

ELÄINLAJIEN VÄLISET JA LAJINSISÄISET FARMAKOGENEETTISET
EROT LÄÄKKEIDEN FARMAKOKINETIIKASSA

Anne Varjo
Lisensiaatin tutkielma
Helsingin yliopisto
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen laitos
Eläinlääketieteellinen farmakologia ja toksikologia
2017



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliininen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare – Author Anne Varjo			
Työn nimi - Arbetets titel – Title Eläinlajien väliset ja lajinsisäiset farmakogeneettiset erot lääkkeiden farmakokinetiikassa			
Oppiaine - Läroämne – Subject Eläinlääketieteellinen farmakologia ja toksikologia			
Työn laji - Arbetets art – Level Kirjallisuuskatsaus	Aika - Datum - Month and year 3/2017	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 54	
Tiivistelmä - Referat – Abstract			
<p>Genetiikan tutkimusmenetelmien kehittymisen myötä 2000-luvulla on löydetty useita geneettisiä, lääkeaineiden tehoon ja turvallisuuteen vaikuttavia eroja eläinlajien ja -yksilöiden välillä. Tietoa näistä eroista ei ole aiemmin koottu yhteen suomen kielellä. Kirjallisuuskatsaus keskittyy farmakogeneettisiin eroihin farmakokinetiikassa. Farmakodynaamiset erot ja lääkeaineiden väliset yhteisvaikutukset on rajattu tutkielman aiheen ulkopuolelle.</p> <p>Kuljetinproteiinit kuljettavat aktiivisesti muun muassa lääkeaineita solukalvojen yli soluun sisään tai solusta ulos. Kuljetinproteiineja ilmennetään muun muassa suolistossa, maksassa, munuaisissa, veri-aivoesteessä ja veri-verkkokalvoesteessä ja niillä on merkitys lääkeaineiden jakautumisessa elimistöön. Eläimillä tutkituin kuljetinproteiini on p-glykoproteiini, jonka tehtävä on poistaa lääke- ja vierasaineita esimerkiksi veri-aivoesteessä keskushermostosta. P-glykoproteiinia koodaa ABCB1-geeni (aiemmin MDR1-geeni), jossa useilla koiraroduilla (kuten colliet ja colliesukuiset rodut) esiintyvä mutaatio aiheuttaa puutteellisen proteiinin muodostumisen ja sitä kautta altistaa tiettyjen lääkeaineiden, kuten ivermektiinin, hermostotoksille haittavaikutuksille.</p> <p>ABCG2-geeni koodaa ABCG2-kuljetinproteiinia, joka estää lääke- ja vierasaineiden pääsyä esimerkiksi verkkokalvolle veri-verkkokalvoesteessä. Kissalla ABCG2-proteiini on puutteellinen, mikä altistaa kissan esimerkiksi fluorokinolonien aiheuttamalle retinatoksisuudelle ja toisaalta saattaa myötävaikuttaa kissan parasetamoliherkkyyteen.</p> <p>CYP450-entsyymijärjestelmä käsittelee lääkeaineita elimistössä helpommin eritettävään muotoon. CYP-entsyymejä ilmennetään muun muassa maksassa, munuaisissa ja suolistossa ja niiden aktiivisuudessa esiintyy vaihtelua eläinlajien ja -yksilöiden välillä. Vaihtelu entsyymien aktiivisuudessa saattaa johtaa lääkeaineiden tehon puutteeseen, yllättäviin haittavaikutuksiin tai esimerkiksi riittämättömään varoaikaan. Monet rauhoittavina aineina tai anestesiassa käytettävät lääkeaineet metaboloituvat CYP450-entsyymijärjestelmän kautta ja vaihtelu entsyymien aktiivisuudessa saattaa johtaa suurempaan tai pienempään annostarpeeseen eri koiraroduilla.</p> <p>Koiralla ja kissalla esiintyy lajinsisäistä vaihtelua tiopuriinimetyylitransferaasientsyymien (TPMT) aktiivisuudessa. Tämä vaihtelu voi johtaa esimerkiksi atsatiopriinin tehon puutteeseen tai yllättäviin haittavaikutuksiin.</p> <p>Koiralta puuttuvat N-asetyylitransferaasientsyymejä (NAT1 ja NAT2) koodaavat geenit ja kissalta puuttuvat NAT2-entsyymiä koodaavat geenit, millä voi olla vaikutusta esimerkiksi näiden lajien herkkyyteen sulfonamideille ja parasetamolille. Kissalta puuttuu myös UDP-glukuronosyylitransferaasientsyymi (UGT), mikä johtaa puutteelliseen parasetamolin metaboliaan ja aiheuttaa parasetamolitoksisuutta kissalle jo pienillä annoksilla.</p> <p>Kirjallisuuskatsausta voidaan hyödyntää eläinlääkärien käytännön työssä suunniteltaessa lääkehoitoja. Farmakokineettisten erojen tunteminen auttaa arvioimaan sopivaa lääkeannosta esimerkiksi valmisteyhteenvedosta poikkeavassa käytössä. Tutkielman tarkoitus on tuoda eläinlääkärien tietoisuuteen muitakin kuin tutkituimpia geneettisen vaihtelun aiheuttajia. Kirjallisuuskatsaus toimii myös tukena apteekkien farmaseuttisessa työssä valittaessa eläimelle sopivaa itsehoitoon tarkoitettua eläinlääkettä. Lisää tutkimustietoa tarvitaan geneettisten erojen kliinisestä merkityksestä.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords farmakogenetiikka, farmakokinetiikka, ABCB1, MDR1, p-glykoproteiini, CYP, TPMT, UGT, koira, kissa, hevonen, kana			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited			
HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Professori Outi Vainio, ELT Marja Raekallio			

Sisällys

1	JOHDANTO.....	1
2	ELÄINLAJIEN SISÄISET JA LAJIEN VÄLISET FARMAKOGENEETTISET EROT FARMAKOKINETIIKASSA.....	3
2.1	Yksilön pysyvät ja muuttuvat ominaisuudet	3
2.2	Lääkeainemetabolia	4
2.3	Solukalvojen kuljetinproteiinit	4
2.3.1	ABCB1-geeni ja sen koodaama p-glykoproteiini	5
2.3.2	ABCG2-geeni ja sen koodaama ABCG2-/BCRP-proteiini	12
2.3.3	ABCC-geenien koodaamat kuljetinproteiinit (MRP)	13
2.3.4	Eläinlajien väliset erot kuljetinproteiinien ilmentymisessä ja substraateissa.....	14
2.4	Sytokromi P450-entsyymit (CYP)	15
2.4.1	Koira	16
2.4.2	Kissa.....	19
2.4.3	Hevonen	22
2.4.4	Nauta, sika, lammas, vuohi	23
2.4.5	Kana ja broileri	23
2.4.6	Eläinlajien väliset erot CYP-entsyymiaktiivisuudessa.....	24
2.5	Muut entsyymit.....	29
2.5.1	Tiopuriinimetyylitransferaasi (TPMT).....	29
2.5.2	UDP-glukuronosyylitransferaasi (UGT)	30
2.5.3	N-asetyylitransferaasi (NAT)	31
3	POHDINTA	35
4	KIITOKSET	39
5	KIRJALLISUUSLUETTELO.....	40

Lyhenteet ja termit

affiniteetti = taipumus sitoutua johonkin

bioaktivaatio = prosessi, jossa (usein) ei-reaktiivisesta molekyylistä tulee elimistössä reagoimaan kykenevä tai reaktiivisempi

biotransformaatio = yhdisteen kemiallisen rakenteen muunto organismien tai niistä saatujen entsyymien avulla

BCRP = Breast Cancer Resistance Protein, ABCG2-geenin tuote, jonka tehtävä on samankaltainen kuin p-glykoproteiinin

CYP = ks. sytokromi P450 -entsyymijärjestelmä

detoksifikaatiokyky = kyky tehdä (vieras)aineita myrkyttömäksi

effluksi = ionien ja muiden molekyylien liike solusta solun ulkopuolelle

farmakogenetiikka = tieteenala, joka tutkii yksilön periytyvien geneettisten ominaisuuksien vaikutusta erilaisten (lääke)aineiden käyttäytymiseen ja vasteeseen elimistössä

farmakogenomiikka = tieteenala, joka tutkii yleisesti eri geenien vaikutusta lääkeaineiden käyttäytymiseen elimistössä

farmakodynamiikka = tieteenala, joka tutkii lääkeaineiden vaikutuksia elimistössä, ”mitä lääke tekee elimistölle”

farmakokinetiikka = tieteenala, joka tutkii elimistön tapaa käsitellä lääkeaineita, ”mitä elimistö tekee lääkeaineelle”

IC50-arvo = se inhibitorisen aineen pitoisuus, jolla 50 % entsyymitoiminnasta estyy

idiosynkraattinen = yksilölle tai ryhmälle ominainen erikoinen piirre tai ominaisuus

influksi = ionien ja muiden molekyylien liikettä solun sisään

mikrosomi = vesikkelin kaltainen, endoplasmisesta kalvostosta muodostunut kappale, jota tarvitaan CYP-entsyymien aktiivisuuden määrittämisessä jäljittelemään endoplasmista kalvostoa *in vitro*

mRNA = lähetti-RNA, jonka perusteella proteiineja tuotetaan ribosomeissa. mRNA:n ilmentymisen perusteella voidaan päätellä proteiinien tuotannon aktiivisuutta

MRP-proteiinit = multi-drug resistance associated proteins, ABCC-geeniperheen koodaamia proteiineja, joilla on samankaltainen tehtävä kuin p-glykoproteiinilla; esim. MRP1-proteiinia koodaa ABCC1-geeni jne.

NAT = n-asetyylitransferaasientsyymi

off label -käyttö = lääkkeen valmisteyhteenvedosta poikkeava käyttö hoidollisessa tarkoituksessa

ortologiset geenit = rakenteeltaan samankaltaiset geenit eri eläinlajeilla

p-glykoproteiini = ABCB1-geenin koodaama proteiini, jonka tehtävänä on suojella soluja lääke- ja vierasaineiden haitallisilta vaikutuksilta kuljettamalla niitä solukalvojen läpi soluista ulos

predispositio (lääketieteessä) = (geneettinen) alttius tietyille haittavaikutukselle, sairaudelle tms.

prokineettinen lääke = ruoansulatuskanavan liikkeitä lisäävä

pseudogeeni = toimivan geenin epätäydellinen kopio, joka esiintyy muualla genomissa

puhdistuma = plasmamäärä, jonka elimistö tietyssä aikayksikössä puhdistaa (lääke)aineesta

sytokromi P450 -entsyymijärjestelmä = ryhmä entsyymejä, jotka oksidatiivisen metabolian avulla huolehtivat lähes $\frac{3}{4}$ lääkeaineiden metaboliasta

TPMT = tiopuriinimetyylitransferaasientsyymi

UGT = UDP-glukuronosyylitransferaasientsyymi

valegeeni = kts. pseudogeeni

variaatio = vaihtelu

V_{\max} (farmakokinetiikassa) = suurin nopeus, jolla tietty, esim. entsyymikatalysoitu reaktio voi tapahtua

1 JOHDANTO

Lääkehoitojen merkitys eläinlääketieteessä on kasvanut 2000-luvulla, kun yhä useampaan sairauteen ja oireeseen on saatavilla eläimille rekisteröity lääke. Yksilölliset lääkehoidot ovat lisääntyneet erityisesti pieneläimillä. Geeniteknologian kehittymisen myötä eläinyksilöiden perimän vaikutus lääkehoitojen tehoon ja turvallisuuteen ymmärretään entistä paremmin ja lääkehoitoja voidaan suunnitella yksilöllisemmin. Esimerkiksi lemmikkien vuosittaisten syöpähoitojen määrä on kasvussa. Farmakogenetiikkaa hyödyntämällä voidaan vaikuttaa joidenkin syöpälääkkeiden tehoon eläimillä.

Lääkkeiden farmakokinetiikka jakautuu imeytymisvaiheen (absorption), jakautumisvaiheen (distribution), metaboliavaiheen (metabolism) ja erittymisvaiheen (excretion) reaktioihin. Farmakogeneettiset erot yksilöiden ja eläinlajien välillä voivat vaikuttaa kaikissa näissä vaiheissa. Tärkeimmät vaihtelut löytyvät kuljetinproteiinien toiminnasta (imeytyminen, jakautuminen, erittyminen) sekä vaihtelusta metaboliaentsyymien rakenteessa, toiminnassa ja aktiivisuudessa.

Yksi tunnetuimpia esimerkkejä rotujen kesken esiintyvistä variaatiosta farmakokinetiikassa on joidenkin collie-rotuisten koirien alttius ivermektiinin toksisille vaikutuksille keskushermostossa. Tutkimukset ovat osoittaneet tämän johtuvan toimimattomasta p-glykoproteiinista, jonka puutteellisuus heikentää veri-aivoestettä ja sallii ivermektiinin pääsyn keskushermostoon ABCB1-geenimutaatiota kantavilla yksilöillä (Mealey ym. 2001, Roulet ym. 2003).

Ihmistutkimuksissa saatua farmakokineettistä tietoa eri metaboliaentsyymien ja kuljetinproteiinien ominaisuuksista on hyödynnetty tutkittaessa näiden asioiden farmakogenetiikkaa eläimillä ja toisinpäin (Huang ym. 2015). Ihmisen ja eläinten (etenkin nisäkkäiden) lääkeaineita metaboloivia ja kuljettavia proteiineja koodaavissa geneeissä on runsaasti samankaltaisuuksia ja tätä tietoa voidaan hyödyntää kerättäessä tietoa eläinlajien, -rotujen ja -yksilöiden välisistä eroista (Huang ym. 2015).

Lääkeaineita metaboloivien entsyymien toiminnan geneettisen vaihtelun perusteella ihmiset voidaan jakaa seuraaviin luokkiin: (1) normaalin entsyymiaktiivisuuden omaavat, (2) hitaat metaboloijat, joilla on vain vähän tai ei ollenkaan entsyymiaktiivisuutta, (3) keskitason metaboloijat, joilla on yksi toimiva alleeli ko. entsyymiä koodaavassa geenissä, (4) ultranopeat metaboloijat, joilla yleensä on useampia aktiivista entsyymiä koodaavia geenejä (Ingelman-Sundberg 2001). Jyrsijöiden CYP-entsyymiekspressiota ja -aktiivisuutta on käytetty apuna ihmislääketutkimuksessa, koska jyrsijöillä on havaittu samankaltaisuuksia metaboliassa verrattuna ihmisiin (van Beusekom ym. 2010). Viime vuosina on kuitenkin tehty vertailututkimuksia eläinlääketieteellisesti kiinnostavien lajien välillä ja löydetty huomattavia eroja. Eläinlajien välisten erojen tiedostaminen auttaa arvioimaan myös esimerkiksi kissalle sopivaa lääkeannosta *off label* -käytössä tarkemmin kuin pelkän metabolisen painon avulla (van Beusekom ym. 2010).

