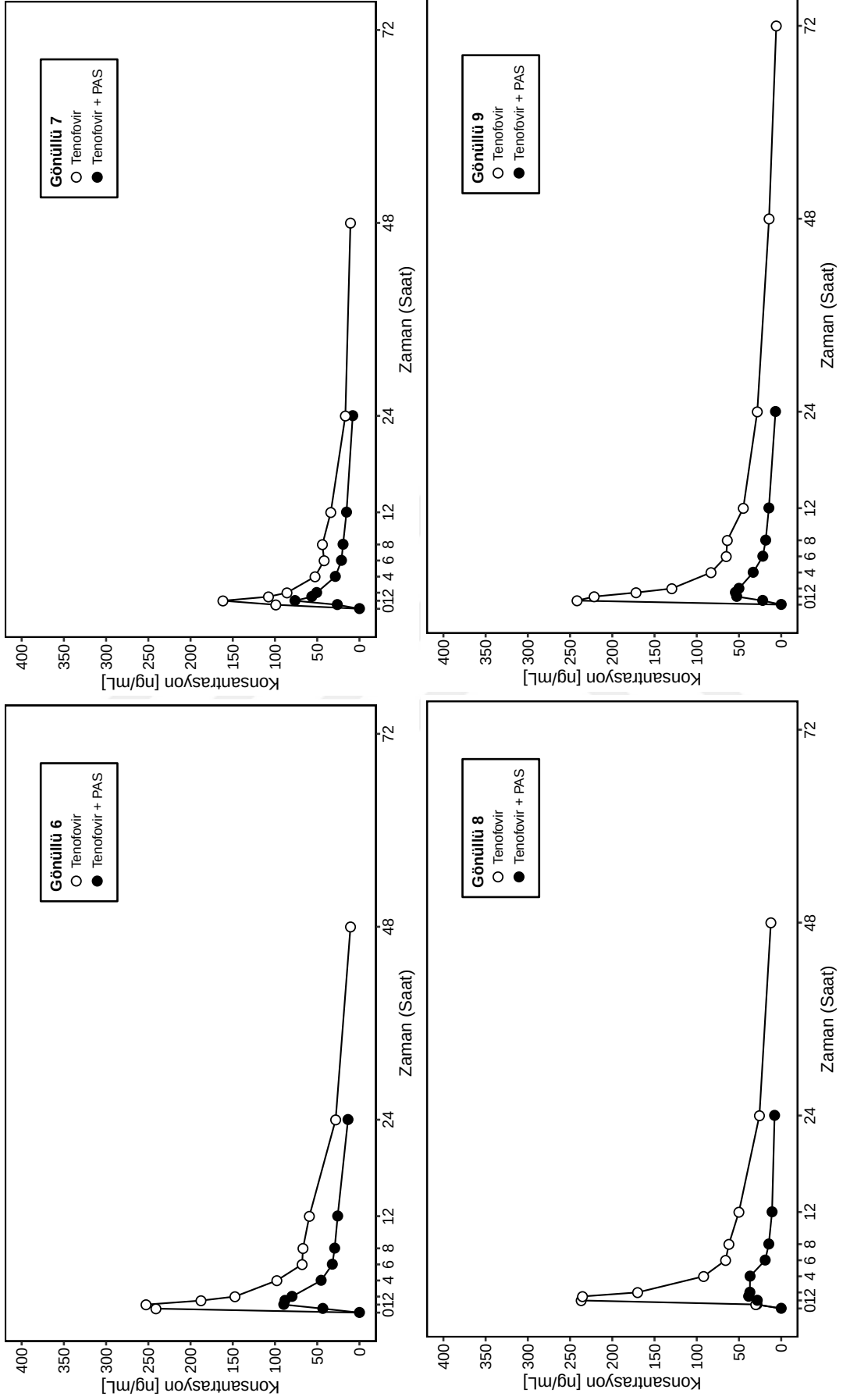
Şekil 4.1: Plazma tenofovir konsantrasyonlarının gruplar arasındaki karşılaştırılması. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=18).

4.2a-e'de gösterilmektedir.

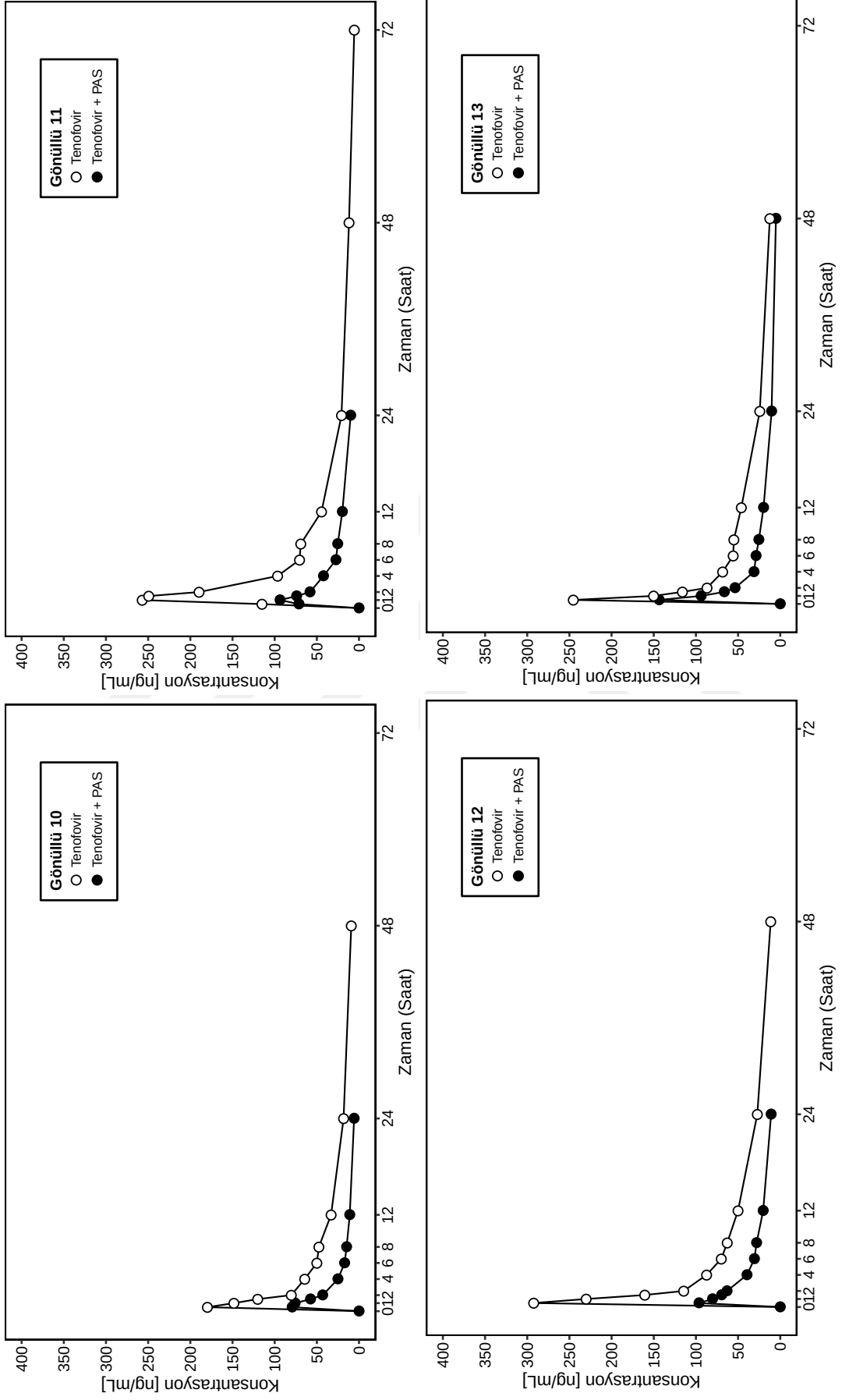
Yirmi dört saatlik tenofovir idrar konsantrasyonların ölçümüyle hesaplanan toplam renal klerens, referans grubunda $14,7 (\pm 3,7)$ L/sa; test grubunda ise $13,2 (\pm 2,8)$ L/sa idi ve anlamlı fark yoktu (GOO= 0,91, Şekil 4.3). Tenofovirin renal sekretuar klerensi, referans grubunda $7,9 (\pm 2,6)$; test grubunda $7,0 (\pm 1,7)$ L/sa olarak hesaplandı (GOO= 0,91, Şekil 4.4). İlk 6 saatte toplanan idrarla hesaplanan tenofovir renal klerensi, referans grubunda $13,7 (\pm 4,1)$; test grubunda $11,9 (\pm 2,9)$ L/sa olarak hesaplandı ve anlamlı bir farklılık gözlenmedi (GOO=0,88). İlk 12 saat klerens değerlerinde de anlamlı bir farklılık gözlenmedi (GOO=0,92). Tenofovir renal klirenslerinin farklı zaman dilimindeki değerleri birey bazında (Şekil 4.6) ve grup olarak (Şekil 4.5) gösterilmiştir. Plazmada tenofovir eliminasyon yarılanma ömrü, referans grubunda ortalama $18,7 \pm 3,4$ saat, test grubunda $14,8 \pm 3,3$ saat olarak hesaplandı. Tenofovir sanal dağılım hacminin biyoyararlanıma oranı (Vd/F) referans grubunda $6,4 \pm 1,9$ litre; test grubunda ise $23,6 \pm 9,5$ litre olarak hesaplandı. Tenofovir plazma farmakokinetik verileri Tablo 4.2'de ayrıntılı olarak sunulmaktadır.



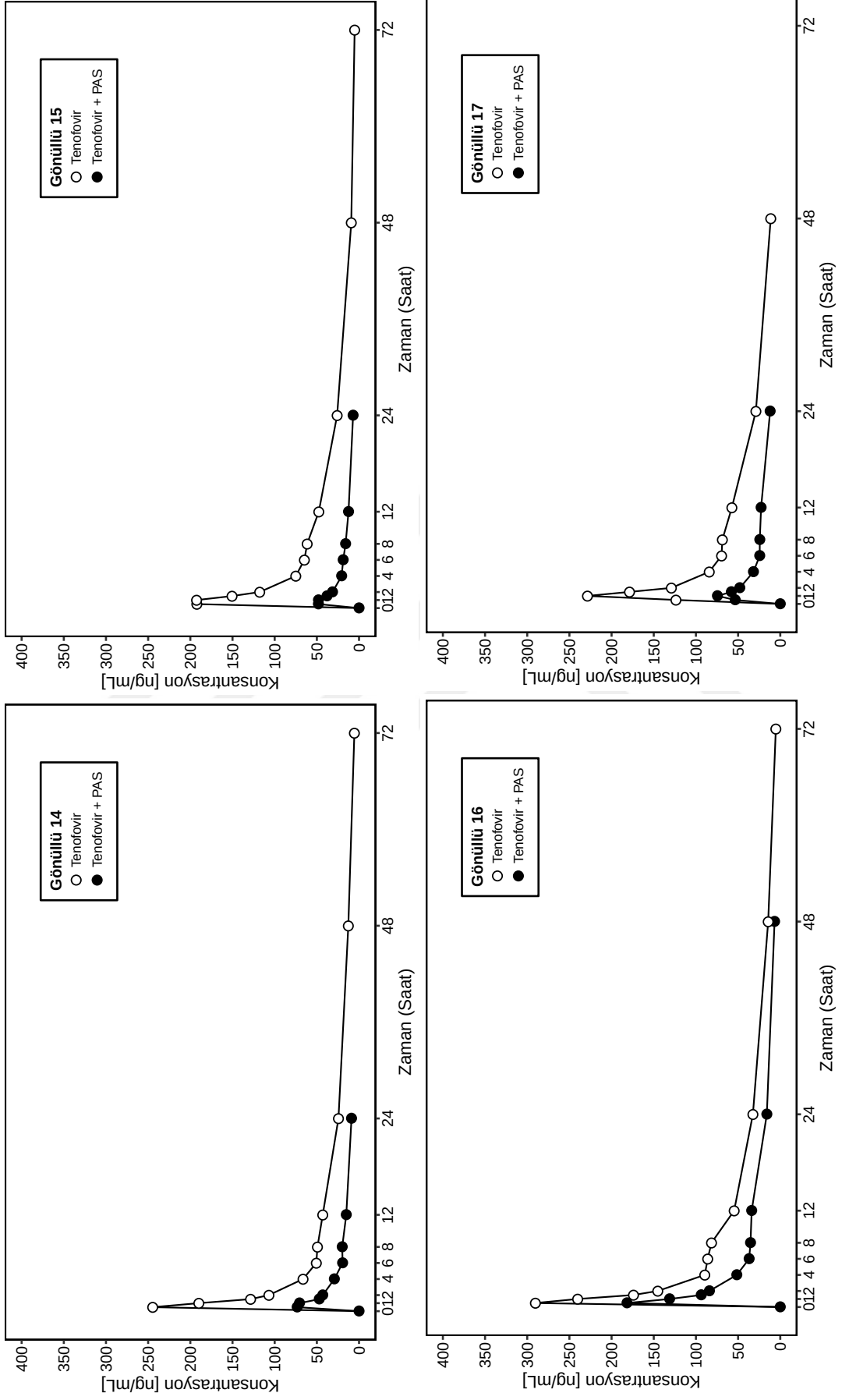
Şekil 4.2a: Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.