Työn tavoitteena oli laatia hakuteosmainen kirjallisuuskatsaus farmakogeneettisten erojen kliinisestä merkityksestä. Katsaus on suunnattu erityisesti praktisoiville eläinlääkäreille ja apteekkien henkilökunnalle lääkehoitojen suunnittelun ja lääkeneuvonnan tueksi. Johanna Antila on kirjoittanut 2009 liseniaatin tutkielmansa koirien farmakogeneettisten erojen kliinisestä merkityksestä, mutta muita eläinlajeja koskevaa tuoretta tutkimustietoa ei ole koottu yhteen suomen kielellä. Lisäksi genetiikan alalla uusia löydöksiä ilmaantuu vuosittain, joten tiedon päivittämisen tarve on jatkuva.

Työ on rajattu eläinlajien, -rotujen ja -yksilöiden välisiin eroihin lääke- ja vierasaineiden farmakokinetiikassa, eli farmakogeneettisiä eroja esimerkiksi reseptoritasolla ei käsitellä tässä kirjallisuuskatsauksessa. Koiralla on kuvattu tässä työssä käsiteltävien kuljetinproteiinien lisäksi muitakin kuljetinproteiineja, kuten ABCB4-geenin koodaama proteiini (Spencer ym. 2010). Nämä kuljetinproteiinit on rajattu työn ulkopuolelle, koska niiden merkityksestä nimenomaan lääkeaineiden kinetiikkaan ei ole kirjoitushetkellä tutkimustietoa tai niiden toiminta ei liity pääasiallisesti lääkeaineiden kuljetukseen.

2 ELÄINLAJIEN SISÄISET JA LAJIEN VÄLISET

FARMAKOGENEETTISET EROT FARMAKOKINETIIKASSA

2.1 Yksilön pysyvät ja muuttuvat ominaisuudet

Perimä määrittelee yksilön lajin, rodun, koon ja useat muut pysyvät ominaisuudet. Eläinlajikohtaiset fysiologiset ja anatomiset erot saattavat olla suuria ja ne on otettava huomioon kliinisessä eläinlääketieteessä (Modric ja Martinez 2011). Eri lajien yksilöiden, esimerkiksi ihmisten ja koirien, elimistöt kuitenkin käsittelevät lääke- ja muita vierasaineita hyvin samankaltaisin keinoin (Fleischer ym. 2008).

Suun kautta otettavien lääkkeiden metaboliassa esiintyy tietyille koiraroduille tyyppisiä idiosynkraattisia eroja, jotka saattavat johtua ruokavalion vaikutuksesta ruoansulatuskanavan fysiologiaan ja lääkkeiden imeytymiseen (Oswald ym. 2015) Lisäksi pienikokoisilla koirilla pitkävaikutteiseksi tarkoitettut lääkemuodot saattavat jäädä suurikokoisia yksilöitä helpommin mahalaukuun ”loukkuun”, jolloin lääkkeen imeytyminen ohutsuolessa ei tapahdu toivotulla tavalla (Oswald ym. 2015). Oswaldin ym. (2015) tutkimuksissa käytettiin kuitenkin samankokoista kapselia kaikenkokoisilla koirilla tämän toteamiseen, joten erot saattavat johtua anatomiasta, esimerkiksi ohutsuolen tai pyloruksen sulkijalihaksen pienemmästä läpimitasta, eivätkä niinkään fysiologisista eroista.

Yksilöiden muuttuvia ominaisuuksia ovat esimerkiksi ikä, sukupuoli, ravitsemustila, elimistön rasvapitoisuus ja lihavuuskunto, jotka vaikuttavat lääkeainemetaboliaan elimistössä (Modric ja Martinez 2011). Vastasyntyneiden tai kasvuikäisten eläinten ja aikuisten eläinten sekä toisaalta keski-ikäisten ja vanhojen eläinten välisistä eroista farmakokinetiikassa on vain rajoitetusti tutkimustietoa olemassa. Toisaalta lääkeaineiden farmakokineettiset tutkimuksia tehdään usein pienellä joukolla terveitä yksilöitä, ja lääkeaineet saattavat käyttäytyä hyvin eri tavoin sellaisissa yksilöissä, joilla on jokin perussairaus (Martinez ym. 2013).

2.2 Lääkeainemetabolia

Lääkeainemetabolian tarkoituksena on muuttaa elimistölle vieraita aineita yleensä vähemmän aktiivisiksi, vesiliukoisemmiksi ja polaariseemmiksi yhdisteiksi, jotka elimistö kykenee erittämään virtsaan tai ulosteeseen (van Beusekom ym. 2010). Faasin I metaboliareaktioissa käsiteltävään molekyyliin liitetään jokin funktionaalinen, usein hapen sisältävä, ryhmä (Nebert ja Gonzalez 1987). Faasin II metaboliareaktioissa toimivat entsyymit puolestaan käyttävät usein tätä funktionaalista ryhmää glukuronidaatio- tai sulfaatioreaktioissa tai glutationi- tai glysiinikonjugaatiokohtana (Nebert ja Gonzalez 1987). Lääkeaineen metabolia vaatii yleensä sekä faasin I että faasin II entsyymejä (Nebert ja Gonzalez 1987).

2.3 Solukalvojen kuljetinproteiinit

Ravintoaineiden, ionien, kuona-aineiden, toksiinien ja monien lääkeaineiden aktiivinen kuljetus solukalvojen läpi tapahtuu kuljetinproteiinien välityksellä (Ohtsuki ja Terasaki 2007). Ionien ja muiden molekyylien liikettä solun sisään kutsutaan nimellä influksi ja näiden liikettä solun ulkopuolelle nimellä effluksi. Proteiinit, jotka kuljettavat substraattejaan esimerkiksi verenkierrosta sisään aivosoluihin, ovat influksikuljettajia ja proteiinit, jotka kuljettavat vierasaineita esimerkiksi veri-aivoesteen läpi solusta ulos verenkiertoon, ovat effluksikuljettajia (Ohtsuki ja Terasaki 2007). Eräs laaja effluksikuljetinproteiinien perhe ovat ATP:tä sitovat kuljetinproteiinit (ATP-Binding Cassette Proteins, ABC), jotka kuljettavat ATP:stä saadun energian avulla molekyyliä solukalvojen läpi (Martinez ym. 2008). ABC-proteiinien ryhmä koostuu useasta samantyyppisestä kuljetinproteiinista (Martinez ym. 2008). ABC-kuljetinproteiineja esiintyy hyvin monissa kudoksissa eri puolilla elimistöä (suolistossa, maksassa, munuaisissa, veri-aivoesteessä, veri-retinaesteessä ym.) ja niiden substraatit poikkeavat osittain toisistaan (Martinez ym. 2008, Schrickx ja Fink-Gremmels 2008). Influksikuljetinproteiineista tunnetaan esimerkiksi koiralla SLC-kuljetinproteiiniperhe (Solute Carrier Proteins), johon kuuluvat muun muassa orgaanisten anionien kuljettajat (OAT, Organic Anion Transporters) (Schrickx ja Fink-Gremmels 2008). Influksikuljetinproteiinien merkityksestä eri eläinten farmakokinetiikassa on vielä varsin vähän tutkimustietoa.

Monet eläimille rekisteröidyt ja niille käytössä olevat lääkkeet, kuten digoksiini, verapamiili, loperamidi, simetidiini, ivermektiini, makrolidit ja fluorokinolonit, ovat yhden tai useamman kuljetinproteiinin substraatteja (Schrickx ja Fink-Gremmels 2008). Kuljetinproteiineilla on iso osuus myös lemmikkien syöpähoidoissa käytettävien lääkkeiden, kuten doksorubisiinin, daunorubisiinin, vinkristiinin, vinblastiinin ja metotreksaatin kuljetuksessa (Schrickx ja Fink-Gremmels 2008). Geneettisistä eroista johtuvat puutteelliset tai muuntuneet proteiinit voivat aiheuttaa yllättäviäkin haitta- tai yhteisvaikutuksia, joten solukalvojen kuljetinproteiinit ja näitä koodaavien geenien mutaatioiden yksilötestausmenetelmien kehittäminen ovat olleet viime vuosina eläinlääketieteellisen tutkimuksen mielenkiinnon kohde (Schrickx ja Fink-Gremmels 2008, Stiedl ja Weber 2017). Solukalvojen kuljetinproteiineja ilmennetään eri lajeilla osittain eri kudoksissa tai elimissä ja toisaalta myös lajienväliset erot kuljetinproteiinien substraateissa on huomioitava ennen tutkimustiedon ekstrapolointia lajista toiseen (Leslie ym. 2005).

2.3.1 ABCB1-geeni ja sen koodaama p-glykoproteiini

Yksi tutkituimmista esimerkeistä solukalvon ABC-perheen effluksikuljetinproteiineista on p-glykoproteiini, jota koodaa ABCB1-geeni (aiemmin MDR-1-geeni, Multi-Drug Resistance 1) (Martinez ym. 2008, Zhu ym. 2015). P-glykoproteiinia esiintyy muun muassa maksassa, veri-aivo-esteessä, suolistossa, munuaisten tubulaarisoluissa, lisämunuaisissa, sappitiehyiden soluissa ja istukan osana, joissa sen tehtävä on estää vierasaineiden pääsyä solukalvojen läpi (Thiebaut ym. 1987, Sugawara ym. 1988, Cordon-Cardo ym. 1989).

Ivermektiinin aiheuttama hermostotoksisuus joillekin collieyksilöille on tunnettu jo 30 vuoden ajan (Paul ym. 1987). Mealey ym. (2001) löysivät ABCB1-geenistä neljän emäsparin pituisen deleetiomutaation (ABCB1-1 Δ -mutaatio), joka johtaa vaurioituneen p-glykoproteiinin tuotantoon ja selittää ivermektiinin pääsyn keskushermostoon toksisina pitoisuuksina. Mutaatio on yhdistetty alun perin collie-rotuisiin koiriin, mutta sittemmin sitä on löydetty useasta muustakin rodusta, tosin harvinaisempana (Neff ym.

2004, Mealey ym. 2005, Mealey ja Meurs 2008, Gramer ym. 2011, Firdova ym. 2016, Tappin ym. 2012).

Neff ym. (2004) ovat esittäneet, että ABCB1-1Δ-mutaatiota kantavat koirat ovat kaikki saman, 1800-luvulla (aikana ennen virallisten koirarotujen eriytymistä) eläneen yksilön jälkeläisiä. Yli 4000 näytettä puhdasrotuisista koirista käsittäneessä tutkimuksessa ABCB1Δ-mutaatio löytyi yhdeksästä rodusta, jotka olivat australiapaimenkoira, kääpiökokoinen australiapaimenkoira, collie, englanninpaimenkoira, pitkäkarvainen whippet, mcNabinpaimenkoira, vanhaenglanninlammaskoira, shetlanninlammaskoira ja silkkivinttikoira (Neff ym. 2004). Näistä pitkäkarvaista whippetiä ja silkkivinttikoiraa ei pidetä colliesukuisina paimenkoirarotuina, mutta ne testattiin, koska oli olemassa anekdotaalista tietoa rodun yksilöiden ivermektiiherkkyydestä (Neff ym. 2004).

Yhdysvalloissa valkoinenpaimenkoira luetaan saksanpaimenkoiran värimuunnokseksi eikä omaksi rodukseen kuten Euroopassa, ja tästä saattaa johtua se, että ABCB1-1Δ-mutaatiota on saksanpaimenkoiralla raportoitu Yhdysvalloissa, mutta ei Euroopassa (Gramer ym. 2011). Asia olisi Gramerin ym. (2011) mukaan kuitenkin hyvä varmentaa lisätutkimuksin. Taulukkoon 1 on koottu eri tutkimusten tuloksia ABCB1-1Δ-mutaation esiintymisestä koiraroduilla eri puolilla maailmaa. Taulukossa 2 on listattu koirarotuja, joilta ABCB1-1Δ-mutaatiota ei ole toistaiseksi löydetty. Osa näistä roduista on melko läheistäkin sukua roduille, joissa mutaation frekvenssi on suuri.

Taulukko 1.ABCB1-1Δ-mutaation yleisyys (%) erierotuisilla koirilla eri puolilla maailmaa.

Mut/mut = mutaatio homotsygoottisena, mut/nor = yksi mutaation sisältävä ja yksi villityypin alleeli, nor/nor = homotsygoottinen villityypin suhteen

Alue tai maa	Rotu	Tutkittuja koiria (n)	ABCB1-1Δ (mut/mut)	ABCB1-1Δ (mut/nor)	ABCB1-1Δ (nor/nor)
Iso-Britannia (Tappin ym. 2012)	Sileäkarvainen collie	11	45 %	55 %	0 %
	Karkeakarvainen collie	29	52 %	38 %	10 %
	Australianpaimenkoira	28	25 %	43 %	32 %
	Shetlanninlammaskoira	49	12 %	47 %	41 %
	Vanhaenglanninlammaskoira	33	0 %	21 %	79 %
	Bordercollie	43	0 %	5 %	95 %
Brasilia (Monobe ym. 2015)	Australianpaimenkoira	16	0 %	31,3 %	68,2 %
	Collie	103	35,9 %	50,5 %	13,6 %
	Shetlanninlammaskoira	76	0 %	15,8 %	84,2 %
Australia (Mealey ym. 2005)	Australianpaimenkoira	14	21 %	43 %	36 %
	Collie	33	24 %	64 %	12 %
	Shetlanninlammaskoira	7	0 %	43 %	57 %
Pohjois-Amerikka (Mealey ja Meurs 2008)	Australianpaimenkoira	1421	10 %	37 %	53 %
	Bordercollie	306	0,003 %	1 %	98 %
	Collie	1424	35 %	42 %	23 %
	Saksanpaimenkoira	166	2 %	8 %	90 %
	Pitkäkarvainen whippet	24	0 %	58 %	42 %
	Kääpiökokoinen australianpaimenkoira	285	3 %	34 %	63 %
	Vanhaenglanninlammaskoira	40	0 %	2,5 %	97,5 %
	Shetlanninlammaskoira	448	1 %	11 %	88 %
	Silkkivinttikoira	16	0 %	31 %	69 %
	Paimensukuiset sekarotuiset	312	1 %	10 %	89 %
	Sekarotuiset, suku ei tiedossa	238	3 %	8 %	89 %
Ranska (Hugnet ym. 2004)	Collie	25	48 %	32 %	20 %
Japani (Kawabata ym. 2005)	Collie	12	41,7 %	33,3%	25,0 %
	Australianpaimenkoira	9	11,1 %	44,4 %	44,4 %
	Shetlanninlammaskoira	42	0 %	2,4 %	97,6 %
Saksa (Gramer ym. 2011)	Collie	2227	36 %	45 %	19 %
	Pitkäkarvainen whippet	20	15 %	60 %	25 %
	Shetlanninlammaskoira	960	8 %	43 %	49 %
	Australianpaimenkoira	1908	6 %	32 %	62 %
	Miniat. australianpaimenkoira	72	3 %	43 %	54 %
	Wäller	110	0 %	35 %	65 %
	Valkoinenpaimenkoira	274	2 %	23 %	75 %
	Vanhaenglanninlammaskoira	67	0 %	8 %	92 %
	Bordercollie	527	0,4 %	0,9 %	98,7 %
	Saksa, Hollanti, Sveitsi, Itävalta (Geyer ym. 2007)	Valkoinenpaimenkoira	217	2,3 %	21,5 %
Suomi (Firdova ym. 2016)	Collie	214	39,2 %	43 %	17,8 %
	Shetlanninlammaskoira	39	12,8 %	35,9 %	51,3 %
Tšekin tasavalta (Firdova ym. 2016)	Collie	346	29,2 %	46,8 %	24 %
	Shetlanninlammaskoira	247	3,3 %	45,3 %	51,4 %
	Australianpaimenkoira	195	10,8 %	50,2 %	39 %

Taulukko 2. Rotuja, joilta ABCB1-1Δ-mutaatiota ei toistaiseksi ole löydetty tutkimuksissa

Rotu	n	
Akita inu	38	(Eurooppa, Firdova ym. 2016)
Australiankarjakoira	105	(Neff ym. 2004)
Basset	8	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Belgianpaimenkoira malinois	63	(Neff ym. 2004)
Belgianpaimenkoira tervueren	133	(Saksa, Gramer ym. 2011)
Bichon frise	4	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Borderterrieri	5	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Bokseri	18	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Bullterrieri	7	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Cavalier kingcharlesinspanieli	14	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Cockerspanieli	21	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Dalmatiankoira	7	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Dobermanni	10	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Elo	177	(Saksa, Fecht ym. 2007)
Englanninpaimenkoira	28	(Pohjois-Amerikka, Mealey ja Meurs 2008)
Englanninspringerspanieli	30	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Englanninvinttikkoira	117	(Neff ym. 2004; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Gordoninsetteri	1	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Irlanninsetteri	9	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Irlanninsusikoira	6	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Isovillakoira	5	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Jackrussellinterrieri	115	(Neff ym. 2004; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Labradorinnoutaja	197	(Neff ym. 2004; Japani, Kawabata ym. 2005; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Lurcher	13	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Lyhytkarvainen saksanseisoja	5	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Kelpie	109	(Neff ym. 2004)
Kultainen noutaja	60	(Japani, Kawabata ym. 2005; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Mäyräkoira	14	(Japani, Kawabata ym. 2005; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Newfoundlandinkoira	47	(Neff ym. 2004; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Partacollie	181	(Neff ym. 2004; Saksa, Geyer ym. 2005; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Rottweiler	9	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Saksanpaimenkoira	191	(Neff ym. 2004; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012; Brasilia, Monobe ym. 2015)
Saluki	45	(Neff ym. 2004)
Shiba inu	21	(Japani, Kawabata ym. 2005)
Shih tzu	78	(Neff ym. 2004; Japani, Kawabata ym. 2005; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Sileäkarvainen noutaja	7	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Staffordshirebullterrieri	12	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Tanskandoggi	12	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Toyvillakoira	11	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Valkoinen länsiylämaanterrieri	20	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Venäjänvinttikkoira	91	(Neff ym. 2004)
Villakoira	33	(Neff ym. 2004)
Weimarinseisoja	4	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)
Whippet	172	(Neff ym. 2004; Iso-Britannia, Tappin ym. 2012; Brasilia, Monobe ym. 2015)
Yorkshirenterrieri	13	(Iso-Britannia, Tappin ym. 2012)

Mealeyn (2008) mukaan FDA:n (Yhdysvaltojen lääkeviranomaisen) hyväksymiä sydänmadon ehkäisyyn tarkoitettuja ivermektiinivalmisteita voidaan käyttää turvallisesti valmistajan suositusannoksilla (FDA:n hyväksymä annos 6 µg/kg) sydänmatoindikaatioissa, vaikka koira olisi homotsygoottinen ABCB1-geenin mutaation suhteen. Myös selamektiini, milbemysiini ja moksidektiini ovat osoittautuneet turvallisiksi sydänmadon ehkäisyyn ABCB1-1Δ-mutaatiota homotsygoottisena kantavilla koirilla, kun käytetään valmistajan suosituksia lääkkeiden annostuksista ja antoreiteistä (Mealey 2008). Mealey (2008) ja Sherman (2011) suosittelivatkin, että sydänmadon ehkäisyä valmistajan suositusannoksilla ei tulisi välttää puutteellisen p-glykoproteiinin pelossa. Mikäli kuitenkin tarvitaan korkeita ivermektiiniannoksia (kuten ivermektiiniä) tai valmistajan suositusannoksia yhdistetään p-glykoproteiinin substraatteihin, olisi rotujen, joilla mutaatio on havaittu, edustajille hyvä tehdä geenitesti ennen lääkehoitoa (Sherman 2011).

Useiden eläinlääketieteessä yleisesti käytettyjen sedatiivien ja anesteettien, kuten asepromatsiinin ja butorfanolin, oletetaan olevan p-glykoproteiinin substraatteja (Mealey 2006). On myös löytynyt viitteitä siitä, että koirat, jotka ovat homotsygoottisia ABCB1-mutaation suhteen, ovat herkempiä yleisesti käytettyjen sedatiivien ja analgeettien, kuten morfiinin, vaikutuksille (Mealey 2006). Mealey (2006) esittääkin butorfanolin annossuositukseksi 50 % tavanomaisesta niillä koirilla, jotka ovat homotsygoottisia ABCB1-1Δ-mutaation suhteen. Deshpande ym. (2016) osoittivat, että ABCB1-mutaation suhteen homotsygoottisilla koirilla asepromatsiinin biologinen hyötyosuus on tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin heterotsygoottisilla tai mutaation suhteen villityypin koirilla, jolloin asepromatsiinin sedatiivinen teho on suurempi ja pidempi. Deshpande ym. (2016) tulivat johtopäätökseen, että koirilla, jotka ovat homotsygoottisia ABCB1-mutaation suhteen, tulisi asepromatsiinia sedatiivina käytettäessä laskea sen annosta ja tarkkailla koira huolellisesti rauhoituksen aikana riippumatta lääkkeen antoreitistä.

Mealey ym. (2010) totesivat, että ABCB1-1Δ-mutaatio ei koiralla vaikuta merkitsevästi p-glykoproteiinin substraattien kinidiinin, loperamidin, nelfinaviirin ja siklosporiinin imeytymiseen suolistosta. Kuitenkin collie-rotuisilla koirilla esiintyy

loperamiditoksisuutta (Sartor ym. 2004), mutta ABCB1-genotyyppi kykenee ainoastaan osittain ennustamaan, millä yksilöllä loperamidi aiheuttaa haitallisia keskushermostovaikutuksia, ja osittain toksisuuden taustalla oletetaan olevan muita, toistaiseksi tuntemattomia tekijöitä. (Myers ym. 2015).

P-glykoproteiinia ilmennetään myös kasvainsoluissa ja p-glykoproteiinin toiminnan estoa ABCB1-geenin suhteen villityypin koirilla voidaan hyödyntää syövän hoidossa lääkaineiden suuremman pitoisuuden saavuttamiseksi kasvainsoluissa (Mealey 2006). P-glykoproteiinin ja muiden solukalvon kuljetinproteiinien (BCRP, MRP1 ja MRP3) toiminnan heikentäminen saattaa auttaa syövän hoitoon käytettävien lääkkeiden kulkeutumisesta solun sisälle ja johtaa hoitojen parempaan tehoon (Pawlowski ym. 2013). Syöpälääkkeistä esimerkiksi vinblastiinin soluun pääsyä koiralla säätelevät p-glykoproteiini ja MRP1, sisplatiinin soluun pääsyä p-glykoproteiini, BCRP ja MRP1 sekä syklofosfamidin soluun kuljetusta BCRP (Pawlowski ym. 2013). Doksorubisiinin ja vinkristiinin resistenssi syöpäsoluissa on saatu kumottu p-glykoproteiinin estäjällä koiralla *in vitro* (Zandvliet ym. 2014). Esimerkiksi vinkristiinin suositusannoksia käytettäessä lähes 90 % ABCB1-1Δ-mutaatiota kantavista koirista sai hematologisia haittavaikutuksia (lähinnä neutropeniaa), kun ABCB1-geenin suhteen villityypin koirista 11 % sai haittavaikutuksia (Mealey ym. 2008).

Lind ym. (2013) osoittivat, että bordercollieilla, jotka olivat villityyppiä ABCB1-1Δ-mutaation suhteen, esiintyi merkitsevästi normaalia useammin vinkristiinihoitoon liittyvää myelosuppressiota. Mahdollisia mekanismeja tälle haittavaikutukselle voisivat olla mutaatiot ABCB1-geenin promoottorialueella tai introneissa, epigeneettiset vaikutukset p-glykoproteiinin ilmentymiseen tai toimintaan sekä mutaatiot CYP3A-entsyymiperheen entsyymeissä (Lind ym. 2013). Mealey ym. (2008) suosittelevat mutaation mahdollisten kantajien genotyyppitystä ja hoitoannoksen laskemista mutaatiota kantavilla koirilla.

Makrosykliset laktonit, kuten avermektiinit, aiheuttavat haittavaikutuksia myös sellaisilla koirayksilöillä, jotka ovat villityyppiä ABCB1-geenin suhteen, usein tosin huomattavasti korkeammilla annostasoilla (Bissonnette ym. 2008, Parton ym. 2013). Bissonnette ym. (2008) havaitsivat, että ABCB1-1Δ-mutaatio ei ollut vastuussa

systemisiä makrosyklisiä laktoneita yleistyneeseen demodikoosiin saaneiden eicollierotuisten koirien hermosto-oireista. Parton ym. (2013) kuvasi Uudessa-Seelannissa tapauksen, jossa uudenseelanninpaimenkoira sai hermosto-oireita abamektiinistä, mutta koiralla ei ollut ABCB1-1Δ-mutaatiota. Mahdollisia muita mekanismeja hermostotoksisuudelle näillä koirilla saattaisivat olla toistaiseksi tuntemattomat mutaatiot muissa kuljetinproteiineissa kuin p-glykoproteiinissa, yhteisvaikutukset sinänsä toimivan p-glykoproteiinin ja sen muiden substraattien kanssa tai yhteisvaikutukset CYP3A-entsyymien kautta metaboloituvien substraattien kanssa (Bissonnette ym. 2008). Sherman (2011) esittää yhdeksi mahdolliseksi mekanismiksi alhaisesta CYP3A-metaboliasta johtuvan p-glykoproteiinin saturoitumisen joillakin yksilöillä ja sitä kautta erot ABCB1-geenin suhteen genotyypiltään samanlaisten yksilöiden välillä.

Alves ym. (2011) havaitsivat tutkimuksessaan alustavia viitteitä siitä, että myös muut ABCB1-geenin polymorfismit kuin aiemmin kuvattu ABCB1-1Δ-mutaatio saattavat vaikuttaa esimerkiksi epilepsialääkkeiden metaboliaan. Idiopaattista epilepsiaa sairastavien bordercollioiden ABCB1-geenin promoottorialueen mutaatio saattaa olla yhteydessä p-glykoproteiinin ilmentymisen lisääntymiseen veri-aivoesteessä ja sitä kautta epilepsialääkkeiden huonompaan pääsyyn kohdekudokseensa aivoihin (Alves ym. 2011). Campbell ym. (2017) kuvasivat tapauksen, jossa ABCB1-1Δ-mutaatiota homotsygoottisena kantava collie oli saanut sidekalvolle annostellusta apomorfiinista vakavampia haittavaikutuksia kuin kaksi mutaation suhteen villityypin collieta. Apomorfiini saattaa toimia p-glykoproteiinin substraattina, mutta asian varmistamiseksi tarvitaan lisätutkimuksia (Campbell ym. 2017). Henik ym. (2006) ovat myös esittäneet epäilyjä siitä, että meksiletiini toimisi p-glykoproteiinin substraattina koiralla.

Mealey ja Burke (2015) löysivät kissalta useita polymorfismeja ABCB1-geenissä. Näistä merkittävin, kahden emäsparin deleetiomutaatio, johtaa kissan p-glykoproteiinin toimimattomuuteen ja näin ollen on saattanut altistaa mutaatiota kantavia kissoja ivermektiin toksisille vaikutuksille (Mealey ja Burke 2015). Kyseisen mutaation yleisyys Washingtonin valtionyliopiston eläinlääketieteellisen DNA-pankin näytteissä on noin 5 % (Mealey ja Burke 2015). Mealey ja Burke (2015) kuitenkin epäilevät, että kissalla

ivermektiin ja muiden p-glykoproteiinin substraattien (kuten emodepsidin) aiheuttamat hermosto-oireet joillakin yksilöillä johtuvat usean eri syyn yhteisvaikutuksesta. Okain ym. (2000) mukaan myös kissalla p-glykoproteiini näyttelee tärkeää osaa syöpäsolujen lääkeaineresistenssissä ja tätä havaintoa voidaan mahdollisesti jatkossa hyödyntää kissan syöpälääkehoitoja suunniteltaessa. Joskus p-glykoproteiinin inhibitiota voidaan hyödyntää esimerkiksi syöpälääkkeiden paremman kulkeutumisen veri-aivoesteen läpi aikaansaamiseksi eläinpotilailla, kuten koirilla, joilla on todettu aivokasvain (Pawlowski ym. 2013).

Olsén ym. (2007) totesivat, että ivermektiinin anto ennen setiritsiinin annostelua nosti setiritsiinin pitoisuuksia hevosten plasmassa, mikä antaa viitteitä siitä, että hevosella ivermektiini toimii p-glykoproteiinin inhibiittorina ja setiritsiini sen substraattina. P-glykoproteiinia ilmennetään hevosella suoliston, maksan, munuaisten ja perifeeraalisten veressä kiertävien lymfosyyttien solukalvolla, joten sillä on tärkeä vaikutus etenkin suun kautta annettavien lääkeaineiden farmakokinetiikkaan hevosilla (Tydén ym. 2009).

2.3.2 ABCG2-geeni ja sen koodaama ABCG2-/BCRP-proteiini

ABCG2-proteiinia ilmennetään lukuisissa kudoksissa kuten suoliston, maksansisäisten sappitiehyiden solujen, munuaisten tubulaarisolujen sekä aivojen ja verkkokalvon kapillaarien endoteelisolujen solukalvoilla, joissa se poistaa vierasaineita soluista (Asashima ym. 2006, Tydén ym. 2010, Mealey 2012). Näin ollen ABCG2-proteiini rajoittaa substraattilääkeaineidensa imeytymistä suolistosta ja niiden kulkeutumista aivoihin ja verkkokalvolle (Asashima ym. 2006, Tydén ym. 2010). ABCG2:a ilmennetään myös kasvainsoluissa, joissa se aiheuttaa kasvaimen resistenssiä usealle lääkeaineelle (Liu ym. 2005). Ihmisellä tunnetaan joitakin ABCG2-geenin mutaatioita, joista osa johtaa muuttuneeseen lääkeainekuljetukseen ja näin ollen altistaa lääkeaineiden haittavaikutuksille (Mealey 2012). Lespine ym. (2006) ehdottavat, että myös ABCG2-proteiinilla saattaisi olla tehtävä ivermektiin kuljetuksessa soluista ja näin ollen rooli sen aiheuttamissa haittavaikutuksissa joillekin yksilöille.