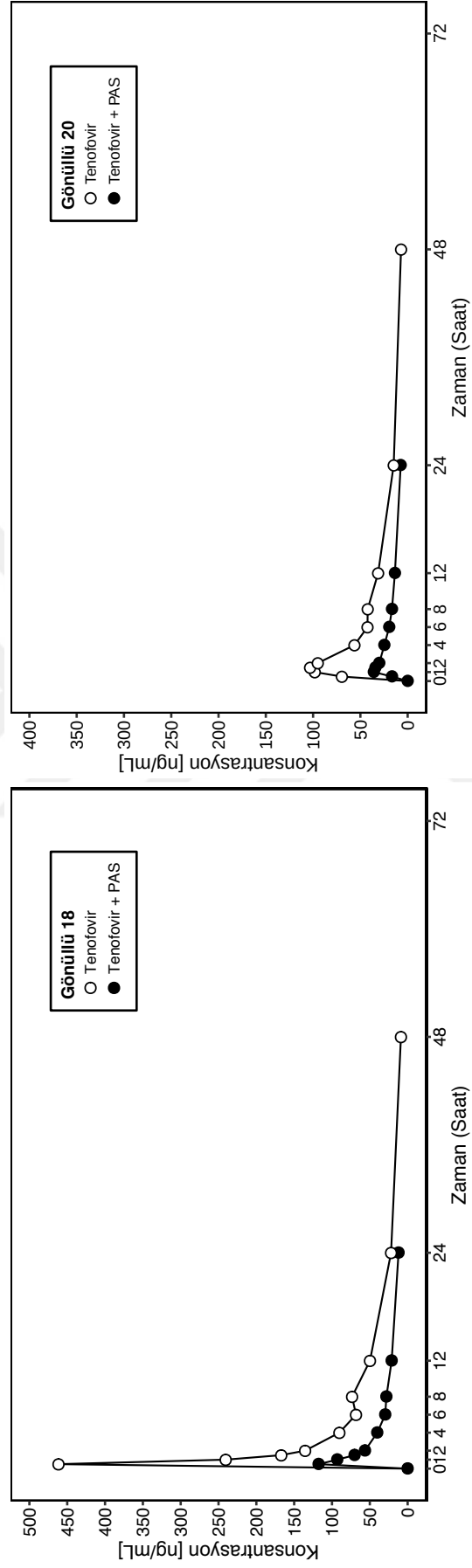
Şekil 4.2b: Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.



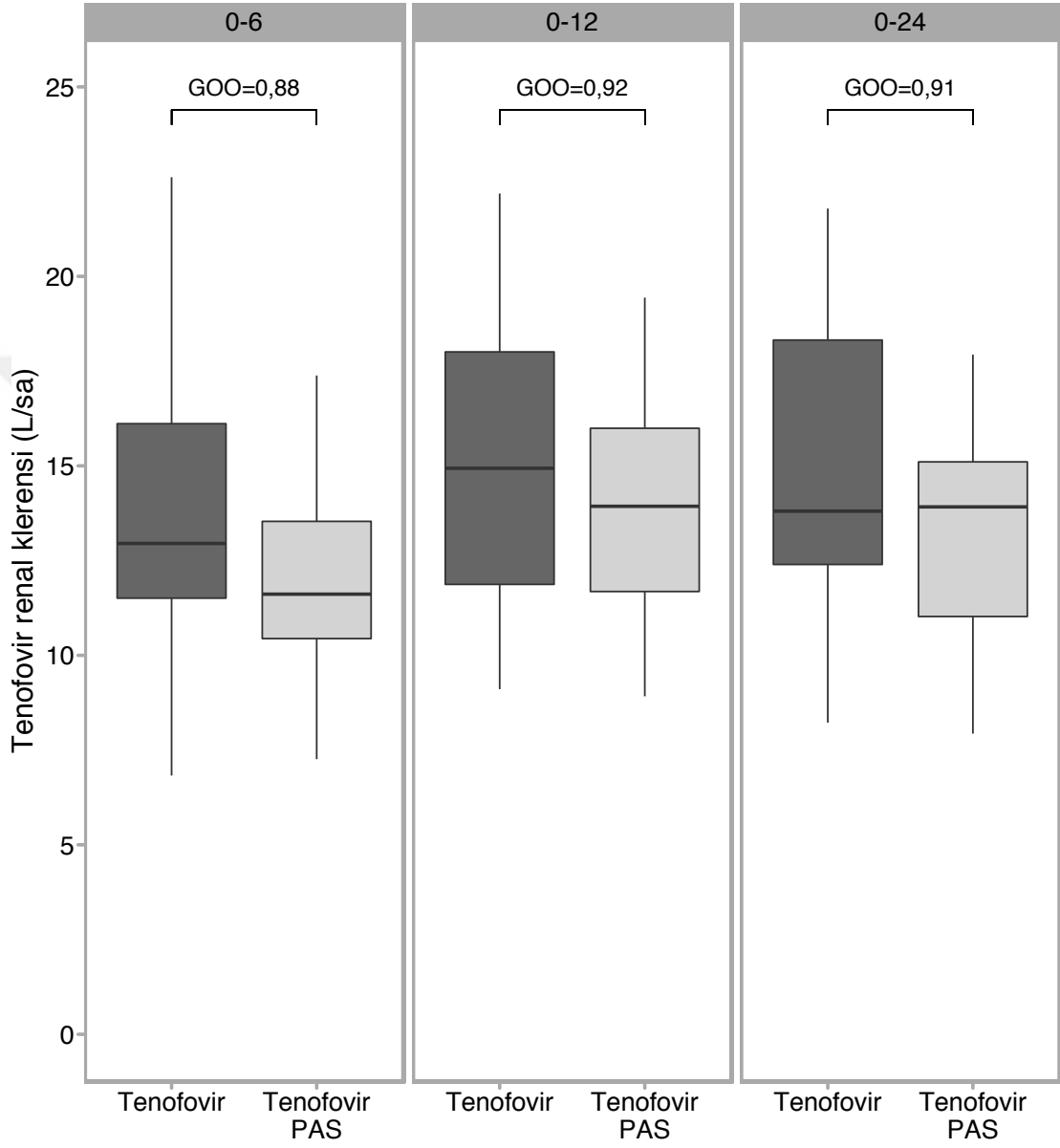
Şekil 4.2c: Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.



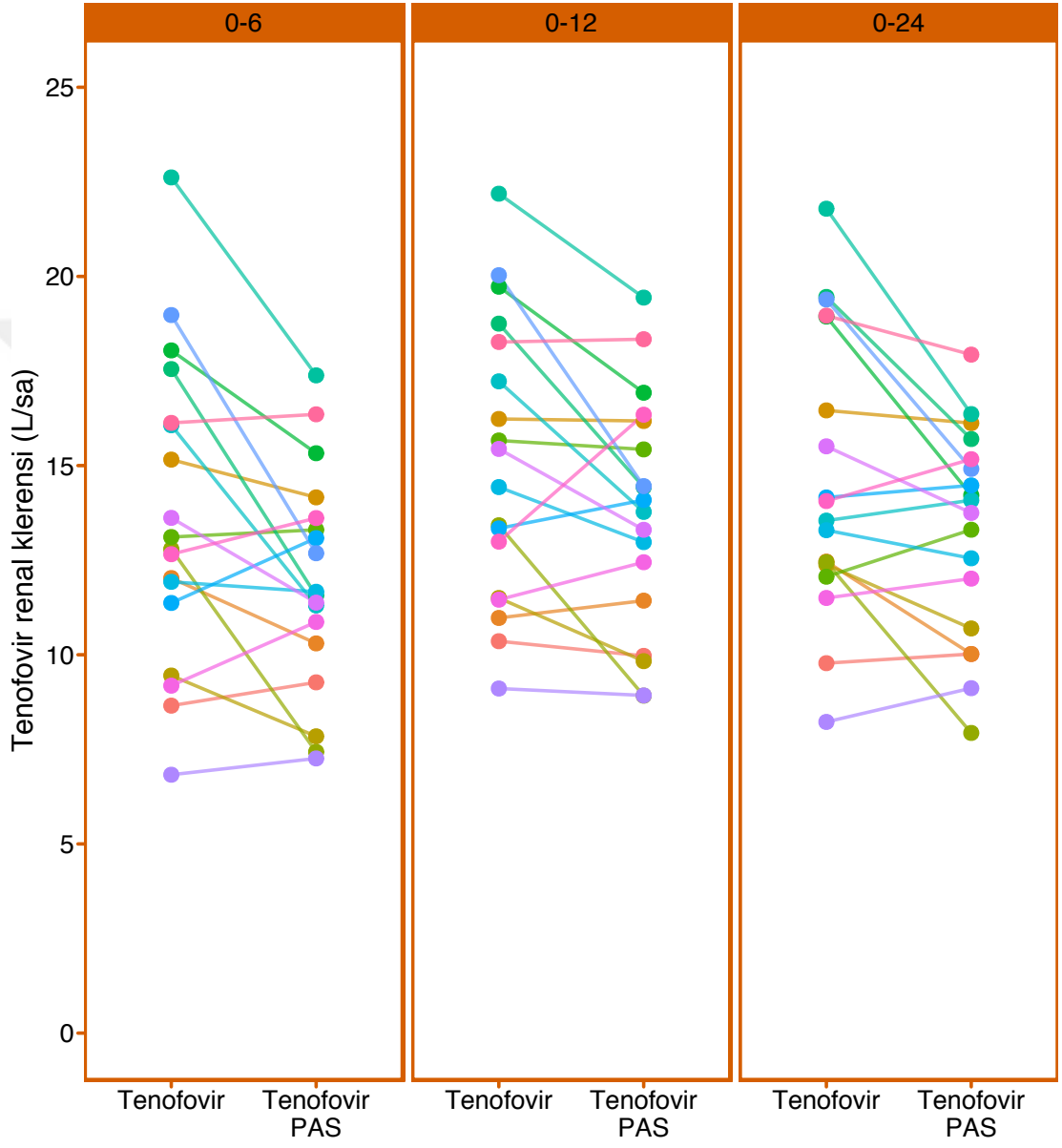
Şekil 4.2d: Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.



Şekil 4.2e: Tek doz tenofovir uygulanan hastalardaki bireysel tenofovir farmakokinetik eğrileri.



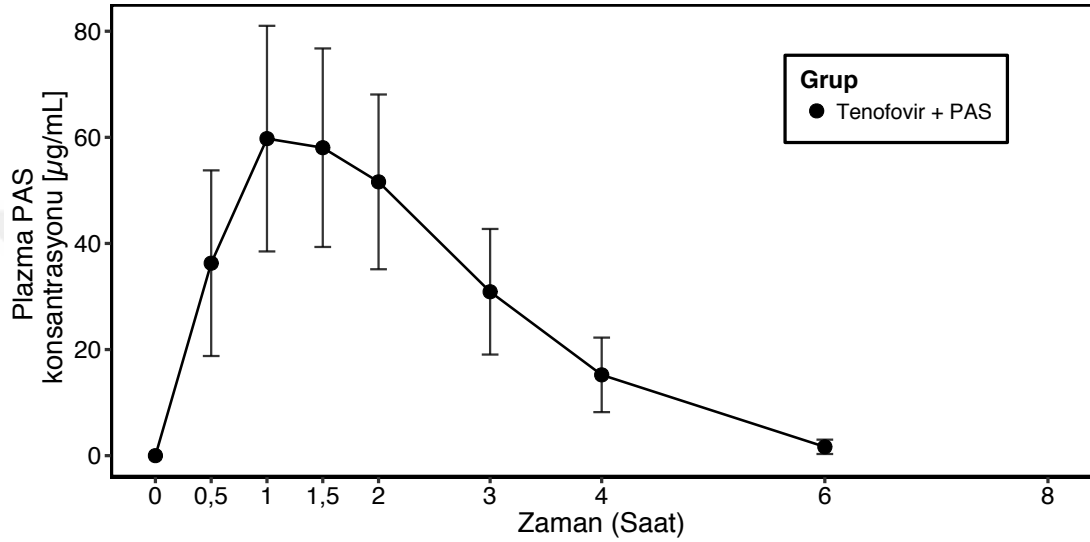
Şekil 4.5: Tenofovir renal klerensinin farklı zaman dilimlerindeki değişimi. GOO, Geometrik ortalama oranı; kutu, %25-75 çeyrekler arası aralık; yatay çizgi, ortanca değer. Çeyrekler arası aralığın 1,5 katı *whisker* çubuklarının sınır değeri olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.6: Bireyler arasında tenofovir renal klerensinin farklı zaman dilimlerindeki değişimi.

4.2. *para*-Aminosalisilik Asit Farmakokinetik Verileri

Çalışmayı tamamlayan 18 sağlıklı katılımcının plazma *para*-aminosalisilik düzeyleri Şekil 4.7’de verilmektedir. Katılımcıların maksimum plazma konsantrasyonları ortalama $68,9 \pm 16,3$ $\mu\text{g/mL}$, EAA değeri ise $172,2 \pm 37,5$ $\mu\text{g}\cdot\text{sa/mL}$ olarak hesaplandı. PAS plazma farmakokinetik verileri Tablo 4.3’te ayrıntılı olarak sunulmaktadır.



Şekil 4.7: Ölçülen plazma PAS konsantrasyonları. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=18).

Tablo 4.3: Tenofovir uygulanan hastalardaki PAS plazma farmakokinetik verileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir (n=18).

	Test grubu
C_{maks} ($\mu\text{g/mL}$)	$68,9 \pm 16,3$
EAA_t ($\mu\text{g}\cdot\text{sa/mL}$)	$172,2 \pm 37,5$
t_{maks}^* (sa)	1,5 (0,5-3,0)
$t_{1/2}$ (sa)	$0,75 \pm 0,28$
KL/F (L/sa)	$32,4 \pm 8,7$
V_d/F (L)	$15,5 \pm 37,3$

* Ortanca ve aralık değerleri verilmiştir.

4.3. OCT-2 Polimorfizmlerinin Genetik Analizi

Örneklerdeki OCT-2 genetik polimorfizmlerinin dağılımı Tablo 4.4'te verilmektedir. 808 G>T ve 602 C>T polimorfizmleri incelendiğinde sırasıyla 7 ve 1 heterozigot birey saptandı. Diğer öznelerde yabancı tip genotip tespit edilmiştir. Katılımcılar arasında 596 C>T genetik polimorfizmine rastlanmadı.