Ramirez ym. (2011) totesivat, että ABCG2-proteiinia ilmennetään sekä sellaisten kissojen verkkokalvoilla, joille verkkokalvon degeneraatio on ilmaantunut fluorokinolonilääkityksen jälkeen, että kontrolliyyksilöiden verkkokalvoilla. Näin ollen puute ABCG2-proteiinin ilmentämisessä verkkokalvolla ei ole syynä retinan degeneraatioon fluorokinoloneja saaneilla kissoilla. Kaikki fluorokinolonit eivät välttämättä ole yhtä toksisia kissalle. Messias ym. (2008) totesivat, ettei pradofloksasiini aiheuttanut kissojen silmän verkkokalvon eikä sauva- ja tappisolujen toimintaan muutoksia 6- ja 10-kertaisilla annoksilla (30 mg/painokg ja 50 mg/painokg) suositeltuihin hoitoannoksiin nähden, kun enrofloksasiini annoksella 30 mg/kg/päivä aiheutti näitä kaikkia.

Hevosella ABCG2-proteiinia ilmennetään ainakin suolistossa, maksassa ja munuaisissa (Tydén ym. 2010). Löydöksen kliinisen merkityksen selvittäminen vaatii lisätutkimuksia.

2.3.3 ABCC-geenien koodaamat kuljetinproteiinit (MRP)

MRP-effluksi proteiinien (Multidrug Resistance Proteins) fysiologinen päätehtävä on suojata soluja ja kudoksia vierasaineilta kuljettamalla niitä ulos soluista (Lespine ym. 2006). ABCC1-geeni koodaa Multi-Drug Resistance Protein 1:a (MRP1), ABCC2-geeni MRP2:a, ABCC3-geeni MRP3:a jne. (Borst ym. 1999). MRP-proteiineilla ja p-glykoproteiinilla on jonkin verran yhteisiä substraatteja (Borst ym. 1999). ABCC1-geenin koodaamaa MRP1-proteiinia ilmennetään muun muassa koiran maksassa, suolistossa, keuhkoissa, kiveksissä, munuaisissa, istukassa ja lihaksissa sekä koiran ja kissan joissakin kasvainsoluissa (Conrad ym. 2001, Mealey ym. 2013). MRP1-proteiinin variantteja ei toistaiseksi ole kuvattu eläimillä (Mealey ym. 2013). Haritova ym. (2013) totesivat, että MRP1-, MRP3- ja MRP4-proteiineja ilmennetään koiran verkkokalvoilla ja sarveiskalvolla. MRP2-proteiinia on todettu myös koiran maksasta, munuaisista ja suolistosta (Conrad ym. 2001). Toistaiseksi näiden kuljetinproteiinien polymorfismeja ei tunneta, mutta niitä voidaan mahdollisesti tulevaisuudessa hyödyntää lääkeaineiden kuljettamisessa haluttuihin osiin silmässä (Haritova ym. 2013). Conradin ym. (2001) mukaan koiran maksassa ilmennetään MRP2-proteiinia merkitsevästi vähemmän kuin ihmisen maksassa, mutta MRP1-tasot maksassa ja MRP2-tasot munuaisessa ovat

korkeat. P-glykoproteiinin ja MRP1-proteiinin määrät aivoissa ovat koiralla korkeammat kuin ihmisellä (Conrad 2001).

Hevosella MRP1- ja MRP2-proteiineja ilmennetään suolistossa, maksassa ja munuaisissa (Tydén ym. 2010). Näiden kliinistä merkitystä ei vielä tunneta.

2.3.4 Eläinlajien väliset erot kuljetinproteiinien ilmentymisessä ja substraateissa

Ramirez ym. (2011) ovat osoittaneet kissan poikkeavan muista tutkituista eläinlajeista siten, että kissan ABCG2-proteiinissa esiintyy neljää kissoille spesifiä aminohappomuutosta, joista kolmea ei ole toistaiseksi löydetty kymmeneltä muulta nisäkäslajilta (ihminen, simpanssi, makaki, lehmä, lammas, vuohi, hevonen, hiiri, rotta ja koira). Voidaan olettaa, että yksi tai useampi näistä aminohappomuutoksista johtaa kissalla merkitsevästi vähemmän tehokkaaseen ABCG2-proteiinin toimintaan johtuen muutoksista proteiinin kulkeutumisessa, toiminnassa tai substraattispesifisyydessä (Ramirez ym. 2011). Verrattaessa virtausytometrian avulla kissan ABCG2-proteiinia sisältävien solujen mitoksantronin ja BODIPY-pratsosiinin effluksia solusta sellaisiin soluihin, joissa ei ilmennetty ABCG2-proteiinia, effluksi oli hyvin samankaltaista (Ramirez ym. 2011). Lisäksi kissan ABCG2-proteiini ei kyennyt suojaamaan soluja valon herkistävältä vaikutukselta esimerkiksi fluorokinolonien aiheuttamalle retinatoksisuudelle kuten ihmisen ABCG2 (Ramirez ym. 2011).

Monien lääkeaineiden, kuten fluorokinolonien ja porfyriinien farmakokinetiikan voi kissalla olettaa poikkeavan monista muista eläinlajeista ABCG2-proteiinin puutteellisuuden vuoksi (Ramirez ym. 2011). Esimerkiksi Gelatt ym. (2001) osoittivat, että enrofloksasiini voi aiheuttaa kissoilla verkkokalvon degeneraatiota ja sokeutta myös kliinisesti käytössä olevilla annoksilla. Ramirez ym. (2011) tutkimukset tukevat hypoteesia siitä, että puutteellinen ABCG2-proteiinin toiminta on vastuussa fluorokinolonien aiheuttamasta retinan degeneraatiosta kissoilla. Toisaalta koska kissojen kasvainsoluissakaan ei ilmennetä tehokkaasti toimivaa ABCG2-proteiinia, tietyt syöpälääkkeet kuten mitoksantroni saattavat toimia tehokkaammin kissoilla kuin muilla lajeilla (Ramirez ym. 2011). ABCG2-proteiinin inhibiittoreina eli sen toiminnan estäjinä

toimivat samankaltaiset yhdisteet kuin sen substraatteina, eli esimerkiksi tyrosiinikinaasin estäjät, HIV-proteaasineestäjät ja kalsiumsalpaajat, joten yllättäviä yhteisvaikutuksia lääkeaineiden välillä saattaa kissoilla esiintyä, mikäli käytössä on edellä mainittuja lääkeaineita ABCG2-proteiinin substraattien kanssa ja proteiinin toiminta estyy tai vähenee olennaisesti (Ramirez ym. 2011).

2.4 Sytokromi P450-entsyymit (CYP)

Eräs vierasaineiden metaboliaan osallistuvista systeemeistä on CYP450-järjestelmä. CYP-entsyymiperheeseen kuuluu paljon isoentsyymejä, jotka jaetaan geeniperheisiin sen mukaan, kuinka paljon niiden aminohappojärjestyksessä on yhteistä (Nebert ja Russell 2002). CYP450-järjestelmän entsyymit metaboloivat lukuisia elimistön endogeenisiä aineita kuten rasvahappoja, steroideja, sappihappoja, D-vitamiinia ja eikosanoideja sekä vierasaineita, esimerkiksi lääkeaineita (Nebert ja Russell 2002). Lääkeaineiden metabolian kannalta tärkeimmät CYP-entsyymiryhmät ovat CYP1, CYP2, CYP3 ja vähäisemmässä määrin CYP4 (Nebert ja Russell 2002). CYP-entsyymejä ilmenetään muun muassa maksassa, suolistossa, munuaisissa, aivoissa ja lisämunuaisissa (Trepanier ym. 2006). CYP-entsyymiperheissä on jonkin verran eroja ihmisten ja eläinten eri CYP-entsyymejä koodaavissa ortologisissa geeneissä sekä entsyymien substraateissa (Trepanier ym. 2006).

Lääkeaineet voivat olla CYP-isoentsyymien substraatteja, induktoreita (toiminnan kiihdyttäjiä) tai inhibiittoreita eli estäjiä (van Beusekom ym. 2010). Useita lääkeaineita yhtäaikaaisesti käytettäessä lääkkeiden yhteisvaikutukset ovat näin ollen mahdollisia, etenkin, jos jokin käytetty lääkeaine estää pitkäkestoisesti tai pysyvästi jonkin CYP450-entsyymin toimintaa (van Beusekom ym. 2010). Eläinlajien välillä voi olla yllättäviä eroja lääkeaineinteraktioissa (van Beusekom ym. 2010).

CYP3A-alaperhe on tärkein kaikista lääkeaineita metaboloivista entsyymeistä sekä ihmisillä että useimmilla eläimillä (Guengerich 1999, Baririan ym. 2005). Maksasolujen lisäksi CYP3A-entsyymejä esiintyy suoliston enterosyyttien villusten kärjissä yhdessä P-glykoproteiinin kanssa, jolloin CYP-entsyymivälitteistä metaboliaa tapahtuu jo ennen

lääkeaineen päätymistä verenkierron kautta maksaan (Dowling 2006). Yleensä CYP-entsyymit tuovat metaboloitavasta yhdisteestä esille funktionaalisen ryhmän, jolloin syntyy polaarisempi metaboliatuote, joka eliminoituu elimistössä helpommin (DiMaio Knych ja Stanley 2008). Maksan mikrosomaalisten CYP450-entsyymien metaboliakapasiteetin ja siinä esiintyvän variaation tunteminen helpottaisi praktikkoja ennustamaan lääkeaineiden aiheuttamia yhteisvaikutuksia paremmin (DiMaio Knych ym. 2009).

Eräs ensimmäisistä eläinlääketieteessä raportoiduista eroista farmakokinetiikassa koirarotujen välillä oli tiobarbituraattiryhmän anesteettien tiopentaalin ja tiamylaalin hitaampi poistuminen elimistöstä englanninvinttikoirilla verrattuna sekarotuisiin koiriin (Sams ym. 1985). Englanninvinttikoirien anestesiaan olisikin parempi käyttää esimerkiksi metohexitaalia, joka pentobarbitaalin tavoin poistuu englanninvinttikoirien elimistöstä suunnilleen samaa vauhtia kuin muilla roduilla (Sams ym. 1985). Osa näistä eroista farmakokinetiikassa saattaa johtua englanninvinttikoirien vähäisestä kehon rasvamäärästä moneen muuhun rotuun verrattuna, koska tiobarbituraatit ovat hyvin rasvaliukoisia (Sams ym. 1985, Sams ja Muir 1988). Sams ja Muir (1988) ovat esittäneet myös, että osa tiopentaalin metabolisesta puhdistumasta tapahtuu englanninvinttikoirillakin maksaentsyymien välityksellä, koska puhdistumaa ja anestesiasta toipumista on voitu nopeuttaa annostelemalla englanninvinttikoirille fenobarbitaalia (tunnettu maksan entsyymitoiminnan induktori).

2.4.1 Koira

Mise ym. (2004) löysivät beagle-rotuisilta koirilta CYP1A2-isoentsyymiä koodaavassa geenissä mutaation, joka johtaa toimimattomaan CYP1A2-entsyymiin. Tämä johtaa yksilöiden välisiin eroihin CYP1A2:n kautta metaboloituvien lääkeaineiden plasmakonsentraatiossa (Mise ym. 2004). Gagliardi ym. (2015) totesivat, että CYP1A2- ja CYP2B11-isoentsyymejä koodaavissa geeneissä on variaatiota ainakin bordercollieiden, labradorinnoutajien, saksanpaimenkoirien ja uruguayncimarronien välillä. Aretz ja Geyer (2011) löysivät mutaation CYP1A2-entsyymiä koodaavasta geenistä australianpaimenkoiralta, partacollielta, valkoiselta paimenkoiralta,

bordercollielta, collielta, beaglelta, dalmatiankoiralta, skotlanninhirvikoiralta, saksanpaimenkoiralta, englanninvinttikoiralta, irlanninsusikoiralta, jackrussellinterrieriltä, shetlanninlammaskoiralta ja whippetiltä. Alustavissa tutkimuksissa viidessä rodussa (irlanninsusikoira, whippet, beagle, dalmatiankoira ja australianpaimenkoira) on todettu yksilöitä, jotka ovat homotsygoottisia tämän mutaation suhteen ja näin ollen alttiimpia CYP1A2:n kautta metaboloituvien lääkkeiden haittavaikutuksille (Aretz ja Geyer 2011). Tenmizun ym. (2004) mukaan noin 15 % beagleista ei ilmennä lainkaan CYP1A2-entsyymiä.

CYP1A2-entsyymien tyypillisiä substraatteja ovat Gunesin ja Dahlin (2008) mukaan esimerkiksi klomipramiini, lidokaiini, naprokseeni, ondansetroni, propafenoni, propranololi ja verapamiili, joita myös käytetään tai saatetaan käyttää eläinlääkinnässä. Näin ollen mutaatio CYP1A2-entsyymiä koodaavassa geenissä saattaa aiheuttaa lääkitysturvallisuusriskejä roduilla, joilla esiintyy tätä polymorfismia. Puutteellisen CYP1A2-entsyymien on todettu vähentävän uusien lääkeaineiden, AC-3933:n ja YM-64227:n metabolista puhdistumaa koirilla, joiden molemmissa CYP1A2-geeniä koodaavissa alleeleissa on todettu mutaatio (Mise ym. 2004, Tenmizu ym. 2006). Lisäksi Azuma ym. (2002) ovat esittäneet, että selektiivisen alfa-7-reseptorin osittaisen agonistin GTS-21:n plasmakonsentraatioissa on yksilöllistä vaihtelua, joka johtuu CYP1A-entsyymien polymorfismista.