Tablo 4.4: Katılımcılardaki OCT-2 genotiplerinin dağılımı

SLC22A2(OCT2)			
rs numarası	rs316019	rs145450955	rs201919874
Nükleik asit değişimi	c.808G>T	c.602C>T	c.596C>T
aa değişimi	Ala270Ser	Thr201Met	Thr199Ile
Yabanıl tip (sayı)	GG(11)	CC(17)	CC(18)
Heterozigot (sayı)	GT(7)	CT(1)	CT(0)
Homozigot mutant (sayı)	TT(0)	TT(0)	TT(0)
Alel frekansı	G(%80) T(%20)	C(%97) T(%3)	C(%100) T(%0)

Katılımcılar OCT-2 haplotipleriyle gruplandırılıp plazma PAS farmakokinetik parametreleri karşılaştırıldığında gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmedi. PAS'ın plazma C_{maks} ve EAA_t değerlerinin geometrik ortalama oranları ve %90 güven aralıkları CC/GG haplotipi referans olarak alındığında CC/GT haplotipi için 103,1 (80,1 - 132,7) ve 113,0 (88,5 - 144,4); CT/GT haplotipi için 91,4 (55,8 - 149,8) ve 100,8 (62,5-162,6) olarak hesaplandı. PAS farmakokinetik parametrelerinin OCT-2 haplotiplerine göre karşılaştırılması Tablo 4.5'de ayrıntılı olarak sunulmaktadır.

4.4. Advers Olaylar ve Ko-medikasyon Gereksinimi

Hiçbir katılımcıda yaşamı tehdit eden ciddi advers olay gelişmedi. Çalışmaya katılan 20 sağlıklı gönüllüden ikisi kişisel nedenlerle çalışmanın ikinci periyoduna katılamadı. Çalışma boyunca 7 katılımcıda toplamda 9 advers olay gözlemlendi. Bunlardan 5'i baş ağrısı, 3'ü yükselmiş AST, ALT ve 1'i diş ağrısıydı. AST ve ALT enzimleri en

Tablo 4.5: OCT-2 haplotipleri arasında PAS farmakokinetiğinin karşılaştırılması.

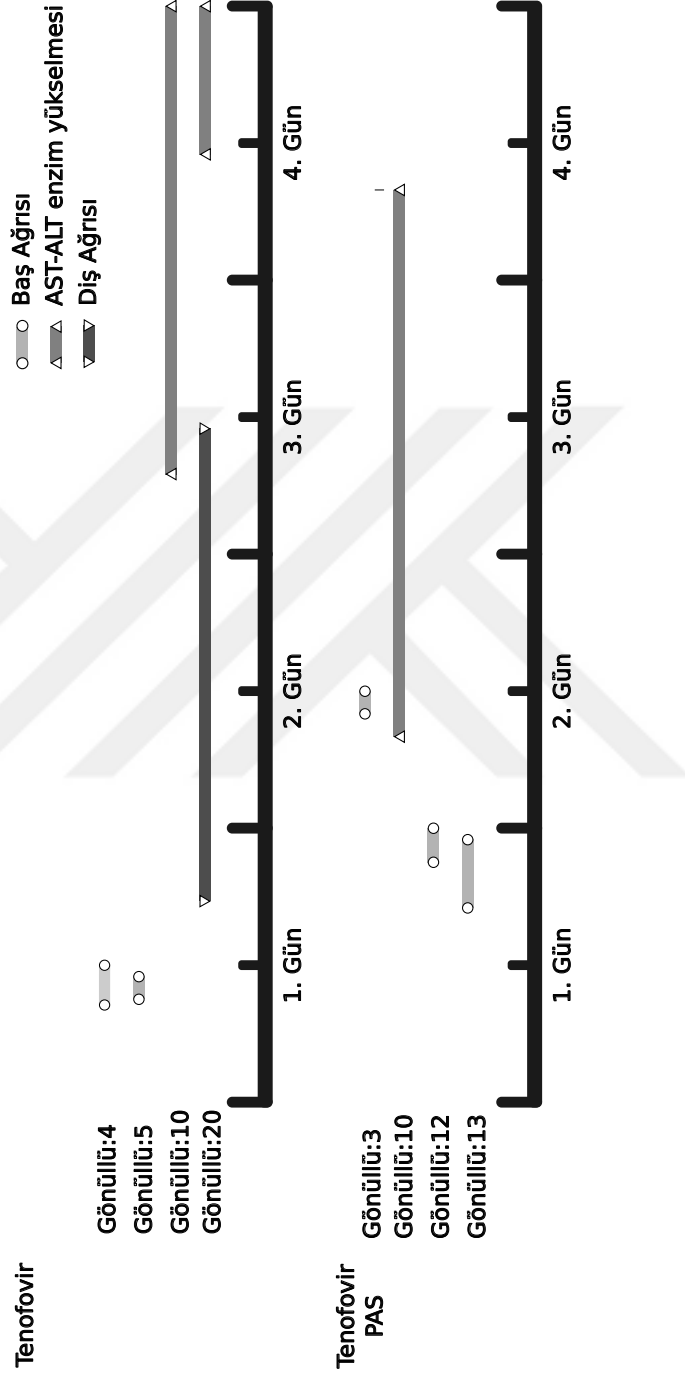
c.602C>T/c.808G>T				
		CC/GG (n=11)	CC/GT (n=6)	CT/GT (n=1)
C_{maks}	($\mu\text{g/mL}$)	68,4 $\pm$ 15,6	71,1 $\pm$ 20,0	61,0
C_{maks}	GOO ¹	Referans	103,1 (80,1-132,7)	91,4 (55,8 -149,8)
EAA_t	($\mu\text{g}\cdot\text{sa/mL}$)	167 $\pm$ 42,0	185,6 $\pm$ 29,6	160,4
EAA_t	GOO ¹	Referans	113,0 (88,5 -144,4)	100,8 (62,5 -162,6)
t_{maks}	(sa) ²	1,0 (1,0-2,0)	1,5 (0,5-3,0)	2,0
$t_{1/2}$	(sa)	0,8 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,2	0,5
KL/F	(L/sa)	33,8 $\pm$ 10,2	29,1 $\pm$ 4,9	32,9
V_d/F	(L)	41,9 $\pm$ 30,0	29,1 $\pm$ 8,2	22,7

¹ Geometrik ortalama oranları.

² Ortanca ve aralık değerleri verilmiştir.

fazla 3 kata kadar yükseldi. Advers olayların çalışma grupları arası karşılaştırılmasında bir fark bulunamadı (p=0,65).

20 numaralı gönüllü diş ağrısı sebebiyle tenofovir alımından 10 saat sonra ve 15 saat sonra parasetamol kullandı. Bunun dışındaki advers olaylar kendiliğinden remisyon gösterdi ve tedaviye gerek duyulmadı. Çalışma sırasında gözlemlenen advers olaylar Şekil 4.8’de gösterilmektedir.



Şekil 4.8: Çalışmada gözlenen advers olaylar.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında sağlıklı gönüllülerde *in vivo* koşullarda para aminosalisilik asit (PAS) ve tenofovir arasındaki etkileşme incelendi. Daha önce yapılmış ve henüz bildiri olarak yayımlanmış bir çalışmada PAS'ın tenofovirin OAT1 ve OAT3 taşıyıcı proteinleri aracılığındaki taşınmasını hücre kültürü ortamında inhibe ettiği gösterilmişti (117). Bu tez çalışmasının temel hipotezi, PAS ile *in vitro* ortamda gözlenen inhibisyon, *in vivo* ortamda da oluşursa tenofovirin renal tübüler sekresyonun azalacağı ve plazma konsantrasyonlarının artacağı üzerine kuruludur.

Çalışmamızda beklenilenin aksine PAS verilen sağlıklı bireylerde, tenofovir plazma konsantrasyonları anlamlı şekilde azaldı. Test ve referans grupları arasında (test/referans) maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) ve eğri altındaki alan (EAA_{∞}) değerlerinin geometrik ortalama oranları sırasıyla 0,33 ve 0,29 olarak hesaplandı. Bu değerler Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (US-FDA) (12) tarafından etkisizlik aralığı olarak belirtilen 0,8-1,25 değerlerinden oldukça uzaktı. Başka bir deyişle PAS, tenofovir konsantrasyonlarını kontrole göre %70'e varan oranlarda düşürdü.

Çalışmamızda gözlemlediğimiz bu etkileşmesinin mekanizması henüz bilinmemektedir. Ancak etkileşmenin büyük olasılıkla tenofovirin emilim düzeyinde olduğu düşünülmüştür. Olası mekanizmalar aşağıda tartışılmaktadır:

Mide boşalmasının yavaşlaması C_{maks} ve EAA_{∞} değerlerinin azalmasına yol açabilir. Ancak bu durumda absorpsiyonda gecikme yaşanacağından plazma konsantrasyon doruğunun gecikmesi yani t_{maks} değerinin artması beklenir (118). Bizim çalışmamızda t_{maks} değeri değişmediğinden bu mekanizmanın tenofovir-PAS etkileşmesinde rol alması beklenmez.

PAS, gerek ilk geçiş etkisi yüzünden gerekse hızlı metabolize olmasından dolayı diğer ilaçlara göre yüksek dozda uygulanan bir antibiyotiktir. Bizim çalışmamızda katılımcılar, sabah ve akşam 5,28 g olmak üzere toplamda günde 10,56 g PAS kullandı. Katılımcıların aç olarak 200 mL sıvı ile bu ilaçları aldıkları düşünüldüğünde yüksek dozda alınan ilacın ortam pH'sini değiştirerek tenofovir disoproksil fumaratın iyon-

zasyonunu etkileyebileceği akla gelebilir. Tenofovir ön ilacı olan tenofovir disposoksil fumaratın pKa değeri 3,75'tir (119). Gastrointestinal lümendeki pH değişimlerinden çoğunlukla bazik ilaçlar etkilenmektedir (19). PAS gibi asidik olan portakal suyunun (pH $\approx$ 3,8) (120) tenofovirle beraber verilmesi ilacın uygulama önerileri arasındadır (121). Bu nedenle gastrointestinal sistemdeki olası pH değişiminin PAS-tenofovir etkileşmesine neden olması beklenmez.

PAS ile tenofoviri birlikte verildiği durumda, tenofovir plazma düzeylerinin azalmasının bir başka olası nedeni kimyasal bir etkileşme sonucu PAS ile tenofoviri birbirini çöktürmesi olabilir. Ancak bu durumda PAS konsantrasyonlarında da azalma gözlenmesi beklenir. Çalışmamızda sadece PAS uygulanan grubun olmaması bir karşılaştırma yapmamızı zorlaştırmaktadır. Ancak çalışmamızda gözlenen PAS konsantrasyonları literatürle benzerlik göstermektedir (122). Bu nedenle bu tür bir etkileşme olasılığı dışlanmamakla birlikte zayıf görünmektedir.

PAS'ın sudaki çözünürlük değeri bilinmemektedir. Ancak sıçanlarda yapılan bir çalışmada 200 mg/kg dozu suda çözünüp bolus i.v. olarak uygulanmıştır. Uygulanan dozun hacmi çalışmada belirtilmemiştir (83). Bu çalışmada PAS, bolus doz için çok yüksek bir hacim olan 1 mL suda çözdürülüp verilse dahi PAS'ın sudaki çözünürlük değeri yaklaşık 70 mg/mL olarak hesaplanmaktadır. Sonuç olarak 200 mL içinde 14 g PAS'ın çözünebileceği düşünülebilir. Çalışmamızdaki PAS dozu 5,28 g olup 200 mL suda çözünmesi halinde konsantrasyonu 150 mM olur. Açlıkta midedeki sıvı miktarı 35 mL, barsaktaki sıvı miktarı 43 mL olarak ölçülmüştür (123). Bu nedenle 150mM konsantrasyonunda minimal bir dilüsyon beklenir.

PAS'ın gastrointestinal sıvıdaki yüksek konsantrasyonu *in vitro* deneylerde öngörülemeyen etkilere yol açmış olabilir. Etkileşme, TDF'nin taşınmasında rolü olduğu bilinmeyen bir taşıyıcı protein üzerinden gerçekleşmiş olabilir. PAS'ın *in vitro* ortamda taşıyıcı proteinlerle ilişkisinin incelendiği deneylerinde en yüksek 400 μ M konsantrasyonu kullanılmıştır (11, 13, 124). Bunun nedeni ise PAS'ın plazma konsantrasyonlarının gastrointestinal sıvıdaki konsantrasyonlardan oldukça düşük oluşudur. Çalışmamızda hesaplanan plazma serbest C_{maks} ortalama değeri 200 μ M'dir. Aynı değer yavaş salımlı

(4g) tabletlerde 65 µM'dir (75). PAS'ın gastrointestinal lümende yüksek konsantrasyona erişmesi *in vitro* deneylerde öngörülemeyen taşıyıcı protein inhibisyonu gibi farmakolojik etkilere yol açabilir. Ancak TDF'nin emiliminde henüz özel ya da bilinmeyen bir taşıyıcının rolü olduğu gösterilmemiştir.

Tenofovirin ön ilacı olan tenofovir disoproksil fumarat, lipofilik olduğundan difüzyon yoluyla emildiği varsayılır (3). TDF ile taşıyıcı protein ilişkisini inceleyen çalışmalar sayıca azdır. TDF barsaklardan emildikten sonra hızlıca yıkılır. Buna ek olarak tenofovire bağlı böbrek toksisitesinin tübüler taşıyıcılarla ilişkili olmasından dolayı çalışmalar bu alana yoğunlaşmıştır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada TDF'nin plasental taşınmasında çoklu ilaç direnci proteini 1'in (MDR1) rolü olduğu önerilir (125). *MDR1* geni silinmiş farelerde yapılan bir çalışmada beyindeki PAS ve as-PAS (ana metabolit) konsantrasyonlarının arttığı gözlenmiş ve bunun sonucunda PAS'ın MDR1 substratı olabileceği bildirilmiştir (126). Buna karşın yeni yayımlanan *in vitro* bir çalışma PAS'ın MDR1 tarafından taşınmadığını öne sürmektedir (13). Sonuç olarak MDR1 aktivitesi tenofovir plazma konsantrasyonlarını azaltıcı yönde etki göstermektedir. PAS ve tenofovirin MDR1 üzerinde yarışması, tenofovirin ön ilacı olan TDF'nin barsağa daha az atılmasına ve tenofovir konsantrasyonlarının plazmada artmasıyla sonuçlanırdı. Bizim çalışmamızda ise aksine plazma tenofovir konsantrasyonlarında azalma gözlemlendi. Ancak bir MDR1 substratının allosterik etkiyle başka MDR1 substratların taşınmasını artırması söz konusu olabilir (127). Bir çalışmada farklı MDR1 bölgelerine bağlanan rodamin ve prazosinin başka bir MDR1 substratı olan Hoechst 33342 maddesinin *in vitro* ortamdaki taşınmasını artırdığı gösterilmiştir (128). PAS'ın allosterik olarak MDR1 taşıyıcısının aktivitesini artırması TDF'nin emiliminin azalmasına ve çalışmamızdaki gibi bir etkileşmeye sebep olabilir.

Erken dönem PAS çalışmalarında PAS'a bağlı gelişen çeşitli malabsorpsiyon olguları bildirilmiştir. Brown ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada iki haftalık kullanımda PAS'ın nonspesifik olarak emilimde inhibisyon yaptığı D-ksiloz¹ testi ile saptanmıştır (118). Aynı çalışmada 10 sağlıklı gönüllüde PAS'ın (4 x 2g, 2 hafta), tek doz (0,75

¹D-ksiloz (*D-xylose*), organizmadaki seyrinde bir enzim veya taşıyıcı proteine gerek duymadan emilip değişmeden atıldığı düşünülen bir monosakkarittir (129).

mg) digoksinin kan konsantrasyonlarını azalttığı gösterilmiştir. PAS ve digoksin arasında adsorpsiyon olmadığı da gözlenmiştir (118). Bir tüberküloz hastasında 10 haftalık PAS kullanımının yağ ve B₁₂ vitamininin emilimini azalttığı ilacın kesilmesinden sonra bu etkilerin geri döndüğü gösterilmiştir (130). PAS, 12 ve 6 g dozunda 4 hafta boyunca sağlıklı gönüllülere uygulanmış ve 12 g grubunda diyare olmaksızın steatore saptanmıştır. Jejunal mukoza biyopsi incelemesinde histolojik değişikliğe rastlanmamıştır (131). Ancak bu etkileşmelerin mekanizması henüz aydınlatılabilmemiş değildir. Otuz tüberküloz hastasında yapılan bir çalışmada PAS'ın plazma rifampisin konsantrasyonlarını %50'ye varan oranlarda azalttığı gösterilmiştir (132). Ancak daha sonra bu etkileşmenin PAS granüllerinde kullanılan bentonit adlı yardımcı bir maddenin rifampisini adsorbe ederek gerçekleştirdiği kimyasal bir etkileşme olduğu ortaya konmuştur (23).

TDF gibi ester yapısı bulunduran ön ilaçların emilim aşamasında barsaktaki esterazlar tarafından yıkılması ilacın daha hidrofilik formlarının barsak lümeninde veya barsak epitelinde oluşmasına ve barsakta hapsolmasına neden olabilir. Bu formların permeabilitelerinin daha düşük olmasından dolayı emilim önemli oranda azalmaktadır (133). Emilim gerçekleşmeden hızlıca yıkıma uğradığı için başarısız olan ön ilaç tasarımları olarak L-dopa (134) ve timolol (135) örnek gösterilebilir. TDF, yüksek yağlı (%40-50 yağ) yemeklerle birlikte uygulandığında plazma EAA_∞ ve C_{maks} değerleri sırasıyla %40 ve %14 oranlarında artmaktadır (136). Bu etkileşmenin mekanizması yağlı yemeğin barsaktaki esteraz aktivitesini kısmen doyurması olabilir. Yağlı yemekler genellikle midenin boşalma süresini uzatıp t_{maks} değerlerini uzatırlar ve bazı ilaçların disintegrasyon/dissolüsyonunu arttırarak daha fazla emilmesine neden olabilirler. Tenofovirin ön ilacı olan TDF üzerine yapılan *in vitro* bir stabilite çalışmasında en stabil olduğu pH'nin 2-3 aralığı olduğu gösterilmiştir (137). Ayrıca TDF uygulanan sağlıklı insanlarda duodenal örneklerin de incelendiği bir çalışmada TDF'nin mide ortamında esteraz enziminin olmaması ve asiditeye dayanıklı olmasından dolayı degrade olmadığını göstermiştir (138). Bizim çalışmamızda öznelerle bir gecelik açlıktan sonra tenofovir (ve kontrol grubunda PAS) uygulaması yapılmış olup takip eden dört saat boyunca yemek yememişlerdir.

Çalışmamızda gözlenen etkileşmeyi açıklayabilecek bir diğer mekanizma ilaç dağılımının değişmesidir. Köpeklerde yapılan bir çalışmada tenofovirin başlıca karaciğer ve böbrek olmak üzere doku dağılım paterni gösterdiği belirtilmiştir. Örneğin 24. saatte sistemik dolaşımdaki tenofovir konsantrasyonu ortalama $0,85 \mu\text{g}\cdot\text{eq/g}$ iken karaciğerde $38,3 \mu\text{g}\cdot\text{eq/g}$, böbrekte ise $87,9 \mu\text{g}\cdot\text{eq/g}$ olarak ölçülmüştür (60). Ancak bu veriler değerlendirilirken tenofovirin i.v. 1mg/kg dozunun köpekte (139) ve insandaki (140) yarılanma ömrünün 4,5 saat olarak hesaplandığı göz önünde bulundurulmalıdır. İnsanda oral uygulamada ise yarılanma ömrü 12-18 saat arasında değişmektedir. Tenofovirin hücre içi yarılanma ömrü oldukça uzundur. Tenofovir, lamivudin ve abakavir üçlü tedavisi uygulanan 15 HIV(+) hastanın periferik mononükleer kan hücrelerinde yapılan analizlerde tenofovir-pp'nin hücre içi yarılanma ömrü ortanca değeri 150 saat olarak hesaplanmıştır (141). Tenofovir karaciğer ve böbrekte birikim gösterir. Tenofovirin böbrek tübülüne taşınması OAT1 ve OAT3 aracılığıyla gerçekleşir (5). Ancak karaciğere hangi taşıyıcı aracılığıyla geçtiği bilinmemektedir. HEK hücrelerinde eksprese ettirilen OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1, OAT2, OCT1, NTCP taşıyıcıları ve S2 hücrelerinde eksprese ettirilen OAT7 taşıyıcılarının tenofovirin *in vitro* hücre içine alınmasında rolü olmadığı gösterilmiştir (142). Tenofovirin sıvı faz endositozu ile hücre içine taşındığı düşünülse de (3) bunu direkt olarak gösteren bir çalışma yapılmamıştır.

Plazma proteinlerine bağlanmanın etkilenmesinin PAS ile tenofovir arasında bir etkileşmeye yol açması çok zayıf olasılıktır. Çünkü PAS'ın albümine bağlanma oranı %50-60 (83) aralığında bulunmuşken, tenofovirin plazma proteinlerine bağlanma oranı %7 (3) olarak hesaplanmıştır. Tenofovirin proteine bağlanma oranı düşük olduğu için bu etkileşmeye protein bağlanmasındaki değişimin neden olması beklenmez.

Çalışmamızdaki bireylerde, tenofovir farmakokinetik eğrilerinde yaklaşık 8-12 saatleri arasında redistribüsyon doruğu (piki) gözlenmiştir (Şekil 4.1). Bireysel farmakokinetik eğriler incelendiğinde bazı katılımcılarda bu pikin daha belirgin olduğu gözlenmektedir. Bazı öznelerde referans grubunda bu ikinci doruk belirgin iken aynı katılımcıların test grubundaki farmakokinetik eğrisinde bu pik kaybolmakta veya küçülmektedir. Bireysel farmakokinetik eğrilerde (Şekil 4.2a-e) de görülebileceği üzere;

özellikle 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 16, 18 numaralı gönüllülerde bu fark daha belirgindir. Tenofovirin böbrek tübül hücreleri dışındaki diğer dokulara hangi taşıyıcı aracılığıyla geçtiği henüz bilinmemektedir. Bu etki PAS'ın dokulardaki taşıyıcı proteinleri etkileyerek tenofovirin vücuttaki dağılımını etkilemesi sonucu oluşabileceği gibi, plazma tenofovir konsantrasyonlarının test grubunda daha düşük seyretmesi ve bunun tenofovirin doku penetrasyonunu etkilemesi sonucu dağılım paterninde bir değişme kaynaklı da olabilir.

Bir ön ilacın metabolizmasının inhibisyonu, yarılanma ömründe artma ile sonuçlanabilir. Tenofovir disopsoksil fumarat gibi bir ön ilaç olan losartan, vücuda alındıktan sonra E-3174 adlı aktif metabolitine çevrilir. Bu işlem başlıca CYP2C9 enzimi aracılığıyla gerçekleşir (143). Bu enzimlerin flukonazol tarafından inhibisyonu, E-3174 plazma C_{max} ve EAA_{∞} seviyelerini %30-40 dolayında azaltırken yarılanma ömrünü kontrolün %167'sine kadar artırmaktadır ve t_{maks} değerini değiştirmemektedir (144). Bizim çalışmamızda ise eliminasyon yarılanma ömrü artmamış tersine azalmıştır. Dolayısıyla tenofovir-PAS arasındaki etkileşmenin TDF (ön ilaç)'nin tenofovire dönüşümü aşamasında gerçekleşmediği düşünülebilir.

$$t_{1/2} = 0,693 \cdot \frac{V_d}{KL} \quad (5.1)$$

Hesaplanan plazma yarılanma ömürleri ($t_{1/2}$) karşılaştırıldığında ortalama plazma tenofovir yarılanma ömrü; tenofovir ve PAS'ın beraber uygulanmasında 18,6 ve yalnız tenofovir uygulanmasında 14,8 saat olarak hesaplandı ($p < 0,005$). Katılımcılardan 24 saatlik idrar örneği toplanmış ve bu örneklerdeki tenofovir ilaç düzeyleri ölçüldü. Bu veriler kullanılarak hesaplanan toplam renal tenofovir klerensi (ortalama $\pm$ SS, L/sa) test grubunda ($13,2 \pm 2,8$), referans grubuna ($14,7 \pm 3,7$) göre anlamlı bir fark göstermedi ($GOO=0,90$). Formül 5.1'e göre yarılanma ömrünün azalması, ancak böbrek dışı klerensin artması veya sanal dağılım hacminin azalması sonucu olabilir. Tenofovir, metabolize olmadan başlıca böbrek yoluyla vücuttan atılmaktadır (3). Her ne kadar sıçanlarda yapılan bir çalışmada safra yoluyla da atıldığı (145) gösterilse de insanda böbrek ana

eliminasyon organıdır (3). İntravenöz uygulanan tenofovirin 72 saat içerisinde %70-80'inin idrarda değişmeden atıldığı saptanmıştır (136). Köpeklerde ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda tenofovirin yaygın bir doku dağılımı gösterdiği belirtilmiştir (3). HIV(+) hastalarda yapılan bir çalışmada i.v. uygulanan 1mg/kg tenofovirin sanal dağılım hacmi 800 mL/kg olarak hesaplanmıştır (140). Köpeklerde [^{14}C] ile işaretlenmiş tenofovir ile yapılan farmakokinetik bir çalışmada 48 saatte biliyer atılım %0,3'ten daha az , gaita ile atılım %0,42 olarak ölçülmüştür (139). Ancak hayvan farmakokinetik verileri değerlendirilirken hayvan dokularındaki taşıyıcı protein ve enzim ekspresyonlarının insandan farklı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak sadece dağılım hacminin azalması plazma tenofovir konsantrasyonlarını arttıracığından çalışmamızdaki bulgularla uyumlu değildir. Tenofovir bifazik bir eliminasyon profili çizmektedir. Literatürde tenofovir yarılanma ömürleri 24 saatlik ölçümlerde genellikle 12-13 saat aralığında hesaplanırken 48-96 saatlik ölçümlerde yarılanma ömrünün yaklaşık 17 saat olarak hesaplandığı bildirilmektedir (3, 146, 147). Bu fenomen λ^1 açısının etkilenmesiyle açıklanabilir. Yarılanma ömrü λ açısı ile ters orantılıdır (Formül: 5.2). Kısa süren farmakokinetik ölçümlerde 8-12. saatlerde gerçekleşen redistribüsyon (Bkz. Şekil 4.1) nedeniyle plazma konsantrasyonlarında bir miktar artış gözlenmektedir. Bu sebeple, 24. saatte biten bir analizde λ açısı daha dik hesaplanırken uzun dönem ölçümlerde eliminasyon fazı daha yatay seyreder ve bu açıda azalmayla sonuçlanır. Çalışmamızda hesaplanan 18,6 ve 14,8 saat yarılanma ömrü değerleri bu durum ile açıklanabilir.