Englanninvinttikoirien fenatsonin ja toisaalta amikasiinin puhdistuma on alentunut beagleihin verrattuna (KuKanich ym. 2007, KuKanich ja Coetzee 2008). Osa metaboliaeroista voi johtua siitä, että englanninvinttikoirilla fenatsonin sitoutuminen plasman proteiineihin on vähäisempää kuin beagleilla ja toisaalta näiden lääkeaineiden jakautumistilavuus on englanninvinttikoiralla pienempi (KuKanich ym. 2007, KuKanich ja Coetzee 2008). Näin ollen ainakin fenatsonia ja amikasiinia tulisi annostella englanninvinttikoiralle pienempi annos painokiloa kohden kuin beagleille (KuKanich ym. 2007, KuKanich ja Coetzee 2008). KuKanichin ym. (2007) mukaan tiopentaali on CYP-substraatti ja fenobarbitaali CYP-induktori. Tiopentaalin eliminaatio on todettu englanninvinttikoirilla hitaammaksi ja sen sedatiiviset vaikutukset pidemmiksi kuin beagleilla, mikä saattaa johtua osittain eroista maksan mikrosomaalisissa entsyymeissä

(KuKanich ym. 2007). Fenobarbitaalilla puolestaan on todettu samankaltainen farmakodynaaminen ja farmakokineettinen profiili niin englanninvinttikoirilla kuin muillakin roduilla (KuKanich ym. 2007). Yleisesti käytetyn anesteetin propofolin jakautumistilavuus on todettu englanninvinttikoirilla merkitsevästi pienemmäksi kuin muunrotuisilla koirilla, mikä johtaa korkeampiin propofolin konsentraatioihin veressä (KuKanich ym. 2007). Propofolin puoliintumisaika on todettu englanninvinttikoirilla merkitsevästi pidemmäksi kuin muunrotuisilla koirilla, mikä oletetusti johtaa pidempään anestesian ja toipumisen kestoon (KuKanich ym. 2007). CYP450-järjestelmän entsyymien epäillään vaikuttavan propofolin hitaampaan puhdistumaan englanninvinttikoirilla (Court ym. 1999). Hay Kraus ym. (2000) osoittivat myös, että maksan CYP2B11-konsentraatio vaihtelee huomattavasti koirien välillä ja että englanninvinttikoirien maksassa esiintyy merkitsevästi vähemmän toimivaa CYP2B11-entsyymiä kuin beagleilla. Propofolin hydroksylaatio on pääasiassa CYP2B11-välitteistä koiralla, joten koiran rotu (ja mahdollisesti sukupuoli) vaikuttavat propofolin metaboliaan mahdollisesti juuri CYP2B11-konsentraation kautta (Hay Kraus ym. 2000). Venäjänvinttikoirilla kloramfenikoli pidensi propofolianestesiasta toipumista tunnista jopa yli yhdeksään tuntiin ja vähensi propofolin puhdistumaa 50 % (Hay Kraus ym. 2000). Koiralla myös medetomidiini ja atipametsoli ovat CYP2B11-entsyymien inhibiittoreita ja ketamiini ja midatsolaami sen substraatteja, joten näiden lääkeaineiden yhtäaikainen käyttö saattaa johtaa odottamattomiin yhteis- ja haittavaikutuksiin roduilla (kuten englanninvinttikoirilla), joilla CYP2B11-entsyymien aktiivisuus on muutenkin vähäisempää (Hay Kraus ym. 2000, Baratta ym. 2010). Toisaalta anesteetteja annostellaan yleensä vasteen mukaan, jolloin haittavaikutusten riski on jonkin verran pienempi kuin toisentyyppisten lääkkeiden kohdalla (Baratta ym. 2010).

Paulson ym. (1999) osoittivat, että beagle-rotuiset koirat voidaan jakaa ainakin kahteen populaatioon sen perusteella, miten nopeasti ne metaboloivat selekoksibia. Tutkitut koirat (n=242) jakautuivat hitaisiin ja nopeisiin metaboloijiihin lähes tasan (45 % nopeita ja 53,3 % hitaita metaboloijia) eikä sukupuolen välillä ollut havaittavissa merkitseviä eroja (Paulson ym. 1999). Koska tunnettu CYP2D-inhibiittori kinidiini esti merkitsevästi selekoksibin metaboliaa sekä nopeilla että hitailla metaboloijilla, Paulsonin ym. (1999) tutkimus tuki vahvasti hypoteesia, että CYP2D15 on tärkeä isoentsyymi selekoksibin

metaboliassa beagleilla. Myös muilla isoentsyymeillä saattaa kuitenkin Paulsonin ym. (1999) mukaan olla osuutta selekoksibin metaboliassa havaittuun polymorfismiin.

Koiralla on todettu esiintyvän variaatiota myös ainakin CYP2C41-, CYP2E1- ja CYP3A12-entsyymeissä, mutta näiden mutaatioiden kliinisen merkityksen epäillään olevan pieni (Blaisdell ym. 1998, Paulson ym. 1999, Lankford ym. 2000, Kamimura ym. 2006)

2.4.2 Kissa

Kissojen sairauksien hoidossa käytetään useita CYP450-järjestelmän kautta metaboloituvia lääkkeitä sekä kissoille rekisteröimättömiä lääkkeitä (Shah ym. 2007). Näin ollen tieto kissojen CYP-entsyymiaktiivisuuseroista lajin sisällä ja muihin eläinlajeihin sekä ihmiseen verrattuna on kliinikolle tärkeää (Shah ym. 2007). Taulukkoon 3 on koottu kissalla käytössä olevia lääkkeitä, joiden metabolian kannalta CYP450-entsyymeillä on todettu tai epäillään olevan kliinistä merkitystä. Useimpien lääkkeiden kohdalla vaaditaan kuitenkin lisätutkimusta, ennen kuin variaation todellinen kliininen merkitys saadaan selville.

Taulukko 3. Variaatio kissojen CYP-entsyymeissä ja kissoille käytettäviä lääkeaineita, joiden metabolian kannalta näillä entsyymeillä saattaa olla merkitystä. (Mukaiillen Kharasch ym. 1995, McAnulty ja Lensmeyer 1999, Tanaka ym. 2005 ja 2006, Shah ym. 2007.)

<i>Entsyymi</i>	<i>Variaatio</i>	<i>Substraatti</i>
CYP2C	Aktiivisuus hyvin matala	fenytoiini, tolbutamidi, fenobarbitaali
CYP2D	Bufuralolin hydroksylaatio naaraskissoilla kolminkertaista uroksiin nähden	bufuraloli
CYP2E	Kaikki kissat eivät ilmennä CYP2E- b:tä ja CYP2E-c:tä	parasetamoli, halotaani, isofluraani, sevofluraani
CYP3A	Ketokonatsolin samanaikaisella käytöllä voidaan päästä harvempaan siklosporiinin annosteluun	ketokonatsoli, siklosporiini
CYP3A	Midatsolaamin hydroksylaatio vähäisempää naaraskissoilla kuin koirailla	midatsolaami
Useita	Merkitsevä ero metabolianopeudessa naaraiden (nopeampi metabolia) ja urosten (hitaampi metabolia) välillä	klomipramiini

Tutkittaessa kissan maksan CYP450-järjestelmän entsyymiaktiivisuutta havaittiin, että maksan mikrosomit metaboloivat kaikkia CYP450-aktiivisuuden mittaamiseen valittuja substraatteja (van Beusekom ym. 2010). Entsyymeistä CYP3A:n ja CYP2B:n aktiivisuus oli korkeampaa kuin muiden tutkittujen entsyymien (CYP1A, CYP2C, CYP2D ja CYP2E) (van Beusekom ym. 2010). Kaikki ihmisen CYP-järjestelmää estävät aineet, kuten furafylliini, tranyylysypromiini ja sulfafenatsoli, eivät kuitenkaan aiheuttaneet muutoksia kissan ja koiran entsyymitoiminnassa ja niillä aineilla, joilla inhibitiota tapahtui, IC50-arvot poikkesivat koiran ja ihmisen IC50-arvoista (van Beusekom ym. 2010). Kissojen CYP-

aktiivisuudet olivat yleisesti ottaen matalammat kuin koirilla ja ihmisillä, paitsi CYP2B:n osalta (van Beusekom ym. 2010). Lisäksi entsyymiaktiivisuus vaihtelee kissoilla sukupuolen mukaan (Shah ym. 2007, van Beusekom ym. 2010). Esimerkiksi naaraskissoilla CYP2D-aktiivisuus voi olla kolminkertaista uroskissoihin verrattuna, mutta CYP3A-aktiivisuus vain viidesosa uroskissojen aktiivisuudesta (Shah ym. 2007). Erot sukupuolten välillä voivat johtua esimerkiksi suuremmasta entsyymin määrästä maksassa tai substraatin suuremmasta affiniteetista entsyymiin (Shah ym. 2007). Tämänhetkisen tutkimustiedon pohjalta ei kuitenkaan voida tehdä päätelmiä siitä, tulisiko näiden entsyymien substraatteja annostella eri tavoin naaras- ja uroskissoille. Havainnon kliinisen merkityksen selvittäminen vaatii jatkotutkimuksia.

Kissojen CYP2C-aktiivisuuden on todettu olevan hyvin matala, jolloin on oltava hyvin varovainen annosteltaessa kissoille kyseisen entsyymialaperheen substraatteja, kuten fenytoiinia, tolbutamidia ja fenobarbitaalia (Shah ym. 2007).

Ihmisellä siklosporiini metaboloituu pitkälti CYP3A-entsyymien välityksellä (Vickers ym. 1992). McAnultyn ja Lensmeyerin (1999) mukaan ketokonatsolin aiheuttamaa siklosporiinin puoliintumisajan pidentymää ja veren siklosporiinikonsentraation nousua voidaan hyödyntää siklosporiinia pitkäkestoisesti tarvitsevien kissojen lääkinnässä, jolloin voidaan päästä kerran päivässä tapahtuvaan siklosporiinin annosteluun ja pienempään lääkityksen kokonaiskustannukseen.

Tanaka ym. (2005) osoittivat, että kissoilla on ainakin kaksi CYP2E-geeniä, CYP2E1 ja CYP2E2. Useimmilla muilla nisäkäslajeilla CYP2E-entsyymiä koodaa yksi geeni, mutta kissojen lisäksi kaniineilla kaksi hyvin samankaltaista geeniä voi koodata CYP2E-entsyymejä (Tanaka ym. 2005). Kissojen CYP2E-alaperhe voidaan jakaa kolmeen eri alatyyppiin: CYP2E-a, CYP2E-b ja CYP2E-c, joita koodaavat saman geenin eri mutaatiot (Tanaka ym. 2005). CYP2E-a:ta ilmennetään kissan maksassa, mononuklearisoluissa, munuaisissa, keuhkoissa, mahalaukussa, suolistossa ja haimassa, kun CYP2E-b:tä ja CYP2E-c:tä ilmennetään lähinnä kissan maksassa ja mononuklearisoluissa (Tanaka ym. 2005). Kaikki kissat eivät ilmentäneet CYP2E-b:tä ja CYP2E-c:tä lainkaan (Tanaka ym. 2005). CYP1A-a:ta voidaan pitää CYP1A1:nä ja CYP1A-b:tä CYP1A2:na kissoilla (Tanaka

ym. 2006). CYP2E-alaperhe metaboloii lukuisia lääkeaineita, kuten parasetamolia, halotaania, isofluraania ja sevofluraania (Tanaka ym. 2005, Kharasch ym. 1995).

2.4.3 Hevonen

Yksilöiden välinen, lajinsisäinen vaihtelu on todettu suuremmaksi hevosella kuin esimerkiksi koiralla ja kissalla (Chauret ym. 1997, Schmitz ym. 2010). Tämän oletetaan johtuvan siitä, että tutkimuksissa on usein käytetty laboratorioskantojen koiria ja kissoja, mutta yleisestä populaatiosta otettuja hevosia, jolloin näiden yksilöiden välinen geneettinen vaihtelu on suurempaa (Chauret ym. 1997). Schmitz ym. (2010) löysivät hevoselta seitsemän eri CYP3A-entsyymien isoformia, mikä osoittaa suurempaa variaatiota verrattuna ihmisen neljään CYP3A-isoformiin. Näiden isoformien ilmentyminen vaihtelee sekä yksilöiden että esimerkiksi maksan ja suoliston eri osien välillä (Tydén ym. 2004 ja 2012). Hevosen suurempi CYP3A-geenien määrä voi johtua sen kasvinsyöjän ruokavaliosta, jossa saattaa esiintyä sekasyöjän ruokavaliota useammin CYP3A-substraatteja (Schmitz ym. 2010). Hevosen CYP3A-entsyymejä koodaavilta geenien alueilta on löydetty 19 yhden nukleotidin polymorfismia (SNP, single nucleotide polymorfism) ja yksi kuuden emäsparin deleetio (Schmitz ym. 2010). Nämä kaikki polymorfismit on voitu osoittaa yhdessä hevosyksilössä, mikä osoittaa mahdollisen lajinsisäisen vaihtelun olevan hevosella suurta (Schmitz ym. 2010). Hevosilla käytettäviä CYP3A-entsyymien kautta metaboloituvia lääkeaineita ovat esimerkiksi meloksikaami ja omepratsoli (Chesné ym. 1998, Brandin ym. 2007).

Hevosella CYP3A4-entsyymien ekspressio on suurinta proksimaalisessa ohutsuolessa ja se vähenee siirryttäessä kohti suoliston distaaliosia (Tydén ym. 2004). Toisaalta hevosen CYP3A4:n mRNA-ekspressio on suurempaa ohutsuolen alkuosassa maksaan verrattuna (Tydén ym. 2004), joten maksaentsyymejä tarkastelemalla saadaan käsitys vain osasta kokonaislääkeinemetaboliaa. Hevosen ohutsuolen CYP3A-aktiivisuudella on suuri rooli lääkeaineiden ensikierron metaboliassa ja näin ollen se saattaa vaikuttaa olennaisesti joidenkin suun kautta annosteltavien biologiseen hyötyosuuteen ja tehoon hevosella (Tydén ym. 2004). Tydén ym. (2008) totesivat, että hevosen ylähengitysteissä CYP3A-aktiivisuus oli huomattavasti suurempi kuin maksassa. Kuitenkin CYP3A-geenin ja -

proteiinin ekspressio on maksassa isompaa, joten Tydén ym. (2008) esittävät, että suurempi CYP3A-välitteinen metabolinen aktiivisuus hevosen ylähengitysteissä saattaa johtua NADPH-P450-reduktaasin ja sytokromi b₅:n myötävaikutuksesta.

Nebbia ym. (2004) osoittivat, että tammoilla CYP3A- ja CYP2B-aktiivisuus kasvaa iän myötä. Ylipäätään joitakin poikkeuksia lukuun ottamatta aikuisilla tammoilla oksidatiivisten, hydrolyyttisten ja konjugatiivisten biotransformaatioprosessien nopeus on suurempi kuin varsoilla ja että entsyymiaktiivisuus ei vastoin aiempia käsityksiä laske iän myötä (Nebbia ym. 2004).

2.4.4 Nauta, sika, lammas, vuohi

CYP1A-entsyymit osallistuvat tuotantoeläimilläkin käytettyjen lääkeaineiden, kuten albandatsolin, tiabendatsolin, mebendatsolin, kofeiinin ja estradiolin metaboliaan (Szoťáková ym. 2004). Korkea CYP1A-entsyymiaktiivisuus saattaa johtaa näiden aineiden nopeampaan metaboliaan (Szoťáková ym. 2004). Näiden eläinlajien välisistä farmakogeneettisistä eroista on kerrottu lisää kappaleessa 2.4.6.

2.4.5 Kana ja broileri

Kanojen kohdatessa bakteeri-infektion lääkitys hoidetaan usein juomaveden tai rehun välityksellä siten, että koko parvi altistuu lääkeaineen tai –aineiden vaikutukselle (Khalil ym. 2001). Kuitenkin kanojen lääkeainemetaboliala on tutkittu melko vähän (Khalil ym. 2001). Lemmikkikanojen määrän lisääntyessä myös kanojen yksilölääkinnän tarve on kasvanut ja usein lemmikkikanan yksilölääkinnässä joudutaan käyttämään kanalle rekisteröimättömiä lääkevalmisteita. Esimerkiksi midatsolaamia voidaan käyttää linnuilla sedatiivina (Forbes 1998). Cortright ja Craigmill (2006) totesivat, että ketokonatsoli estää midatsolaamin metaboliaa ja saattaa näin ollen pidentää sen vaikutusta kanalla. Molemmat lääkeaineet ovat CYP3A:n substraatteja kanalla (Cortright ja Craigmill 2006). Cortrightin ja Craigmillin (2006) mukaan tämänkaltaisia tutkimuksia tarvitaan muun muassa arvioitaessa lemmikkilinnuille sopivia lääkitysprotokollia.