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\lambda} \quad (5.2)$$

Bu çalışmada tenofovir sadece oral yoldan uygulandığı için oral klerens, Formül 5.3 ve 5.4'den dolayı biyoyararlanıma oranı üzerinden hesaplanabilmektedir. Burada klerensin sabit kalıp biyoyararlanımın düşmesi KL/F değerinde yükselmeye neden olmaktadır. Tenofovir idrar konsantrasyonları ve idrar kreatinin konsantrasyonları üzerinden

¹ λ , Lambda açısı ilacın yarı logaritmik zaman konsantrasyon grafiğinde eliminasyon fazındaki regresyon çizgisinin açısıdır.

hesaplanan tenofovirin renal klerensi¹ ve sekretuar klerensi² değerlerinde de anlamlı bir değişim olmamıştır. Çalışmamızdaki neredeyse 3 kata varan KL/F değerindeki artışın biyoyararlanımdaki değişmeye bağlı olduğu düşünülmektedir. Tenofovir metabolize olmadan vücuttan atılan bir ilaçtır. PAS'ın tenofovirin metabolizmasını indükleyerek biyoyararlanımını azaltması beklenmez. Dolayısıyla biyoyararlanımdaki azalmanın ilacın barsaktan emilimi sırasındaki bir etkileşme sonucunda gerçekleşme olasılığı fazladır.

$$\underbrace{F_{po} \cdot Doz_{po}}_{\text{Absorbe edilen toplam miktar}} = \underbrace{KL \cdot EAA_{po}}_{\text{Elimine edilen toplam miktar}} \quad (5.3)$$

$$\frac{Doz_{po}}{EAA_{po}} = \frac{KL}{F_{po}} \quad (5.4)$$

Hesaplanan $\frac{V_d}{F}$ değerleri sadece tenofovir uygulanan grupta ortalama ($\pm$ standart sapma) 6,4 ($\pm 1,9$), tenofovir ve PAS uygulanan grupta 23,6 ($\pm 9,5$) olarak bulundu. Sanal dağılım hacmi de sadece oral yoldan uygulama yapıldığında vücuttaki ilaç miktarı bilinemediğinden biyoyararlanıma oranı olarak hesaplanabilmektedir (Formül 5.5). Bu da sanal dağılım hacmindeki artmanın biyoyararlanımdaki değişmeden kaynaklandığını düşündürmektedir.

$$\text{Dağılım hacmi} = \frac{\overbrace{\text{Doz} \times F}^{\text{Vücuttaki ilaç miktarı}}}{\text{Plazma ilaç konsantrasyonu}} \quad (5.5)$$

$$\frac{\text{Dağılım hacmi}}{F} = \frac{\text{Doz}}{\text{Plazma ilaç konsantrasyonu}}$$

Çalışmada toplam 9 advers olay gözlemlendi. Bunlardan 8'i hafif şiddetteydi. 20 numaralı katılımcıda postoperatif diş ağrısı gözlemlendi. Çalışmanın 1. ve 2. periyot arasındaki 2 haftalık arındırma döneminde katılımcı diş çekimi prosedürü geçirdi. 2. periyotta

¹Renal klerens, sadece böbrek aracılı birim zamanda ilaçtan temizlenen plazma hacmini tanımlar. Renal klerens=glomerüler klerens + sekretuar klerens. Sekretuar klerens tübüler sekresyon ve tübüler reabsorpsiyon etkilerinin bileşimiyle oluşmaktadır.

²Sekretuar klerens, sadece tübüler sekresyon yoluyla birim zamanda ilaçtan temizlenen plazma hacmini tanımlar. Sekretuar klerens= Renal klerens - Kreatinin klerensi. Burada kreatinin klerensi glomerüler filtrasyon yerine kullanılmakta ve toplam renal klerensten çıkarılınca tübüler klerens hesaplanmaktadır.

(referans grubu) gelişen diş ağrısı sebebiyle tenofovir uygulanmasından (8:00) 10 saat ve 15 saat sonra katılımcıya 650 mg parasetamol uygulandı. Katılımcı çalışmanın 2. gününde (17:30) evde kendine 300 deksibuprofen uyguladı. Çalışmanın 3. günü (10:00) diş hekimi tarafından lokal lidokain uygulandı. Bu ilaçların uygulanmasının tenofovir farmakokinetiğini etkilemediği gözlemlendi. Lidokain uygulamasından 1 gün sonra hastada izole AST yükselmesi (AST:79, ALT:10) gözlemlendi. 1 hafta sonra yapılan ölçümde AST ve ALT enzimleri normal seviyelerdeydi.

Parasetamol ve metabolitleri her ne kadar tübüler sekresyon ile atılsa da taşınma yoluyla tenofovirle farklılık göstermektedir (148). Parasetamol'un OAT1 taşıyıcısı için IC₅₀ değeri 639 μ M (=96 μ g/mL) olarak ölçülmüştür (149). Bu düzey sağlıklı insandaki maksimum plazma parasetamol konsantrasyonunun (8 μ g/mL (150)) yaklaşık 12 katıdır. Aynı çalışmada OAT3 için IC₅₀ değeri çalışmadaki maksimum parasetamol konsantrasyonu olan 2000 μ M'ın üzerinde bulunmuştur (149). Tenofovirin apikal taşıyıcısı olan MRP4'ün parasetamolün %25-35 oranında metaboliti olan parasetamol sülfatın da taşınmasına aracılık ettiği düşünülmektedir (151, 152). Ancak bu konuda ayrıntılı çalışmalar yapılmamıştır. 20 numaralı gönüllünün tenofovir renal atılımının 0-6, 6-12, 12-24 saatleri aralığında sırasıyla; 6,6, 5,1, 5,7 mg olarak hesaplanmıştır. İlk parasetamol dozunun 10. saatte alındığı göz önüne alınarak parasetamol kullanımının tenofovir klerensi ve kan düzeyi üzerine etkinin olmayacağı düşünüldü ve katılımcı çalışmadan çıkarılmadı. Diğer advers olaylar tedaviye gerek duymaksızın kendiliğinden düzelme gösterdi.

Hipotezimizde PAS etkileyen ("*perpetrator*"), tenofovir ise etkilenen ("*victim*") rolünde olduğundan çalışma tasarımı tenofovir farmakokinetiğindeki değişimi ölçmek temelinde geliştirildi. Bu da sadece PAS uygulanan üçüncü bir sağlıklı gönüllü grubu oluşturulmasını önemsiz kıldı. Ancak fail ilacın plazmada istediğimiz seviyeye çıkıp çıkmadığını belirlemek ve bireyler arası karşılaştırmada plazma PAS konsantrasyonları ile olası bir etkileşme arasında bir ilişkinin olup olmadığını incelemek için plazma PAS konsantrasyonları da ölçüldü.

Yakın zamanda aynı çalışma grubu tarafından PAS'ın OCT2'nin *in vitro* ortamda substratı olduğu bildirilmiştir (13). Literatürde OCT2 genetik polimorfizmlerinin ilaç farmakokinetiği üzerine etkileri olabileceği bilinmektedir. Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada OCT2 808TT genotipinde metformin C_{maks} ve EAA değerlerini sırasıyla; %60 ve %70 oranlarında artmıştır. Aynı çalışmada metforminin renal sekretuar klerensi ise %60 oranında azalmıştır (15). Bu tez çalışmasında, 3 OCT2 genetik polimorfizminin PAS farmakokinetiği üzerine bir etkisinin olup olmadığı incelendi. OCT2 genotipleri 3 haplotipte değerlendirildi. Yapılan karşılaştırmada PAS farmakokinetik değerlerinde anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.5).

Çalışma tek doz-tek doz ilaç ilaç etkileşimi çalışması olarak planlandı. Ancak PAS'ın hızlı eliminasyonu nedeniyle tek doz PAS uygulanması yeterli inhibisyonu sağlayamayabileceğinden dolayı yeterli maruziteyi (*exposure*) sağlamak için; PAS, 2 x 5,28 g, 7 doz olarak uygulandı. Hızlı eliminasyon nedeniyle devamlı bir PAS konsantrasyonu sağlanamadı (Şekil 4.7). İlk 6 saatlik dönemde, OAT1 inhibisyonu için yeterli PAS maruziyetinin (*exposure*) sağlandığı düşünülmektedir. Bu dönemdeki tenofovir renal klerensleri incelendiğinde bir miktar azalma gözlenirse de anlamlı bir fark gözlenmemektedir ($GOO=0,88$, Şekil 4.5).

Sonuç olarak, sağlıklı gönüllülerde PAS ve tenofovirin birlikte uygulanmasında; tenofovir plazma konsantrasyonları tek başına verildiği duruma göre önemli ölçüde azaltmaktadır. Etkileşmenin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber yukarıda anlatıldığı şekilde emilim/biyoyararlanım aşamasında bir etkileşme olduğu düşünülmektedir. OCT2 genetik polimorfizmleri PAS farmakokinetiğini etkilememektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sağlıklı gönüllülerde PAS ile tenofovir birlikte uygulandığında tek başına uygulamaya göre tenofovir plazma konsantrasyonlarının önemli oranda azaldığı gösterildi. *In vitro* deneylere dayanan hipotezimizde PAS, OAT1 ve OAT3 üzerinden tenofovirin tübüler sekresyonunu azaltacağını ve bunun sonucunda plazma tenofovir konsantrasyonlarının artacağı öngörülmüştü. Ancak klinik çalışmada tam tersi bir durumla karşılaşıldı. Bu çalışma, *in vitro* ortamda gözlenen OAT1 ve OAT3 inhibisyonunun *in vivo* ortamda gözlenen etkileşimde rolünün olmadığını ya da minimal olduğunu düşündürmektedir.

PAS ve tenofovirin bilinen taşıyıcı protein ilişkileriyle bu etkileşim açıklanamamaktadır. Mekanizmanın aydınlatılabilmesi için PAS ve tenofovir arasında olası bir kimyasal etkileşme veya TDF ile barsaktaki taşıyıcı proteinlerinin ilişkileri incelenebilir.

Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda tenofovir ve PAS'ın beraber uygulanmasında dikkatli olunması ve tenofovir plazma konsantrasyonlarının takip edilmesi önerilebilir.

Bu tez çalışmasında *in vitro* ilaç ilaç etkileşmelerinin *in vivo* deneylerle zıt yönde bulgular verebileceği gösterilmiştir. Literatürdeki deneyler ve olgular değerlendirilirken bu tür ters yönde bulguların da göz önüne alınması gerektiği önerilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2016; 2016.
2. Awofeso N. Anti-tuberculosis medication side-effects constitute major factor for poor adherence to tuberculosis treatment. Bulletin of the World Health Organization. 2008;86(3):B–D.
3. Kearney BP, Flaherty JF, Shah J. Tenofovir disoproxil fumarate: Clinical pharmacology and pharmacokinetics. Clinical Pharmacokinetics. 2004;43(9):595–612.
4. Robbins BL, Srinivas RV, Kim C, Bischofberger N, Fridland a. Anti-human immunodeficiency virus activity and cellular metabolism of a potential prodrug of the acyclic nucleoside phosphonate 9-R-(2-phosphonomethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42(3):612–617.
5. Imaoka T, Kusuvara H, Adachi M, Schuetz JD, Takeuchi K, Sugiyama Y. Functional involvement of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the antiviral drugs adefovir and tenofovir. Mol Pharmacol. 2007;71(2):619–627.
6. Izzedine H, Thibault V, Valantin MA, Peytavin G, Schneider L, Benhamou Y. Tenofovir/probenecid combination in HIV/HBV-coinfected patients: how to escape Fanconi syndrome recurrence? AIDS (London, England). 2010 apr;24(7):1078–9.
7. Zhang X, Wang R, Piotrowski M, Zhang H, Leach KL. Intracellular concentrations determine the cytotoxicity of adefovir, cidofovir and tenofovir. Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA. 2015 feb;29(1):251–8.
8. Kohler JJ, Hosseini SH, Green E, Abuin A, Ludaway T, Russ R, et al. Tenofovir renal proximal tubular toxicity is regulated by OAT1 and MRP4 transporters. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 2011;91(6):852–858.
9. Donald PR, Diacon AH. Para-aminosalicylic acid: the return of an old friend. The Lancet Infectious Diseases. 2015;15(9):1091–1099.
10. Way EL, Peng CT, Allawala N, Daniels TC. The metabolism of p-aminosalicylic acid (PAS) in man. Journal of the American Pharmaceutical Association. 1955 feb;44(2):65–9.
11. Parvez MM, Kaisar N, Shin HJ, Jung JA, Shin JG. Inhibitory Interaction Potential of 22 Antituberculosis Drugs on Organic Anion and Cation Transporters of the SLC22A Family. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016 nov;60(11):6558–6567.

12. FDA. Guidance for industry. Drug interaction studies study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations; 2012.
13. Parvez MM, Shin HJ, Jung JA, Shin JG. Evaluation of para-aminosalicylic acid as a substrate of multiple solute carrier uptake transporters and possible drug interactions with nonsteroidal antiinflammatory drugs in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017;61(5):1–14.
14. Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human ATP-binding cassette and solute carrier transporter superfamilies. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2005;20(6):452–477.
15. Song IS, Shin HJ, Shim EJ, Jung IS, Kim WY, Shon JH, et al. Genetic variants of the organic cation transporter 2 influence the disposition of metformin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2008;84(5):559–562.
16. Zeldin RK, Petruschke RA. Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;53(1):4–9.
17. Piscitelli S, Rodvold K, Pai M. Drug interactions in infectious diseases; 2005.
18. Burget DW, Chiverton SG, Hunt RW. Is there an optimal degree of acid suppression for healing of duodenal ulcers? *Gastroenterology*. 1992;99:345–351.
19. Zhang L, Wu F, Lee SC, Zhao H, Zhang L. pH-dependent drug-drug interactions for weak base drugs: Potential implications for new drug development. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2014;96(2):266–277.
20. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology 2nd ed. (the "Gold Book"). Blackwell Scientific Publications, Oxford. 2014;p. 1670.
21. Wax PM. Current Use of Chelation in American Health Care. *Journal of Medical Toxicology*. 2013;9(4):303–307.
22. Escolar E, Lamas GA, Mark DB, Boineau R, Goertz C, Rosenberg Y, et al. The Effect of an EDTA-based Chelation Regimen on Patients with Diabetes Mellitus and Prior Myocardial Infarction in the Trial to Assess Chelation Therapy (TACT). *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*. 2014;7(1):15–24.
23. Boman G, Lundgren P, Stjernström G. Mechanism of the inhibitory effect of PAS granules on the absorption of rifampicin: Adsorption of rifampicin by an excipient, bentonite. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1975;8(5):293–299.

24. Decker WJ, Combs HF, Corby DG. Adsorption of drugs and poisons by activated charcoal. *Toxicology and applied pharmacology*. 1968 nov;13(3):454–60.
25. Ross-Lee LM, Eadie MJ, Heazlewood V, Bochner F, Tyrer JH. Aspirin pharmacokinetics in migraine. The effect of metoclopramide. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1983;24(6):777–785.
26. Manniche PM, Dinneen LC, Langemark M. The pharmacokinetics of the individual constituents of an aspirin-metoclopramide combination ('Migravess'). *Current Medical Research and Opinion*. 1984;9(3):153–156.
27. Nimmo W, Heading R, Wilson J, Tothill P, Prescott L. Inhibition of gastric emptying and drug absorption by narcotic analgesics. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1975;2(6):509–513.
28. Thummel KE, O'Shea D, Paine MF, Shen DD, Kunze KL, Perkins JD, et al. Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1996 may;59(5):491–502.
29. Gorski JC, Jones DR, Haehner-Daniels BD, Hamman MA, O'Mara EM, Hall SD. The contribution of intestinal and hepatic CYP3A to the interaction between midazolam and clarithromycin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1998;64(2):133–143.
30. Lundahl J, Regårdh CG, Edgar B, Johnsson G. Effects of grapefruit juice ingestion - Pharmacokinetics and haemodynamics of intravenously and orally administered felodipine in healthy men. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1997;52(2):139–145.
31. Kupferschmidt HHT, Ha HR, Ziegler WH, Meier PJ, Krähenbühl S. Interaction between grapefruit juice and midazolam in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1995;58(1):20–28.
32. Leonard RF, Knott PJ, Rankin GO, Robinson DS, Melnick DE. Phenytoin-salicylate interaction. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1981;29(1):56–60.
33. Prueksaritanont T, Ma B, Yu N. The human hepatic metabolism of simvastatin hydroxy acid is mediated primarily by CYP3A, and not CYP2D6. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2003;56(1):120–124.
34. Gilad R, Lampl Y. Rhabdomyolysis induced by simvastatin and ketoconazole treatment. *Clinical neuropharmacology*. 1999;22(5):295–297.
35. Itakura H, Vaughn D, Haller DG, O'Dwyer PJ. Rhabdomyolysis from cytochrome p-450 interaction of ketoconazole and simvastatin in prostate cancer. *The Journal of urology*. 2003 feb;169(2):613.

36. Murray M. Role of CYP pharmacogenetics and drug-drug interactions in the efficacy and safety of atypical and other antipsychotic agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2006;58(7):871–885.
37. Mahatthanatrakul W, Nontaput T, Rittitid W, Wongnawa M, Sunbhanich M. Rifampin, a cytochrome P450 3A inducer, decreases plasma concentrations of antipsychotic risperidone in healthy volunteers. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2007;32(2):161–167.
38. Maeda K, Tian Y, Fujita T, Ikeda Y, Kumagai Y, Kondo T, et al. Inhibitory effects of p-aminohippurate and probenecid on the renal clearance of adefovir and benzylpenicillin as probe drugs for organic anion transporter (OAT) 1 and OAT3 in humans. *Eur J Pharm Sci*. 2014;59:94–103.
39. Sue YJ, Shannon M. Pharmacokinetics of Drugs in Overdose. *Clinical Pharmacokinetics*. 1992;23(2):93–105.
40. Dechanont S, Maphanta S, Butthum B, Kongkaew C. Hospital admissions/visits associated with drug-drug interactions: A systematic review and meta-analysis. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*. 2014 may;23(5):489–497.
41. World Health Organization. *Global Tuberculosis Report*; 2017.
42. Lewinsohn DM, Leonard MK, Lobue PA, Cohn DL, Daley CL, Desmond E, et al. Official American thoracic society/Infectious diseases society of America/Centers for disease control and prevention clinical practice guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;64(2):111–115.
43. Mase SR, Ramsay A, Ng V, Henry M, Hopewell PC, Cunningham J, et al. Yield of serial sputum specimen examinations in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: A systematic review. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2007;11(5):485–495.
44. Karen RS, Megan H, Vivienne N, Philip CH, Andrew R, Jane C, et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*. 2006;6(9):570–581.
45. Dinnes J, Deeks J, Kunst H, Gibson a, Cummins E, Waugh N, et al. A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection. *Health technology assessment (Winchester, England)*. 2007;11(3):1–196.
46. Nahid P, Dorman SE, Alipanah N, Barry PM, Brozek JL, Cattamanchi A, et al. Executive Summary: Official American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases

Society of America Clinical Practice Guidelines: Treatment of Drug-Susceptible Tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;63(7):853–867.

47. Karumbi J, Garner P. Directly observed therapy for treating tuberculosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2015;5(5):CD003343.
48. World Health Organization WH, Global Tuberculosis Programme. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis : 2016 update. 2016;(October):56.
49. Case definition for extensively drug-resistant tuberculosis. *Releve epidemiologique hebdomadaire*. 2006;81(42):408.
50. World Health Organisation. Definitions and reporting framework for tuberculosis 2013 revision. December; 2014.
51. Bastos ML, Lan Z, Menzies D. An updated systematic review and meta-analysis for treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J*. 2017;49:803–2016.
52. UNAIDS-Joint United Nations Programme. UNAIDS Data 2017. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS); 2017.
53. Department of Health and Human Services. Guidelines for the use of antiretroviral agents in adults and adolescents living with HIV. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents; 2017.
54. De Cock KM, El-Sadr WM. When to Start ART in Africa — An Urgent Research Priority. *New England Journal of Medicine*. 2013 mar;368(10):886–889.
55. INSIGHT START Study Group, Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *New England Journal of Medicine*. 2015 aug;373(9):795–807.
56. TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, Danel C, Moh R, Gabillard D, Badje A, Le Carrou J, et al. A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *New England Journal of Medicine*. 2015 aug;373(9):808–822.
57. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *The New England journal of medicine*. 2006 nov;355(22):2283–96.
58. GILEAD. Annual Report; 2015.

59. Ruane PJ, DeJesus E, Berger D, Markowitz M, Bredeek UF, Callebaut C, et al. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of tenofovir alafenamide as 10-day monotherapy in HIV-1-positive adults. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2013;63(4):449–55.
60. Lee WA, He GX, Eisenberg E, Cihlar T, Swaminathan S, Mulato A, et al. Selective intracellular activation of a novel prodrug of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor tenofovir leads to preferential distribution and accumulation in lymphatic tissue. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005;49(5):1898–1906.
61. Birkus G, Wang R, Liu X, Kutty N, MacArthur H, Cihlar T, et al. Cathepsin a is the major hydrolase catalyzing the intracellular hydrolysis of the antiretroviral nucleotide phosphonoamidate prodrugs GS-7340 and GS-9131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007;51(2):543–550.
62. Birkus G, Kutty N, He Gx, Mulato A, Lee W, Mcdermott M, et al. Activation of 9- [(R) -2- [(S) - [(S) -1- (Isopropoxycarbonyl) ethyl] amino] and Other Tenofovir Phosphonoamidate Prodrugs by Human Proteases. *Molecular pharmaceutics*. 2008;74(1):92–100.
63. Sax PE, Wohl D, Yin MT, Post F, DeJesus E, Saag M, et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate, coformulated with elvitegravir, cobicistat, and emtricitabine, for initial treatment of HIV-1 infection: Two randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trials. *The Lancet*. 2015;385(9987):2606–2615.
64. Gelder JVAN, Deferme S, Naesens L, Clercq EDE, Mooter GVANDEN, Kinget R, et al. Intestinal Absorption Enhancement of the Ester Prodrug Tenofovir Disoproxil Fumarate Through Modulation of the Biochemical Barrier By Defined Ester Mixtures Abstract :. 2002;30(8):924–930.
65. Ray AS, Cihlar T, Robinson KL, Tong L, Vela JE, Fuller MD, et al. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006;50(10):3297–3304.
66. Pushpakom SP, Liptrott NJ, Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V, Albalater M, et al. Genetic variants of ABCC10, a novel tenofovir transporter, are associated with kidney tubular dysfunction. *J Infect Dis*. 2011;204(1):145–153.
67. Calcagno A, Cusato J, Marinaro L, Trentini L, Alcantarini C, Mussa M, et al. Clinical pharmacology of tenofovir clearance: a pharmacokinetic/pharmacogenetic study on plasma and urines. *The pharmacogenomics journal*. 2015 oct;6.

68. Taburet AM, Piketty C, Chazallon C, Vincent I, Gérard L, Calvez V, et al. Interactions between atazanavir-ritonavir and tenofovir in heavily pretreated human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004;48(6):2091–2096.
69. Kiser JJ, Burton JR, Anderson PL, Everson GT. Review and management of drug interactions with boceprevir and telaprevir.; 2012. 5.
70. Tibotec Pharmaceuticals. Hihglights of Prescribing Information; 2011.
71. Kearney BP, Sayre JR, Flaherty JF, Chen SS, Kaul S, Cheng AK. Drug-drug and drug-food interactions between tenofovir disoproxil fumarate and didanosine. *Journal of Clinical Pharmacology*. 2005;45(12):1360–1367.
72. Pietersen E, Ignatius E, Streicher EM, Mastrapa B, Padanilam X, Pooran A, et al. Long-term outcomes of patients with extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa: a cohort study. *Lancet*. 2014;383(9924):1230–1239.
73. Wan SH, Pentikainen PJ, Azarnoff DL. Bioavailability of aminosalicylic acid and its various salts in humans. 3. Absorption from tablets. *J Pharm Sci*. 1974;63(5):708–711.
74. HOLLANDER AG. Para-aminosalicylic acid-resin complex: studies in absorption, serum electrolytes, and tolerance. *American review of tuberculosis*. 1955 oct;72(4):548–51.
75. Peloquin CA, Henshaw TL, Huitt GA, Berning SE, Nitta AT, James GT. Pharmacokinetic evaluation of para-aminosalicylic acid granules. *Pharmacotherapy*. 1994;14(1):40–46.
76. Bridge EV, Carr DT. Clinical use of a single daily dose of para-aminosalicylic acid in association with isoniazid. *American review of tuberculosis*. 1958 nov;78(5):749–52.
77. Medical Research Council. Treatment of pulmonary tuberculosis with streptomycin and para-aminosalicylic acid; a Medical Research Council investigation. *British medical journal*. 1950 nov;2(4688):1073–85.
78. Lehmann J. The role of the metabolism of p-aminosalicylic acid (PAS) in the treatment of tuberculosis. Interaction with the metabolism of isonicotinic acid hydrazide (INH) and the synthesis of cholesterol. *Scand J Respir Dis*. 1969;50(3):169–185.
79. Russell WF, Kass I, Heaton AD, Dressler SH, Middlebrook G. COMBINED DRUG TREATMENT OF TUBERCULOSIS. III. CLINICAL APPLICATION OF THE PRINCIPLES OF APPROPRIATE AND ADEQUATE CHEMOTHERAPY TO THE TREATMENT OF PULMONARY TUBERCULOSIS. *Journal of Clinical Investigation*. 1959;38(8):1366–1375.

80. Mandel W, Cohn ML, Russell Jr WF, Middlebrook G. Effect of para-aminosalicylic acid on serum isoniazid levels in man. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956;91(3):409–411.
81. Committee for Medicinal Products for Human Use. Para-aminosalicylic acid (Lucane) assessment report. London, United Kingdom: European Medicines Agency; 2013. EMEA/H/C/002709.
82. NAKAO M. Studies on the Metabolism of PARA-Aminosalicylic Acid. *Journal of biochemistry*. 1957;44(6):327–335.
83. Way EL, Smith PK, al E. The absorption, distribution, excretion and fate of para-aminosalicylic acid. *J Pharmacol Exp Ther*. 1948;93(3):368–382.
84. Zheng J, Rubin EJ, Bifani P, Mathys V, Lim V, Au M, et al. para-Aminosalicylic acid is a prodrug targeting dihydrofolate reductase in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem*. 2013;288(32):23447–23456.
85. Hosoyamada M, Sekine T, Kanai Y, Endou H. Molecular cloning and functional expression of a multispecific organic anion transporter from human kidney. *The American journal of physiology*. 1999;276(1 Pt 2):F122–8.
86. Cha SHO, Sekine T, Fukushima Ji, Kanai Y, Kobayashi Y, Toxicology SHC. Identification and Characterization of Human Organic Anion Transporter 3 Expressing Predominantly in the Kidney. 2001;59(5):1277–1286.
87. Roth M, Obaidat A, Hagenbuch B. OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the SLCO and SLC22A gene superfamilies. *Br J Pharmacol*. 2012;165(5):1260–1287.
88. Pritchard JB, Miller DS. Mechanisms Mediating Renal Secretion of Organic-Anions and Cations. *Physiological reviews*. 1993;73(4):765–796.
89. Ho ES, Lin DC, Mendel DB, Cihlar T. Cytotoxicity of antiviral nucleotides adefovir and cidofovir is induced by the expression of human renal organic anion transporter 1. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2000 mar;11(3):383–393.
90. Takeda M, Narikawa S, Hosoyamada M, Cha SH, Sekine T, Endou H. Characterization of organic anion transport inhibitors using cells stably expressing human organic anion transporters. 2001;p. 113–120.
91. Asif AR, Steffgen J, Metten M, Grunewald RW, Müller GA, Bahn A, et al. Presence of organic anion transporters 3 (OAT3) and 4 (OAT4) in human adrenocortical cells. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*. 2005;450(2):88–95.