Enrofloksasiini vähentää kanalla CYP1A- ja CYP3A-aktiivisuutta, kun marbofloksasiini vähentää ainoastaan CYP1A-aktiivisuutta (Zhang ym. 2011). Toisaalta kanojen rehun pidempiaikainen kontaminoituminen mykotoksiinilla saattaa lisätä kanan CYP1A4-välitteistä enrofloksasiinin metaboliaa ja johtaa pieneen, mutta tilastollisesti merkitsevään alentumaan enrofloksasiinin hyötyosuudessa (Antonissen ym. 2017).

Broilerin ohutsuolen CYP-entsyymit voivat olla jopa maksan CYP-entsyymejä tärkeämmässä roolissa lääkeainemetaboliassa (Osselaere ym. 2013). CYP3A37:n, joka vastaa ihmisen CYP3A4:ää, mRNA-ekspressio on broilerin maksassa matalampaa kuin suolistossa (Osselaere ym. 2013). CYP3A37:n geeniekspressio on korkeimmillaan heti Meckelin divertikkelistä (umpipussi, jonka kohdalla duodenum muuttuu ileumiksi linnuilla) anteriorisesti ja jejunumin alueella selvästi korkeampaa kuin duodenumissa ja ileumissa, joista viimeksi mainitussa se on alhaisinta (Osselaere ym. 2013). mRNA-tasoissa voitiin havaita suuria yksilöiden välisiä eroja, jotka eivät kuitenkaan riippuneet sukupuolesta (Osselaere ym. 2013). Tutkittaessa CYP3A4:n aktiivisuutta midatsolaamin avulla havaittiin korkea aktiivisuustaso sekä broilerin duodenumissa että maksassa (Osselaere ym. 2013). Aktiivisuustasot eivät suoraan korreloineet mRNA-ekspression kanssa, mikä viittaa siihen, että aktiivisuuteen saattavat vaikuttaa esimerkiksi transkription aikaiset tai sen jälkeiset tekijät (Osselaere ym. 2013). Rifampisiini toimii CYP3A:n induktorina ihmisellä ja kanilla, mutta ei rotalla ja kanalla (Ourlin ym. 2000). Tämä saattaa viitata siihen, että ainakin kanan CYP3A37-entsyymiä säädellään jollain muulla mekanismilla (Ourlin ym. 2000). Muun muassa fenobarbitaali ja deksametasoni indusoivat kanan CYP3A37-entsyymin toimintaa, mikä viittaa siihen, että säätely on samankaltaista kuin rotalla (Ourlin ym. 2000).

2.4.6 Eläinlajien väliset erot CYP-entsyymiaktiivisuudessa

Eläinlajien väliset erot CYP450-välitteisessä metaboliassa ovat suuria (Chauret ym. 1997). Eroa on niin metabolisessa aktiivisuudessa kuin tunnettujen inhibiittorien vaikutuksessa entsyymiaktiivisuuksiin (Chauret ym. 1997). Lääkkeaineet voivat metaboloitua usean eri CYP450-entsyymin välityksellä, joten suoraa päätelmiä

lääkeaineen kokonaismetaboliasta ei voida tehdä tietyn CYP-entsyymialaperheen aktiivisuuden perusteella (Nebbia ym. 2003).

CYP2B:n ja CYP3A:n toimintaa kissan maksassa voitiin estää tranyylyisypromiinilla ja ketokonatsolilla, mutta koiran maksassa muutoin samoissa olosuhteissa näiden entsyymien aktiivisuus nousi (van Beusekom ym. 2010). Fenobarbitaali ei kissalla, toisin kuin koiralla, vaikuta indusoivan CYP-entsyymejä (Trepanier 2006).

Siklosporiinin puhdistuma maksassa vaikuttaa kissoilla samankaltaiselta kuin ihmisillä ja kaniineilla (McAnulty ja Lensmeyer 1999), mutta koiralla se on noin 2,8-kertaista kissaan nähden (Vickers ym. 1992).

Verratessaan hevosen CYP2D50-entsyymiaktiivisuutta ihmisen CYP2D6-entsyymiaktiivisuuteen DiMaio Knych ja Stanley (2008) totesivat, että esimerkiksi dekstrometorfaani-O-demetylaasiaktiivisuus oli ihmisellä 180-kertaista hevoseen verrattuna. Ihmisen CYP2D6 myös tuotti debrisokiinista sen metaboliittia 4-hydrokidebrisokiinia 50-kertaisella nopeudella hevosen CYP2D50-entsyymiin verrattuna (DiMaio Knych ja Stanley 2008). Verrattaessa metaboliittien muodostumisnopeuksia on muistettava mahdollisuus, että hevonen saattaa tuottaa debrisokiinista pääasiassa muita metaboliitteja kuin 4-hydroksidebrisokiinia (DiMaio Knych ja Stanley 2008). DiMaio Knychin ym. (2009) tutkimuksessa ihmisen CYP2C9-entsyymi metaboloiki diklofenaakkia 20-kertaisella nopeudella hevosen CYP2C92-entsyymiin verrattuna. Tulokset antavat viitteitä siitä, että ihmisen ja hevosen maksan mikrosomaalisten entsyymien metabolianopeudessa on merkitseviä lajienvälisiä eroja, mutta lisää tutkimusta asiasta vaadittaisiin (DiMaio Knych ym. 2009).

Nebbia ym. (2003) totesivat hevosen maksan CYP450-entsyymien kokonaiskonsentraation olevan samaa luokkaa kuin sialla, mutta merkitsevästi pienempi kuin naudalla ja rotalla. Hevosella ja naudalla CYP1A:n substraatin etoksiresorufiinin O-de-etylaatioaktiivisuus oli 2,5-12 kertaa suurempaa kuin kanilla, broilerilla, sialla ja rotalla (Nebbia ym. 2003). Metoksiresorufiinin metabolia oli 3-7 kertaa aktiivisempaa hevoseella (ja kanilla) kuin broilerilla, rotalla, sialla ja naudalla (Nebbia ym. 2003). Toisen CYP1A:n substraatin, bentso-a-pyreenin, metabolia oli hevosilla samaa luokkaa kuin

naudalla, rotalla ja kanilla (Nebbia ym. 2003). CYP2B:n substraattien bentsfetamiinin ja bentsyloksiresorufiinin metabolia oli hevosilla samalla tasolla kuin naudalla ja broilerilla, mutta alhaisempaa kuin kanalla ja rotalla sekä korkeampaa sikaan verrattuna (Nebbia ym. 2003).

CYP3A:n substraattien, etyylimorfiinin ja erytromysiinin, metaboliassa ei havaittu hevosella, broilerilla ja sialla merkitseviä eroja nautaan verrattuna (Nebbia ym. 2003). Toisaalta erään CYP3A:n substraatin, aminopyriinin, metabolian aktiivisuus oli hevosella vain noin viidesosa naudän ja broilerin aktiivisuudesta ja vain kymmenesosa kanin aktiivisuudesta (Nebbia ym. 2003). Etoksikumariinia hevonen metaboloii noin 2-14 kertaa hitaammin kuin nauta, broileri, sika, kani ja rotta (Nebbia ym. 2003). Kaiken kaikkiaan hevosella CYP1A-entsyymiekspression voidaan olettaa olevan suurempaa kuin naudalla, broilerilla, sialla, kanilla ja rotalla (Nebbia ym. 2003). CYP1A-entsyymit ovat mukana useiden prokarsinogeenien ja promutageenien bioaktivaatiossa, joten edellä mainittu havainto saattaa olla kliinisesti tärkeä (Nebbia ym. 2003). Ensivaiheen hapetusreaktioissa myös mukana olevan NADPH-sytokromi P450-reduktaasin aktiivisuus oli hevosella ja naudalla alhaisempaa kuin rotalla, kanilla, sialla ja broilerilla (Nebbia ym. 2003).

Tuotantoeläinlajien välillä on jonkin verran eroja esimerkiksi sisäloislääkkeiden metaboliassa, joten annosten ekstrapoloinnin sijasta yksityiskohtaiset farmakokineettiset tutkimukset kullakin eläinlajilla olisivat tärkeitä (Křížová-Forstová 2011). Esimerkiksi hevosen fenbendatsolin ja oksfendatsolin metabolia on märehitijöitä nopeampaa, joten ne tarvitsevat näitä sisäloislääkkeitä suhteessa suuremman annoksen saman vaikutuksen aikaansaamiseksi (Křížová-Forstová 2011).

Szotáková ym. (2004) totesivat, että naudän CYP1A1/2-aktiivisuus oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampaa kuin muilla tutkituilla lajeilla, lampaaseen ja vuoheen verrattuna kymmenkertaista ja sikaan verrattuna viisinkertaista. Toisaalta hevosella CYP1A-aktiivisuus on todettu korkeammaksi kuin naudalla (Darwish ym. 2010). Naudalla tärkeä lääkkeitä metaboloiva faasin I entsyymi on CYP2D14 (Hamamoto ym. 2016). Mutaatio naudän CYP2D14-entsyymiä koodaavassa geenissä aiheuttaa toimimattoman entsyymin muodostumisen, mikä johtaa yleisesti käytetyn maha-suolistokanavan

prokineetin, metoklopramidin, tilastollisesti merkitsevästi pidempään puoliintumisaikaan ja korkeampiin plasmakonsentraatioihin (Hamamoto ym. 2016).

CYP3A-aktiivisuuden on todettu olevan korkeampaa sialla kuin muilla tuotantoeläinlajeilla (Szoťáková ym. 2004). Lisäksi Szoťáková ym. (2004) havaitsivat, että sialla on suhteellisesti muita tuotantoeläinlajeja parempi kyky metaboloida vierasaineita, jotka sisältävät karbonyyliryhmän.

Lampaalta on löydetty tilastollisesti merkitsevästi korkeampia CYP2C- ja CYP4A-aktiivisuuksia kuin muilta tutkituilta tuotantoeläinlajeilta (sika, vuohi, nauta) (Szoťáková ym. 2004). Verratessaan CYP-entsyymiaktiivisuuksia pössien ja uuhien välillä Bártiková ym. (2010) totesivat, että toistuva flubendatsoliannostelu muuttaa maksan entsyymiaktiivisuuksia sukupuolten välillä tilastollisesti merkitsevästi, mutta itse flubendatsolin metaboliaan tällä ei ole vaikutusta. Esimerkiksi pössillä CYP1A-aktiivisuus lisääntyy flubendatsolin annostelun jälkeen, kun uuhilla se vähenee (Bártiková ym. 2010). Erot sukupuolten välillä (10-40 %) eivät kuitenkaan ole Bártikóván ym. (2010) mukaan riittävän suuria, jotta ne antaisivat aiheutta muuttoa flubendatsolin annoksia sukupuolen mukaan.

Kanojen maksan CYP-kokonaiskonsentraation on havaittu olevan samaa luokkaa kuin ihmisellä, kissalla, sialla, käärmellä, sammakolla ja taimenella, mutta alhaisempi kuin useimmilla muilla tutkituilla lajeilla, kuten beagle-rotuisilla koirilla (Khalil ym. 2001).

Verrattaessa broileria hevoseen, kaniin, nautaan, sikaan ja rottaan voidaan havaita useita eroja CYP-metaboliassa (Nebbia ym. 2003). Broilerin CYP450-entsyymien kokonaismäärä oli tutkimuksessa näistä lajeista alhaisin, kaneilla suurin (Nebbia ym. 2003). Kuitenkin broilerin oksidatiivisen metabolian kapasiteetti oli samalla tasolla hevosen kanssa ja jopa suurempi kuin naudalla (Nebbia ym. 2003). Broilerin CYP1A-entsyymit metaboloivat tunnettuja CYP1A:n substraatteja eri tavoin: bentso-a-pyreeniä noin 2,5-kertaisesti nautaan, hevoseen, rottaan ja kaniin verrattuna, mutta metoksisresorufiinia 3-7 kertaa vähemmän kuin kanit ja hevoset (Nebbia ym. 2003). Koiraan verrattuna kanojen etoksisresorufiinin O-de-etylaatio on alhaista, mutta tolbutamidin hydroksylaation taso korkea (Khalil ym. 2001). Kanoilla on alhainen CYP1A-

kapasiteetti verrattuna esimerkiksi koiraan, ihmiseen, hevoseen ja kissaan (Khalil ym. 2001).

CYP2B:n substraattien bentsfetamiinin ja bentsyloksiresorufiinin metabolia on broilerilla samalla tasolla kuin hevosella ja naudalla, mutta korkeampi kuin sialla ja matalampi kuin kanilla ja rotalla (Nebbia ym. 2003).

Kanoilla on todettu alhaisemmat V_{max} - ja sisäisen puhdistuman arvot koiriin verrattuna monissa hapetusreaktioissa, kuten S-mefenytoiinin 4-hydroksylaatioissa, bufuralolin 1-hydroksylaatioissa ja testosteronin 6 β -hydroksylaatioissa, joita katalysoivat CYP2C19, CYP2D6 ja CYP3A4 (Khalil ym. 2001). Tolbutamidin hydroksylaation aktiivisuus voi tutkimuksen mukaan kanalla olla jopa 50-kertainen koiraan verrattuna, joten voidaan epäillä ihmisen CYP2C9-entsyymiä vastaavan entsyymialaperheen lääkeainemetaboliakapasiteetin olevan kanoilla suuri (Khalil ym. 2001). Esimerkiksi ihmisillä on todettu trimetopriimin toimivan CYP2C8:n ja sulfametoksalolin CYP2C9:n inhibiittorina (Wen ym. 2002). Trimetopriimi-sulfametoksaloli-yhdistelmää käytetään kanoilla esimerkiksi hengitystieinfektioiden hoitoon Suomessa. Varfariini on kanoille huomattavasti vähemmän toksista kuin nisäkkäille, mikä voidaan selittää kanojen korkeammalla CYP2C9-aktiivisuudella (Khalil ym. 2001). Yleisesti ottaen tutkimustulokset antavat ymmärtää, että kanojen metaboliakapasiteetti on suuri CYP2C9:n välityksellä metaboloituvilla aineilla, hyvin pieni CYP1A:n substraateilla ja suhteellisen pieni muiden CYP-järjestelmän kautta metaboloituvien aineiden osalta (Khalil ym. 2001).

CYP2E:n substraatin aniliinin hydroksylaasiaktiivisuus oli broilerilla 2-8 kertaa voimakkaampaa kuin kanilla, rotalla, hevosella, sialla ja naudalla. Toisen CYP2E:n aktiivisuutta mittaavan merkkiaineen, N-nitrosodimetyyliamiinin (NDMA:n), N-demetylaasin aktiivisuus oli broilerilla niin pieni, ettei sitä kyetty mittaamaan (Nebbia ym. 2003). CYP3A:n substraattien etyylimorfiinin ja erytromysiinin N-demetylaatio oli broilerilla samalla tasolla kuin hevosella, naudalla ja sialla (Nebbia ym. 2003).