92. Uwai Y, Taniguchi R, Motohashi H, Saito H, Okuda M, Inui K. Methotrexate-loxoprofen interaction: involvement of human organic anion transporters hOAT1 and hOAT3. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2004;19(5):369–374.
93. Yamada A, Maeda K, Kamiyama E, Sugiyama D, Kondo T, Shiroyanagi Y, et al. Multiple human isoforms of drug transporters contribute to the hepatic and renal transport of olmesartan, a selective antagonist of the angiotensin II AT1-receptor. *Drug Metabolism and Disposition.* 2007;35(12):2166–2176.
94. Islinger F, Gekle M, Wright SH. Interaction of 2,3-dimercapto-1-propane sulfonate with the human organic anion transporter hOAT1. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 2001;299(2):741–7.
95. Fujino H, Saito T, Ogawa Si, Kojima J. Transporter-mediated influx and efflux mechanisms of pitavastatin, a new inhibitor of HMG-CoA reductase. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2005;57(10):1305–1311.
96. Nakagomi-Hagihara R, Nakai D, Tokui T. Inhibition of human organic anion transporter 3 mediated pravastatin transport by gemfibrozil and the metabolites in humans. *Xenobiotica.* 2007;37(4):416–426.
97. Kimura H, Takeda M, Narikawa S, Enomoto A, Ichida K, Endou H. Human organic anion transporters and human organic cation transporters mediate renal transport of prostaglandins. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 2002;301(1):293–298.
98. Windass AS, Lowes S, Wang Y, Brown CD. The contribution of organic anion transporters OAT1 and OAT3 to the renal uptake of rosuvastatin. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;322(3):1221–1227.
99. Cihlar T, Ho ES. Fluorescence-based assay for the interaction of small molecules with the human renal organic anion transporter 1. *Anal Biochem.* 2000;283(1):49–55.
100. Cihlar T, Ho ES, Lin DC, Mulato AS. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids.* 2001;20(4-7):641–648.
101. Takeda M, Khamdang S, Narikawa S, Kimura H, Kobayashi Y, Yamamoto T, et al. Human organic anion transporters and human organic cation transporters mediate renal antiviral transport. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;300(3):918–924.

102. Bleasby K, Hall LA, Perry JL, Mohrenweiser HW, Pritchard JB. Functional Consequences of Single Nucleotide Polymorphisms in the Human Organic Anion Transporter hOAT1 (SLC22A6). *Epidemiology*. 2005;314(2):923–931.
103. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Bentley DR, Chakravarti A, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526(7571):68–74.
104. Ogasawara K, Terada T, Motohashi H, Asaka JI, Aoki M, Katsura T, et al. Analysis of regulatory polymorphisms in organic ion transporter genes (SLC22A) in the kidney. *Journal of Human Genetics*. 2008;53(7):607–614.
105. Aoki M, Terada T, Kajiwarra M, Ogasawara K, Ikai I, Ogawa O, et al. Kidney-specific expression of human organic cation transporter 2 (OCT2/SLC22A2) is regulated by DNA methylation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2008;295(1):F165–F170.
106. Leabman MK, Huang CC, Kawamoto M, Johns SJ, Stryke D, Ferrin TE, et al. Polymorphisms in a human kidney xenobiotic transporter, OCT2, exhibit altered function. *Pharmacogenetics*. 2002;12(5):395–405.
107. Filipski KK, Mathijssen RH, Mikkelsen TS, Schinkel AH, Sparreboom A. Contribution of organic cation transporter 2 (OCT2) to cisplatin-induced nephrotoxicity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2009;86(4):396–402.
108. Iwata K, Aizawa K, Kamitsu S, Jingami S, Fukunaga E, Yoshida M, et al. Effects of genetic variants in SLC22A2 organic cation transporter 2 and SLC47A1 multidrug and toxin extrusion 1 transporter on cisplatin-induced adverse events. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2012;16(6):843–851.
109. Busch AE, Karbach U, Miska D, Gorboulev V, Akhoundova A, Volk C, et al. Human neurons express the polyspecific cation transporter hOCT2, which translocates monoamine neurotransmitters, amantadine, and memantine. *Molecular pharmacology*. 1998;54(2):342–52.
110. Tahara H, Kusuhara H, Endou H, Koepsell H, Imaoka T. A Species Difference in the Transport Activities of H₂ Receptor Antagonists by Rat and Human Renal Organic Anion and Cation Transporters. *Pharmacology*. 2005;315(1):337–345.
111. Choi Mk, Song Is. Genetic variants of organic cation transporter 1 (OCT1) and OCT2 significantly reduce lamivudine uptake. 2012;178(March):170–178.
112. Choi Mk, Jin Qr, Jin He, Shim Ck, Cho Dy, Shin Jg. Effects of Tetraalkylammonium Compounds with Different Affinities for Organic Cation Transporters on the Pharmacokinetics of Metformin. 2007;510(June):501–510.

113. Therapeutics E. Short Communication Characterization of Human Organic Cation Transporter 1 (OCT1 / SLC22A1) - and OCT2 (SLC22A2) -Mediated Transport of (YM155 Monobromide), a Novel Small Molecule Survivin Suppressant ABSTRACT :. 2010;38(1):1–4.
114. Feng B, Obach RS, Burstein AH, Clark DJ, De Morais SM, Faessel HM. Effect of human renal cationic transporter inhibition on the pharmacokinetics of varenicline, a new therapy for smoking cessation: An in vitro-in vivo study. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2008;83(4):567–576.
115. Kang HJ, Song IS, Shin HJ, Kim WY, Lee CH, Shim JC, et al. Identification and functional characterization of genetic variants of human organic cation transporters in a Korean population. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2007;35(4):667–675.
116. Hoffman JI. The incorrect use of Chi-square analysis for paired data. *Clinical and experimental immunology*. 1976;24(1):227–9.
117. Parvez MM, Kaisar N, Jae Lee Y, Jung Shin H, Jung JA, Shin JG. Organic Anion Transporter (OATs) Mediated Drug-Interactions Between Adefovir /Tenofovir And P-Amino Salicylic Acid (PAS), In Vitro. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2017;101(S1):S42.
118. Brown DD, Juhl RP, Warner SL. Decreased bioavailability of digoxin due to hypocholesterolemic interventions. *Circulation*. 1978;58(1):164–172.
119. CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review(S) Application Number 022577Orig1s000. FDA; 2011.
120. Reddy A, Norris DF, Momeni SS, Waldo B, Ruby JD. The pH of beverages in the United States. *Journal of the American Dental Association*. 2016;147(4):255–263.
121. Gilead. Annex I, Summary of Product Characteristics; 2000. March.
122. Park SI, Oh J, Jang K, Yoon J, Moon SJ, Park JS, et al. Pharmacokinetics of second-line antituberculosis drugs after multiple administrations in healthy volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015;59(8):4429–4435.
123. Mudie DM, Murray K, Hoad CL, Pritchard SE, Garnett MC, Amidon GL, et al. Quantification of gastrointestinal liquid volumes and distribution following a 240 mL dose of water in the fasted state. *Molecular Pharmaceutics*. 2014;11(9):3039–3047.
124. Parvez MM, Jung JA, Shin HJ, Kim DH, Shin JG. Characterization of 22 anti-tuberculosis drugs for the inhibitory interaction potential on organic anionic transporter polypeptides (OATPs) mediated uptake. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016;60(5):AAC.02765–15.

125. Neumanova Z, Cervený L, Ceckova M, Staud F. Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta. *Aids*. 2014;28(1):9–17.
126. Hong L, Xu C, O'Neal S, Bi Hc, Huang M, Zheng W, et al. Roles of P-glycoprotein and multidrug resistance protein in transporting para-aminosalicylic acid and its N-acetylated metabolite in mice brain. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2014;35(12):1577–1585.
127. Jia Wang E, Barecki-Roach M, Johnson WW. Elevation of P-glycoprotein function by a catechin in green tea. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002;297(2):412–418.
128. Shapiro AB, Fox K, Lam P, Ling V. Stimulation of P-glycoprotein-mediated drug transport by prazosin and progesterone. Evidence for a third drug-binding site. *European journal of biochemistry*. 1999 feb;259(3):841–50.
129. Ohkohchi N, Himukai M, Igarashi Y, Kasai M. Mechanism of D-xylose transport in human small intestine. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 1986;5(3):372–378.
130. Longstreth GF, Newcomer AD, Westbrook PR. Para-aminosalicylic acid-induced malabsorption. *The American Journal of Digestive Diseases*. 1972;17(8):731–734.
131. Levine RA. Steatorrhea Induced by Para-aminosalicylic Acid. *Annals of Internal Medicine*. 1968 jun;68(6):1265.
132. Boman G, Hanngren A, Malmberg A, Borga O, Sjöqvist F. Drug interaction: decreased serum concentrations of rifampicin when given with P.A.S. *Lancet*. 1971;1(7703):800.
133. Yoshigae Y, Imai T, Aso T, Otagiri M. Species differences in the disposition of propranolol prodrugs derived from hydrolase activity in intestinal mucosa. *Life Sciences*. 1998;62(14):1231–1241.
134. Fix JA, Alexander J, Cortese M, Engle K, Leppert P, Repta AJ. A comparison of oral and rectal absorption of L-dopa esters in rats and mice. *Pharmaceutical research*. 1990 apr;7(4):384–7.
135. Narawane M, Podder SK, Bundgaard H, Lee VHL. Segmental Differences in Drug Permeability, Esterase Activity and Ketone Reductase Activity in the Albino Rabbit Intestine. *Journal of Drug Targeting*. 1993;1(1):29–39.
136. Gilead. Viread Prescribing Information. 2012;p. 1–52.
137. Yuan LC, Dahl TC, Oliyai R. Degradation kinetics of oxycarbonyloxymethyl prodrugs of phosphonates in solution. *Pharmaceutical Research*. 2001;18(2):234–237.

138. Geboers S, Haenen S, Mols R, Brouwers J, Tack J, Annaert P, et al. Intestinal behavior of the ester prodrug tenofovir DF in humans. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;485(1-2):131–137.
139. Cundy KC, Sueoka C, Lynch GR, Griffin L, Lee WA, Shaw JP. Pharmacokinetics and bioavailability of the anti-human immunodeficiency virus nucleotide analog 9-[(R)-2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (PMPA) in dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998;42(3):687–690.
140. Deeks SG, Barditch-Crovo P, Lietman PS, Hwang F, Cundy KC, Rooney JF, et al. Safety, pharmacokinetics, and antiretroviral activity of intravenous 9-[2-(R)-(Phosphonomethoxy)propyl]adenine, a novel anti-human immunodeficiency virus (HIV) therapy, in HIV-infected adults. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998 sep;42(9):2380–4.
141. Hawkins T, Veikley W, St Claire RL, Guyer B, Clark N, Kearney BP. Intracellular pharmacokinetics of tenofovir diphosphate, carbovir triphosphate, and lamivudine triphosphate in patients receiving triple-nucleoside regimens. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2005 aug;39(4):406–11.
142. Furihata T, Morio H, Zhu M, Suzuki Y, Ide H, Tsubota A, et al. Human organic anion transporter 2 is an entecavir, but not tenofovir, transporter. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2017;32(1):116–119.
143. Yasar Ü, Tybring G, Hidestrand M, Oscarson M, Ingelman-Sundberg M, Dahl ML, et al. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metabolism and Disposition*. 2001;29(7):1051–1056.
144. Kaukonen KM, Olkkola KT, Neuvonen PJ. Fluconazole but not itraconazole decreases the metabolism of losartan to E-3174. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1998;53(6):445–449.
145. Mallants R, Oosterwyck KVAN, Vaeck LVAN, Mols R, Clercq EDE, Augustijns P. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) affects hepatobiliary elimination but not the intestinal disposition of tenofovir disoproxil fumarate and its metabolites. 2005;35(November):1055–1066.
146. Droste JAH, Verweij-Van Wissen CPWGM, Kearney BP, Buffels R, VanHorssen PJ, Hekster YA, et al. Pharmacokinetic study of tenofovir disoproxil fumarate combined with rifampin in healthy volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005 feb;49(2):680–684.
147. Barditch-crovo P, Deeks SG, Collier A, Safrin S, Coakley DF, Miller M, et al. Phase I / II Trial of the Pharmacokinetics , Safety , and Antiretroviral Activity of Tenofovir Disoproxil Fumarate in

- Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults Phase I / II Trial of the Pharmacokinetics , Safety , and Antiretroviral Activity of Tenofovir. 2001;45(10):2733–2739.
148. Mazaleuskaya LL, Sangkuhl K, Thorn CF, Fitzgerald GA, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: Pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. Pharmacogenetics and Genomics. 2015;25(8):416–426.
 149. Khamdang S. Interactions of Human Organic Anion Transporters and Human Organic Cation Transporters with Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2002 nov;303(2):534–539.
 150. Ibanez Y, Rodriguez JM, Lujan M, Grattan TJ, Martin AJ, Burnett I. A pharmacokinetic study investigating the rate of absorption of a 500 mg dose of a rapidly absorbed paracetamol tablet and a standard paracetamol tablet. Current Medical Research and Opinion. 2006;22(10):1893–1897.
 151. Zamek-Gliszczyński MJ, Nezasa Ki, Tian X, Bridges AS, Lee K, Belinsky MG, et al. Evaluation of the role of multidrug resistance-associated protein (Mrp) 3 and Mrp4 in hepatic basolateral excretion of sulfate and glucuronide metabolites of acetaminophen, 4-methylumbelliferone, and harmol in Abcc3^{-/-} and Abcc4^{-/-} mice. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2006;319(3):1485–91.
 152. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: Recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. Pharmaceutical Research. 2013;30(9):2174–2187.

8. EKLER

EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi

인제대학교 부산백병원 의생명연구윤리심의위원회	
Tel : 82-51-890-8954 FAX : 82-51-890-8902	부산시 부산진구 복지로 75 (개금동) (우) 47392

PAGE 1 OF 4

심의결과통보서

수 신 연구책임자 : 신재국

연구의뢰기관 : -

접수일자 2016 년 07 월 25 일에 접수된 [연구계획 초기심의의뢰서]에 대하여 인제대학교 부산백병원 의생명연구윤리심의위원회에서 [정규심의]를 통하여 아래와 같이 결정하였음을 통지합니다

IRB No.	16-0138		
연구과제명	건강한 대상자에서 PAS 가 tenofovir 의 약동학에 미치는 영향을 평가하기 위한 공개, 무작위 배정, 교차설계 임상시험		
승인유효기간	2017년 07월 31일		
연구 책임자	신재국		
심의 일자	2016년 08월 01일	심의 장소	청송관 B3 국제화상회의실
심의 결과	☒ 승인 ☐ 시정승인 ☐ 보완 ☐ 반려 ☐ 중지/보류 ☐ 심의면제		
정기보고주기	☐ 3개월 ☐ 6개월 ☒ 12개월 ☐ 연제 ☐ 해당없음		
내 용	1. 심의내용 (별첨 1) 2. 심의문서 목록 (별첨 2)		

2016년 08월 10일

인제대학교 부산백병원
의생명연구윤리심의위원회 위원장 이가영(인)



본 통보서에 기재된 사항은 인제대학교 부산백병원 의생명연구 윤리심의위원회의 기록된 내용과 일치함을 증명합니다. 본 의생명연구 윤리심의위원회는 약사법, 의료기기법, KGCP 및 ICH-GCP를 준수하며 생명윤리 및 안전에 관한 법률 등 관련 법규를 준수합니다.