2.5 Muut entsyymit

2.5.1 Tiopuriinimetyylitransferaasi (TPMT)

Tiopuriinimetyylitransferaasi (TPMT) toimii ihmisellä tärkeänä atsatiopriinin metaboliaentsyyminä ja sitä pystytään osoittamaan myös koirien, kissojen ja hevosten punasoluista (White ym. 2000). Näiden kolmen lajin TPMT-aktiivisuus eroaa toisistaan tilastollisesti merkitsevästi siten, että kissoilla TPMT-aktiivisuus on tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin hevosilla, ja koirilla TPMT-aktiivisuus on tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin kissoilla ja hevosilla (White ym. 2000). Kissoilla TPMT-aktiivisuus on keskimäärin myös matalampi kuin ihmisellä eikä se ole riippuvainen kissan iästä tai sukupuolesta (Salavaggione ym. 2004).

Ihmisellä on todettu, että noin 11,1 % on heterotsygootteja tiopuriinimetyylitransferaasia koodaavan geenin suhteen, mikä johtaa alhaisempaan aktiivisuuteen kuin normaalina pidetty taso suurimmalla osalla ihmisistä (Vuchetich ym. 1995). Ihmisillä testataankin TPMT-aktiivisuutta ennen atsatiopriinihoitoa oikean annostason selvittämiseksi (Vuchetich ym. 1995). Tutkittujen koirien TPMT-aktiivisuus noudattelee samaa jakaumaa kuin ihmisillä (White ym. 2000). Salavaggione ym. (2002, 2004) totesivat, että koiran ja kissan TPMT-entsyymiaktiivisuus vaihtelee suuresti eikä tämä vaihtelu riipu eläimen iästä tai sukupuolesta. Perintötekijöillä on iso osuus TPMT-aktiivisuuden yksilöidenvälisen vaihtelun selittämisessä ihmisten lisäksi myös koirilla (Salavaggione ym. 2002). Kiddin ym. (2004) mukaan eri koirarotujen välillä esiintyy yhdeksänkertaista variaatiota TPMT-aktiivisuudessa. Suurnautsereilla on todettu merkitsevästi alhaisempi TPMT-aktiivisuus (jopa 2,7 kertaa alhaisempi kuin populaation mediaani) ja alaskanmalamuuteilla merkitsevästi korkeampi TPMT-aktiivisuus (jopa 3,3-kertainen populaation mediaaniin verrattuna) (Kidd ym. 2004). Kissoilla TPMT-entsyymiä koodaava geeni on osoittautunut polymorfisemmaksi kuin ihmisillä ja koirilla (Salavaggione ym. 2004). Atsatiopriinia käytetään yleisesti myös koirilla immunosuppressanttina, mutta lisätutkimuksia tarvitaan, ennen kuin TPMT-entsyymiaktiivisuuden mittausta voidaan käyttää koirilla yksilöllisen lääkehoidon suunnittelun apuna (Salavaggione ym. 2002). Kissoilla taas voitaisiin mahdollisesti käyttää atsatiopriinihoitoja, mikäli TPMT-aktiivisuutta voitaisiin testata yksilöllisesti

etukäteen ja arvioida annos sen perusteella (Salavaggione ym. 2004). Erot yksilöidenvälisissä TPMT-aktiivisuuksissa saattavat johtaa esimerkiksi atsatriopriinin kohdalla haittavaikutuksiin johtuen liian korkeasta lääkepitoisuudesta hitaamman metabolian vuoksi tai toisaalta alilääkintään, jos lääkepitoisuus on liian matala. Koska atsatriopriini saattaa aiheuttaa haittavaikutuksena luuydinsuppressiota myös sellaisille yksilöille, joiden TPMT-aktiivisuus on normaalina pidetty, jokaisen atsatriopriinia saavan potilaan huolellinen seuranta hoidon aikana on tärkeää (Kidd ym. 2004).

2.5.2 UDP-glukuronosyylitransferaasi (UGT)

Ihmisellä parasetamoli metaboloituu suurimmaksi osaksi glukuronidaatio- ja sulfaatioreaktioilla, mutta pieni osa muuttuu reaktiiviseksi metaboliitiksi, jonka glutationi inaktivoi (Moilanen ja Kankaanranta 2013). Glutationi sitoutuu reaktiivisiin metaboliitteihin ja konjugoi niitä paremmin erittyvään muotoon (Aronson ym. 1996). Court ja Greenblatt (1997) osoittivat, että kissalla parasetamolia glukuronidoivan UDP-glukuronosyylitransferaasin (UGT) aktiivisuus maksassa on merkitsevän alhainen verrattuna ihmiseen, koiraan, lehmään, hevoseen, apinaan, hiireen, sikaan, kaniin ja rottaan, mikä riittää selittämään kissan alttiuden parasetamolin toksisuudelle. Kissalla UGT1A-isoformeja ilmennetään maksassa vähemmän kuin muilla tutkituilla eläinlajeilla ja kissan UGT1A6-entsyymiä koodaava geeni on pseudogeeni, mikä johtaa toimimattomaan proteiiniin (Court ja Greenblatt 1997, 2000). UGT1A:n ja UGT2B:n isoformien harvalukuisempi ekspressio maksassa johtaa puutteelliseen tai hidastuneeseen lääkeaineiden, kuten parasetamolin ja morfiinin glukuronidaatioon kissalla (Yeh ym. 1971, Court ja Greenblatt 2000). Erot kissan ja muiden tutkittujen nisäkkäiden välillä saattavat johtua kissalle ominaisesta lihansyöjän ruokavaliosta sekasyöjiin verrattuna, jolloin kissan ei ole tarvinnut kyetä käsittelemään kasvien tiettyjä rakenteita, kuten fytoaleksiineja, glukuronidaation kautta ja glukuronidaatiokyky ei näin ollen ole ollut geneettisen valinnan kannalta merkittävä (Court ja Greenblatt 2000). Kissalla sulfaatiokyky on myös huonompaa kuin monella muulla eläinlajilla ja sulfaatioreitti saturoituu herkästi (Savides ym. 1984). Ramirez ym. (2011) ovat esittäneet, että myös kissan ABCG2-proteiinin puutteellinen toiminta saattaa ohjata

parasetamolin metaboliaa sulfaatiosta CYP-välitteisen metabolian suuntaan ja sitä kautta olla osallisena kissan huonoon parasetamolin sietokykyyn. Esimerkiksi ihmisellä parasetamolin yliannostus aiheuttaa maksavaurioita, mutta koira ja kissa ovat ainoat eläinlajit, joilla on toistaiseksi todettu parasetamolin aiheuttamaa methemoglobinemiaa ja hemolyyysiä (McConkey ym. 2009). Muun muassa Allen (2003) on esittänyt, että nämä hematotoksiset vaikutukset johtuisivat NAPQI-metaboliitista (N-asetyyli-p-bentsokinoni-imiini). McConkey ym. (2009) toteavat, ettei NAPQI kuitenkaan luultavasti ole se metaboliitti, joka on vastuussa methemoglobinemiaan johtavasta haittavaikutuksesta kissoilla ja koirilla. McConkeyn ym. (2009) mukaan parasetamolin hematotoksiset haittavaikutukset kissoilla ja koirilla johtuvat toisesta metaboliitista, para-aminofenolista, joka on toksisempaa punasoluille kuin maksasoluille. Para-aminofenolia kertyy koirilla ja kissoilla punasoluihin enemmän, koska niiltä puuttuu N-asetyylitransferaasi, joka esimerkiksi ihmisellä asetyloi para-aminofenolia uudelleen parasetamoliksi (McConkey ym. 2009, Court 2013).

2.5.3 N-asetyylitransferaasi (NAT)

Koiraeläimiltä puuttuvat kokonaan N-asetyylitransferaaseja (NAT1 ja NAT2) koodaavat geenit, joten koiran kyky metaboloida aryyliamiini- ja hydratsiiniyhdisteitä on puutteellinen (Trepanier ym. 1997). N-asetyylitransferaasien puute saattaa altistaa koiria sulfonamidien toksisille vaikutuksille (Trepanier 2004). Tämä ei kuitenkaan Trepanierin (2004) mukaan selitä koirayksilöiden erilaista herkkyyttä sulfonamidien toksisuusvaikutuksille. Mahdollinen yksilöiden välistä vaihtelua selvittävä tekijä voisi olla variaatio maksan CYP450-järjestelmän entsyymien perinnöllisissä eroissa (Trepanier 2004). Cribb ja Spielberg (1990) ovat esittäneet, että dobermanneilla todettu predispositio sulfonamiditoksisuudelle saattaa johtua rajoittuneesta sulfonamidien hydroksylamiinimetaboliittien detoksifikaatiokyvystä.

Trepanier ym. (1998) ovat todenneet, ettei kotikissoilla ole NAT2-entsyymiä koodaavia geenejä, mutta tämän variaation merkitys kliinisessä eläinlääketieteessä on vielä epäselvä. Sen sijaan NAT1-entsyymiä koodaavia geenejä kissalta löytyy, mutta kaiken

kaikkiaan solunsisäinen aryyliamiinien N-asetylaation aktiivisuus on kissalla matala (Trepanier ym. 1998).

Taulukkoon 4 on koottu lääkkeitä, joihin erilaisten farmakogeneettisten variaatioiden on todettu tai joihin niiden epäillään vaikuttavan. Kissan osalta variaatio CYP-entsyymiaktiivisuuksissa on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 4. Lääkeaineita, joiden farmakokinetiikkaan eläinlajien sisäisten tai välisten geneettisten variaatioiden on **todettu** tai *epäillä* vaikuttavan.

Lääkeaine	Mutaatio tai muu variaatio	Eläinlaji	
<i>apomorfiini</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Campbell ym. 2017)
asepromatsiini	ABCB1-1Δ	koira	(Deshpande ym. 2016)
<i>atipametsoli, ketamiini, medetomidiini, midatsolaami</i>	CYP2B11 (entsyymiä vähemmän)	englanninvintti-koira ym.	(Hay Kraus ym. 2000, Baratta ym. 2010)
<i>atsatiopriini</i>	TPMT	koira, kissa	(Salavaggione ym. 2002 ja 2004, Kidd ym. 2004)
<i>butorfanoli</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey 2006)
<i>deksametasoni</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey 2006)
<i>doksorubisiini</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey ym. 2003)
<i>digoksiini</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Verstuyft ym. 2003, Henik ym. 2006)
<i>emodepsidi</i>	ABCB1 ^a	kissa	(Mealey ja Burke 2015)
<i>fenobarbitaali</i>	ABCB1 ^c	koira	(Alves ym. 2011)
<i>fluorokinolonit (enro- ja pradofloksasiini)</i>	ABCG2 ^a	kissa	(Messias ym. 2008, Ramirez ym. 2011)
ivermektiini, milbemysiini, moksidektiini, selamektiini	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey ym. 2001, Mealey 2013)
<i>ivermektiini</i>	ABCB1 ^a	kissa	(Mealey 2013, Mealey ja Burke 2015)
<i>klomipramiini, lidokaiini, naprokseeni, ondansetroni, propafenoni, propranololi, verapamiili</i>	CYP1A2-null (nonsense-mutaatio C1117T)	koira	(Mise ym. 2004, Gunes ja Dahl 2008)
loperamidi	ABCB1-1Δ ^a	koira	(Sartor ym. 2004, Myers ym. 2015)
<i>meksiletiini</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Henik ym. 2006)

metoklopramidi	CYP2D14-mutaatio johtaa mm. pidempään puoliintumisaikaan	nauta	(Hamamoto ym. 2016)
<i>mitoksantroni</i>	ABCG2	kissa	(Ramirez ym. 2011)
<i>morfiini</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey 2006)
<i>ondansetroni</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey 2006)
parasetamoli	UGT, ABCG2, sulfaatiokyvyn puute	kissa	(Allen 2003, Savides ym. 1984, Court ja Greenblatt 1997 ja 2000, McConkey ym. 2009, Ramirez ym. 2011, Court 2013)
parasetamoli	NAT-entsyymien puutos aiheuttaa hematotoksisia hättävaiikutuksia	koira, kissa	(McConkey ym. 2009)
<i>propofoli</i>	CYP2B11 ^a (entsyymiä vähemmän)	englanninvintti-koira	(Court ym. 1999, Hay Kraus ym. 2000)
<i>selekoksibi</i>	CYP2D15-polymorfismi (nopeat ja hitaat metaboloijat)	beagle	(Paulson ym. 1999)
<i>setiritsiini</i>	ABCB1 ^d	hevonen	(Tydén ym. 2009)
<i>sulfonamidit</i>	NAT-entsyymejä koodaavat geenit puutteelliset (koiralta puuttuu NAT1 ja NAT2, kissalta NAT2)	koira, kissa	(Trepanier ym. 1997 ja 1998, Trepanier 2004)
<i>vinblastiini</i>	ABCB1-1Δ	koira	(Mealey ym. 2003)
vinkristiini	ABCB1-1Δ ^b	koira	(Mealey ym. 2008, Lind ym. 2013)

a) myös muita mekanismeja epäillään

b) myös muita mekanismeja, mahdollisesti muutoksia ABCB1-geenin promoottorialueella, introneissa tai epigenetiikassa tai mutaatiot CYP3A-entsyymeissä

c) epäilty mutaatio geenin promoottorialueella

d) setiritsiinin pitoisuus plasmassa nousee annettaessa ivermektiiniä ennen setiritsiinin annostelua

3 POHDINTA

Farmakogenetiikan tutkimus on kiihtynyt 2000-luvulla niin ihmis- kuin eläinlääkinnän piirissä. Genomien ja geenien tutkimusmenetelmien kehittäminen on vauhdittanut tätä kehitystä ja tulevaisuudessa saatetaan joiltain osin mennäkin lähemmäs yksilöllisiä, genomien perusteella suunniteltuja lääkehoitoja. Ennen kuin uusi lääkeaine pääsee ihmisillä tehtäviin tutkimuksiin, sen farmakokinetiikkaa ja mahdollisia toksisia vaikutuksia tutkitaan koe-eläimillä. Kun tiedetään koe-eläinlajien erot esimerkiksi eri kuljetinproteiinien ilmentymisessä, voidaan paremmin ekstrapoloida eläinkokeista saatavaa tietoa ihmiseen (Li ym. 2009).