INJE UNIVERSITY BUSAN PAIK HOSPITAL ETHICAL COMMITTEE OF HEALTH SCIENCES	
Phone: +82 51 890 8954	
Fax: +82 51 890 8902.	Gaegeum Dist. Bokji Ro. No:75 Busanjin, Busan, Post Code:47392

REVIEW REPORT

Principal Investigator: Jae-Gook Shin

Research Organisation: -

Depending on the application of the research plan on 2016.07.25, Inje University Busan Paik Hospital Ethical Committee of Health Sciences decided with the following:

IRB number	16-0138		
Research Title	Evaluation of the in vivo effects of PAS on tenofovir in an explanatory, randomized, cross-over clinical study on healthy volunteers.		
Approval Expiration Date	2017.07.31		
Principal Investigator	Prof. Dr. Jae-Gook Shin		
Review Date	2016.08.01	Meeting address	Blue conference room B3 floor
Review Result	☒ Approval ☐ Approval with revision ☐ Missing document ☐ Return ☐ Suspension/Retention ☐ Not applicable		
Regular report interval	☐ 3 months ☐ 6 months ☒ 12 months ☐ Exempted ☐ Not applicable		
Contents	1. Review Contents (Appendix 1) 2. Review List (Appendix 2)		

2016.08.10

Inje University Busan Paik Hospital
Ethical Committee of Health Sciences

Chairman
Prof. Dr. Ga-Young Lee (Stamp)

The contents of this document is committed to be same of the document written by Inje University Busan Paik Hospital Ethical Committee of Health Sciences. This study is complied to the regulations for Drug and biomedical devices by Ethical Committee of Health Sciences, Korean good clinical practice, ICH good clinical practice and bioethics and biosafety regulations and laws.

İNJE ÜNİVERSİTESİ BUSAN PAİK HASTANESİ SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK BİRİM KOMİTESİ	
Tel: +82 51 890 8954	Gaegeum Mah. Bokji Cad. No:75 Busanjin, Busan, Posta No:47392
Faks: +82 51 890 8902.	

İNCELEME SONUÇ BİLDİRİMİ

Araştırma Sorumlusu: Prof. Dr. Jae-Gook Shin

Araştırma Talep Eden Kuruluş: -

25.07.2016 tarihine kayıtlı araştırma planına göre İnje Üniversitesi Busan Paik Hastanesi Sağlık Araştırmaları Etik Kurulunda rutin inceleme ile aşağıdakiler karara bağlanmıştır:

IRB numarası		16-0138	
Araştırma Projesi Başlığı			
Sağlıklı Gönüllülerde PAS'ın ve tenofovir üzerine in vivo etkilerinin incelenmesi için eksploratuvar, randomize, çapraz geçişli klinik araştırma			
Onay Geçerlilik Tarihi	2017.07.31		
Araştırma Sorumlusu	Prof. Dr. Jae-Gook Shin		
İnceleme Tarihi	2016.08.01	Toplantı Adresi	B3 katı Mavi konferans salonu
İnceleme sonucu			
☒ Kabul	☐ Düzeltilip kabul edildi	☐ Eksik belge	☐ İade
☐ Durdurma/Bekletme	☐ Uygulanamaz		
Düzenli Rapor Aralığı			
☐ 3 ay	☐ 6 ay	☒ 12 ay	☐ Muaf
		☐ Uygulanamaz	
İçerik			
1. İnceleme İçeriği (Ek 1)			
2. İnceleme İstesi (Ek 2)			

2016.08.10

İnje Üniversitesi Busan Paik Hastanesi
Sağlık Araştırmaları Etik Birim Komitesi

Başkan
Prof. Dr. Ga-Young Lee (Mühür)

Bu belgede yazılı olan maddeler, İnje Üniversitesi Busan Paik Hastanesi Sağlık Araştırmaları Etik Birim Komitesinin yazıya döktüğü içerikle uyumluluğunu taahhüt eder. Bu çalışma, sağlık bilimleri araştırma etik kurulunun ilaç ve tıbbi cihaz kuralları, Kore iyi klinik uygulamaları ve ICH iyi klinik uygulamalarına, biyoetik ve biyogüvenlik hakkındaki kanun ve diğer düzenlemelere uygundur.

9. ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Said Nuri KALKIŞIM
Doğum yeri, tarihi : Trabzon, 02.07.1987
Uyruğu : T.C.
İletişim adresi : Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji
Anabilim Dalı Sıhhiye/ANKARA
İletişim telefonu : 0535 516 67 13

Eğitim

Doktora, 2018 : Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisans, 2012 : 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mesleki Deneyim

Araştırma Görevlisi : Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
(2012-2018) Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Konuk Araştırmacı : İnje Üniversitesi Farmakogenomik Araştırma Merkezi
(2016, 1yıl) Pusan, Güney Kore

Pratisyen Hekim : Çatak Devlet Hastanesi, VAN
(2012, 5ay)

Bilimsel Faaliyetler

Makaleler

1. THE EFFECTS OF ACUTE TENSION INCREASE ON RAT ESOPHAGEAL MUSCLE CONTRACTIONS: AN IN VITRO STUDY

Tutku Soyer, Said Kalkışım, Şule Yalçın, Ahmet Müderrisoğlu, Sadık Taşkın Taş, Feridun Cahit Tanyel, Mert Ertunç, Yıldırım Sara

J Pediatr Surg, 50(10), pp. 1691–1694

doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2015.01.008

2. Effects of Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 Enzymes and MDR1 Transporter on Pantoprazole Metabolism and Helicobacter pylori Eradication.

R. O. Karaca, S. Kalkisim, A. Altinbas, S. Kilincalp, I. Yuksel, M. T. Goktas, U. Yasar, A. Bozkurt, and M. O. Babaoglu

Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 1, 1–8. (2016)

doi.org/10.1111/bcpt.12667

3. LOWER CYP2C9 ACTIVITY IN TURKISH PATIENTS WITH BEHÇET'S DISEASE COMPARED TO HEALTHY SUBJECTS: A DOWN-REGULATION DUE TO INFLAMMATION?

Mustafa Tugrul Goktaş, Fazleen Hatta, Ozgur Karaca, Said Kalkisim, Levent Kilic, Ali Akdogan, Melih O. Babaoglu, Atilla Bozkurt, Anders Helldén, Leif Bertilsson, Umit Yasar

Eur. J. Clin. Pharmacol., vol. 71, no. 10, pp. 1223–1228, 2015.

doi.org/10.1007/s00228-015-1899-7

4. RELATIONSHIP BETWEEN GENETIC POLYMORPHISMS OF DRUG EFFLUX TRANSPORTER MDR1 (ABCB1) AND RESPONSE TO LOSARTAN IN HYPERTENSION PATIENTS.

Göktaş MT, Pepedil F, Karaca Ö, Kalkışım S, Cevik L, Gumus E, Guven GS, Babaoglu MO, Bozkurt A, Yasar U.

Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci., vol. 20, no. 11, pp. 2460–7, Jun. 2016.

5. Decreased Activity and Genetic Polymorphisms of CYP2C19 in Behçet's Disease
M. T. Goktas, R. O. Karaca, S. Kalkisim, L. Cevik, L. Kilic, A. Akdogan, M. O. Babaoglu, A. Bozkurt, L. Bertilsson, and U. Yasar
Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., vol. 121, no. 4, pp. 266–271, Oct. 2017.
<http://doi.org/10.1111/bcpt.12710>

Sözlü Sunum

1. BEHÇET HASTALARINDA CYP2C19 GENETİK POLİMORFİZMLERİNİN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ
Mustafa Göktaş, Said Kalkışım, Özgür Karaca, Levent Kılıç, Ali Akdoğan, Melih Önder Babaoğlu, Atilla Bozkurt, Ümit Yaşar
22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 4-7 Kasım 2013, s. 130
2. IN VITRO ÖZOFAGUS GERİMİNİN ÖZOFAGUS DÜZ KAS KONTRAKSİYON YANITLARINA ETKİSİ
Tutku Soyer, Said Kalkışım, Şule Yalçın, Ahmet Müderrisoğlu, Sadık Taşkın Taş, Mert Ertunç, Yıldırım Sara, Feridun Cahit Tanyel
32. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi, Trabzon, 2014
Çocuk Cerrahisi Dergisi Kongre Özel Sayısı Cilt 28, Ek sayı, 2014
3. Determination of CYP2C9 activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus
Mustafa Tuğrul Göktaş, Erdem Kamil Özer, Ahmet Müderrisoğlu, Said Kalkışım, Emel C. Emlakcıoğlu, Ümit Yaşar
7th European Congress of Pharmacology, Istanbul, 26-30 Haziran 2016
4. ÇOKLU İLAÇ DİRENCİ GENİ MDR1'İN C1236T GENETİK POLİMORFİZMİ İLE PLAZMA LANSOPRAZOL VE HİDROKSİ-LANSOPRAZOL DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ
Said Kalkışım, Ragıp Özgür Karaca, Ersin Gümüş, Mustafa Tuğrul Göktaş, Melih Önder Babaoğlu, Atilla Bozkurt, Aysel Yüce, Ümit Yaşar
23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Ankara, 7-10 Eylül 2015

Poster Sunumu

1. The Effects of Genetic Polimorphisms of The MDR1 and CYP 2C19, 3A4, 3A5 at Pantoprazole Metabolism and Treatment Response of Gastritis
Ragip Ozgur Karaca, Said Kalkisim, İlhami Yuksel, Akif Altinbas, Serta Kilincalp, Ümit Yasar, Atilla Bozkurt, Melih Onder Babaoglu
17th World Congress of Basic & Clinical Pharmacology, 13-18 July 2014, Cape Town South Africa
Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., vol. 115, no. s1, pp. 171, Jul. 2014.
doi.org/10.1111/bcpt.12259_4
2. Evaluation of CYP2C19 Activity at Colchicine Treated Patients
Mustafa Tuğrul Göktaş, Said Kalkışım, Ali Akdoğan, Melih O. Babaoglu, Ümit Yaşar, Atilla Bozkurt
7th European Congress of Pharmacology (EPHAR2016), 26-30 June 2016, Istanbul, TURKEY
3. Effects of Genetic Polymorphisms of Multi Drug Resistance Protein (MDR1) on Lansoprazole Metabolism in Pediatric Patients
Ragip Ozgur Karaca, Said Kalkisim, Ersin Gumus, Mustafa Tugrul Goktas, Aysel Yuce, Umit Yasar, Atilla Bozkurt, Melih O. Babaoglu
The 11th International ISSX Meeting, Busan, Republic of Korea, 12-16 June 2016
4. Effect of P-Amino Salicylic Acid (PAS) on the Pharmacokinetics of Tenofovir in Korean Healthy Subjects
M.M. Parvez, S. Kalkisim, H.-K. Choi, J.G. Park, J.A. Jung, M. Babaoglu, J.-G. Shin
13th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT), Prag, Çek Cumhuriyeti, Haziran 24-27, 2017
Clin. Ther., vol. 39, no. 8, p. e51, Aug. 2017.
doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.05.158
5. YENİ TANI ALMIŞ HİPERTANSİYON HASTALARINDA ÇOKLU İLAÇ Dİ-RENCİ GENİ MDR1 C1236T GENETİK POLİMORFİZMİNİN LOSARTAN

TEDAVİ YANITINA ETKİSİ

Mustafa Tuğrul Göktaş, Said Kalkışım, Funda Pepedil, Özgür Karaca, Lokman Çevik, Ersin Gümüş, Gülay Sain Güven, Melih Önder Babaoğlu, Atilla Bozkurt, Ümit Yaşar

23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Ankara, 7-10 Eylül 2015

6. CYP2C9 AKTİVİTESİ ÜZERİNE KOLŞİSİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Mustafa Tuğrul Göktaş, Said Kalkışım, Özgür Karaca, Ali Akdoğan, Melih Önder Babaoğlu, Atilla Bozkurt, Ümit Yaşar

23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Ankara, 7-10 Eylül 2015

Burslar

1. Tübitak 2214-A Doktora Sırası Yurt dışı Araştırma Bursu 2016-2017

Çalışılan Projeler

1. PANTOPRAZOL METABOLİZMASINDA SİTOKROM P450 2C19 VE İLAÇ TRANSPORTERİ MDR1 GENETİK POLİMORFİZMLERİNİN ETKİLERİ VE TEDAVİ YANITINDAKİ ÖNEMİ (No: 013 D10 101 001)

Proje Sorumlusu: Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU

2. BEHÇET HASTALARINDA CYP2C9 GENETİK POLİMORFİZM VE AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ (No: 09.D06.101.005)

Proje Sorumlusu: Prof. Dr. Ümit YAŞAR

3. IN VITRO ÖZOFAGUS GERİMİNİN ÖZOFAGUS DÜZ KAS KONTRAKSİYON YANITLARINA ETKİSİ

Proje Sorumlusu: Doç. Dr.Tutku Soyer (No: 910/2014)

4. AN OPEN-LABEL, RANDOMIZED, 2-SEQUENCE, 2-PERIOD CROSSOVER STUDY TO EVALUATE A PHARMACOKINETIC DRUG INTERACTION BETWEEN PARA-AMINOSALICYLIC ACID (PAS) –TENOFVIR IN HEALTHY SUBJECTS (ClinicalTrials.gov : NCT03070405)

Proje Sorumlusu: Prof. Dr. Jae-Gook Shin