Lääkkeiden pitoisuuteen elimistössä vaikuttavat yksilöllisten seikkojen, perimän, metabolian, iän, perussairauksien ja vastaavien lisäksi myös muut käytössä olevat lääkeaineet. Ihmisillä monilääkitys on tavallista etenkin vanhuksilla (Hartikainen 2002). Eläimillä monilääkitys ei ole yhtä yleistä, mutta esimerkiksi sydänsairauksien hoidossa lääkeyhdistelmät ovat yleisiä ja nykyisin trendi on yhä useammin se, että eläintä ollaan valmiimpia hoitamaan pidemmälle kuin aiemmin, jolloin tarvitaan lääkeaineyhdistelmiä. Lääkkeiden yhteisvaikutukset ilmenevät ihmisillä farmakodynamiikassa tai –kinetiikassa ja niitä ilmenee myös monilääkityillä eläimillä. Eläinlääkkeitä käsitteleviin hakuteoksiin onkin sisällytetty esimerkiksi luetteloita CYP-450-järjestelmää tai P-glykoproteiinin toimintaa estävistä lääkeaineista tai CYP-450-järjestelmän induktoreista. Tähän liseniaatin tutkielmaan ei mahtunut kattavaa katsausta eläimillä käytettyjen lääkkeiden yhteisvaikutusten kliinisestä merkityksestä, mutta sellaisesta saattaisi olla hyötyä käytännön potilastyössä. Mielenkiintoinen tutkimuksen kohde olisi myös, miten eläinlääkärit tällä hetkellä huomioivat lääkkeiden väliset tai lääkkeen ja ruoan väliset yhteisvaikutukset potilastyössään ja eläinten omistajille suunnatussa neuvonnassa.

CYP450-järjestelmän toimintaa ihmisen ja koiran välillä verrattaessa on huomioitava, että ihmisen ja koiran isoentsyymien välillä voi olla eroja substraateissa tai niiden affiniteetissa entsyymeihin (Martinez ym. 2013). Solukalvon kuljetinproteiineissa ja niiden substraateissa on myös todettu eroja eri eläinlajien ja -yksilöiden välillä.

Tutkimusmenetelmiä kehitetään koko ajan, mutta saattaisi olla hyvä jotenkin koordinoida tutkimusta ja siihen liittyviä laboratoriomenetelmiä, jotta tulokset olisivat varmasti vertailukelpoisia ja niistä johdettavissa oleva tieto hyödyttäisi praktisoivia eläinlääkäreitä parempien lääkehoitojen suunnittelussa ja toteutuksessa.

CYP450-järjestelmä käsittää vain osan mono-oksigenaasientsyyimeistä, jotka vastaavat suurelta osin lääkeaineiden ensivaiheen metaboliasta. Muita mono-oksigenaasijärjestelmään kuuluvia entsyymejä ovat sytokromi b_5 ja NADPH-sytokromi P450-reduktaasit (Nebbia ym. 2003). Nämä entsyymit toimivat yhdessä CYP450-entsyymien kanssa ja lisäävät ainakin joidenkin CYP450-entsyymien katalyyttistä aktiivisuutta (Yamazaki ym. 1996). Esimerkiksi hevosella sytokromi $b_5:n$ ja NADPH-P450-reduktaasin toiminta saattaa selittää CYP3A-entsyymin suuren aktiivisuuden ylähengitysteissä maksaan verrattuna, vaikka itse CYP3A-entsyymiä ilmennetäänkin maksassa enemmän ylähengitysteihin verrattuna (Tydén ym. 2008). Näihin entsyymeihin liittyvää tutkimusta tarvittaisiin eläinlääketieteessä lisää, jotta voitaisiin selvittää niiden merkitystä kliinisessä työssä.

Määriteltäessä lääkkeille varoaikoja yhdellä eläinlajilla saatuja tuloksia ei suoraan tulisi ekstrapoloida toisiin eläinlajeihin ilman tarkempia tutkimuksia (Nebbia ym. 2003). Erityisesti hevosella CYP450-metaboliassa on huomattavia eroja nautaan ja sikaan verrattuna, joten lääkejäämätutkimukset tulisi tehdä jokaiselle lajille erikseen (Nebbia ym. 2003). Näin käytännössä myös tehdään. Kuitenkin esimerkiksi naudalle rekisteröityjä lääkkeitä saatetaan toisinaan joutua käyttämään esimerkiksi lampaalle tai vuohelle, jolloin eläinlääkärin tulee määrittellä kaskadin mukainen varoaika (laki eläinten lääkitsemisestä 387/2014, MMMa lääkkeiden käytöstä ja luovutuksesta eläinlääkinnässä 17/2014). Varoaikoja määrittelevillä praktikoilla ei kuitenkaan välttämättä ole tietoa kyseisen lääkeaineen käyttäytymisestä toisilla eläinlajeilla, jolloin lääkejäämiä saattaa muodostua elintarvikkeisiin. Vaikka esimerkiksi mikrobilääkejäämiä testataankin maidosta ja lihasta, kaikkia lääkeaineita ei pystytä nyky menetelmillä tutkimaan riittävän kustannustehokkaasti ennen elintarvikkeen pääsyä kuluttajien saataville. Esimerkiksi naudalla tiettyjen CYP1A-entsyymien kautta metaboloituvien lääkeaineiden poistuminen elimistöstä saattaa olla lampaaseen ja vuohkeen verrattuna

moninkertaista (Szotáková ym. 2004), jolloin naudalle rekisteröidyn lääkevalmisteiden varoajan tulisi kenties lampaalla tai vuohella olla pidempi kuin naudalla. Eläinlajien välisten erojen tunteminen auttaisi arvioimaan eri eläinlajeille sopivia annoksia ja määrittämään tuotantoeläimille käytettävien, toiselle tuotantoeläinlajille hyväksytyjen lääkkeiden varoaikoja täsmällisemmin. Näin päädyttäisiin mahdollisesti parempaan tehoon tai vähäisempiin haittavaikutuksiin. Tutkimusta asiasta tarvitaan lisää.

Ajantasainen tieto eri lajien ja rotujen keskuudessa esiintyvistä geneettisistä variaatiosta auttaisi ideaalitulanteessa kliinikkoa lääkkeen valinnassa ja lääkehoidon suunnittelussa. Toistaiseksi kuitenkin suurin osa tutkimuksista on tehty sellaisilla lääkeaineilla, jotka esimerkiksi ihmisellä tiedetään jonkin tietyn CYP-isoentsyymin substraateiksi ja verrattu näitä eläinten vastaaviin metaboliareitteihin eivätkä tutkimuksissa käytetyt lääkeaineet välttämättä ole yleisessä käytössä eläinlääkinnässä. Osa tutkimuksista on tehty *in vitro* eikä niiden kliinisestä merkityksestä lääkehoitoihin voida vielä tehdä päätelmiä ilman jatkotutkimuksia.

Esimerkiksi ABCB1-geenimutaation aiheuttaman toimimattoman p-glykoproteiinin vaikutuksia koirien lääkkinnässä yleisesti käytettäviin lääkeaineisiin tunnetaan jo jonkin verran, mutta muiden solukalvon kuljetinproteiineista ja toisaalta esimerkiksi sytokromi P450 -entsyymien variaatiosta tarvitaan eri eläinlajeilla ja -roduilla runsaasti lisää tutkimusta, ennen kuin niiden kliininen merkitys praktisoivalle eläinlääkärille on selvillä.

Esimerkiksi amerikkalainen Paw Print Genetics tarjoaa ABCB1-geenityypitystä suoraan koirien omistajille, mutta testituloksen saaminen vaatii rekisteröitymisen palveluun ja näytteiden lähettämisen Yhdysvaltoihin (<https://www.pawprintgenetics.com/>). Potilaan vierellä tehtäviä geenipikatestejä on viime vuosina yritetty kehittää esimerkiksi ABCB1-geenin mutaation havaitsemiseksi (Stiedl ja Weber 2017). Potilaan äärellä tehtävät pikatestit voisivat ehkäistä joidenkin lääkehoitojen turhan rajaamisen pois jonkin rodun kaikilta yksilöiltä sillä perusteella, että jotkut yksilöt rodussa eivät siedä kyseistä lääkeainetta. Toisaalta kliinikon on pidettävä mielessä, että kaikki lääkeaineet eivät sovellu kissalle off label -käyttöön lajityypillisesti tiettyjen puutteellisten metaboliamekanismien vuoksi, jolloin geenitestit näiden mekanismien suhteen ovat kissalla tarpeettomia.

Eläinlajien farmakogeneettisten erojen tärkeys sekä kliinisessä eläinlääkinnässä että ihmis- ja eläinlääketutkimuksessa on tunnistettu ja tutkimusten määrä tällä alueella kasvaa koko ajan. Esimerkiksi ABCB1-1Δ-mutaation yleisyyttä on tutkittu useassa eri maassa eri puolilla maailmaa. Suomen tilanteesta tämän mutaation suhteen tutkimuksia on vähän. Yli 4000 koira kolmestatoista Euroopan maasta käsittäneessä tutkimuksessa Firdova ym. (2016) totesivat, että Suomessa colliella ABCB1-1Δ-mutaation suhteen mutanttialleelin yleisyys on 60,7 % ja shetlanninlammaskoirilla 30,8 % (Firdova ym. 2016). Esimerkiksi ivermektiiniä ei Suomessa käytännössä käytetä koirilla ollenkaan, vaikka esimerkiksi Mealeyn (2008) mukaan se soveltuu sydänmadon (*Dirofilaria immitis*) ehkäisyyn annoksella 6 µg/kg myös ABCB1-1Δ-mutaatiota homotsygoottisena kantaville koirille. Myös selamektiini, milbemyysiini ja moksidektiini soveltuvat tähän indikaatioon näille koirille suositusannoksilla (Mealey 2008). Sydänmatoa ei toistaiseksi esiinny endeemisenä Suomessa, mutta koirien matkustaessa esimerkiksi Välimeren maihin tartunnan ehkäisy olisi tärkeää eikä sitä kannattaisi jättää väliin koiran rodun vuoksi. Niin sanotut rescue-koirat ovat viime vuosina tuoneet aivan uudenlaisia haasteita eläinlääkintään. Näitä koiria tulee paljon maista, joissa esimerkiksi sydänmatoa esiintyy endeemisenä. Rescue-koirat ovat usein sekarotuisia eikä suomalainen eläinlääkäri todennäköisesti saa selville koiran sukupuuta tai periytymistä ennen hoitopäätöksen tekoa.

Uskon, että tulevaisuudessa löydetään lisää eläinlajien välisiä ja lajinsisäisiä farmakogeneettisiä eroja, jotka saattavat selittää joitakin anekdoottisia tietoja esimerkiksi lääkaineiden haittavaikutuksista. Toivon, että geenipikatestit yleistyvät ja niiden hinta mahdollistaa jatkossa ainakin lemmikkieläinten testaamisen ennen päätöstä tietyllä lääkkeellä hoidosta tai hoitamatta jättämisestä. Hannes Lohi tutkimusryhmineen on osoittanut, että myös Suomessa voidaan tehdä kansainvälisellä mittapuulla huippututkimusta eläinten genetiikan alalla. Lohen tutkimusryhmä tutkii parhaillaan muun muassa sitä, miksi pinsarit saavat rokotusreaktioita muunrotuisia koiria useammin, mutta muuten tutkimusryhmä on keskittynyt lähinnä koirien perinnöllisten sairauksien tutkimiseen ja tämän tiedon soveltamiseen ihmislääketieteessä. Toivon, että tutkimusta farmakogenetiikkaan liittyen tehdään tulevaisuudessa lisää myös Suomessa.

4 KIITOKSET

Suuret kiitokset työn ohjaajalle Marja Raekalliolle arvokkaista kommentteista nopealla aikataululla ja toisaalta kärsivällisyydestä työn valmistumista odottaessa. Kiitokset myös työn johtajalle Outi Vainiolle ja tarkastajalle Ira Kallio-Kujalalle. Suuret kiitokset opponetti Enni Tuutille, jonka innostus työn lukemista kohtaan motivoi kirjoittamaan sen valmiiksi ja hiomaan yksityiskohtia. Erityiskiitos äidille, isälle ja kaikille ystäville, jotka ovat auttaneet hevosten ruokinnassa ja hoidossa kirjoitusprosessin aikana.

5 KIRJALLISUUSLUETTELO

Allen AL. The diagnosis of acetaminophen toxicosis in a cat. *Can Vet J* 2003, 44: 509-510.

Alves L, Hülsmeier V, Jaggy A, Fischer A, Leeb T, Drögemüller M. Polymorphisms in the *ABCB1* gene in phenobarbital responsive and resistant idiopathic epileptic border collies. *J Vet Intern Med* 2011, 25: 484-489.

Antonissen G, Devreese M, De Baere S, Martel A, Van Immerseel F, Croubels S. Impact of *Fusarium* mycotoxins on hepatic and intestinal mRNA expression of cytochrome P450 enzymes and drug transporters, and on the pharmacokinetics of oral enrofloxacin in broiler chickens. *Food Chem Toxicol* 2017, 101: 75-83.

Aretz JS, Geyer J. Detection of the CYP1A2 1117C > T polymorphism in 14 dog breeds. *J Vet Pharmacol Ther* 2011, 34: 98-100.

Aronson LR, Drobatz K. Acetaminophen toxicosis in 17 cats. *J Vet Emerg Crit Car* 1996, 6: 65-69.

Asashima T, Hori S, Ohtsuki S, Tachikawa M, Watanabe M, Mukai C, Kitagaki S, Miyakoshi N, Terasaki T. ATP-binding cassette transporter G2 mediates the efflux of phototoxins on the luminal membrane of retinal capillary endothelial cells. *Pharm Res* 2006, 23: 1235-1242.

Azuma R, Komuro M, Kawaguchi Y, Okudaira K, Hayashi M, Kiwada H. Comparative analysis of *in vitro* and *in vivo* pharmacokinetic parameters related to individual variability of GTS-21 in canine. *Drug Metab Pharmacok* 2002, 17: 75-82.

Baratta MT, Zaya MJ, White JA, Locuson CW. Canine CYP2B11 metabolizes and is inhibited by anesthetic agents often co-administered in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2010, 33: 50-55.

Baririan N, Desager J-P, Petit M, Horsmans Y. CYP3A4 activity in four different animal species liver microsomes using 7-benzyloxyquinoline and HPLC/spectrofluorometric determination. *J Pharmaceut Biomed* 2006, 40: 211-214.

Bártiková H, Křížová V, Štěpničková M, Lamka J, Kubíček V, Skálová L, Szotáková B. Activities of biotransformation enzymes and flubendazole metabolism in lambs (*Ovis aries*): effect of gender and flubendazole therapy. *Pharmacol Rep* 2010, 62: 362-373.

van Beusekom CD, Schipper L, Fink-Gremmels J. Cytochrome P450-mediated hepatic metabolism of new fluorescent substrates in cats and dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2010, 33: 519-527.

Bissonnette S, Paradis M, Daneau I, Silversides DW. The *ABCB1-1Δ* mutation is not responsible for subchronic neurotoxicity seen in dogs of non-collie breeds following macrocyclic lactone treatment for generalized demodicosis. *Vet Dermatol* 2009, 20: 60-66.

Blaisdell J, Goldstein JA, Bai SA. Isolation of a new canine cytochrome P450 cDNA from the cytochrome P450 2C subfamily (CYP2C41) and evidence for polymorphic differences in its expression. *Drug Metab Dispos* 1998, 26: 278-283.

Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J. The multidrug resistance protein family. *Biochim Biophys Acta* 1999, 1461: 347-357.

Brandin H, Viitanen E, Myrberg O, Arvidsson A-K. Effects of herbal medicinal products and food supplements on induction of CYP1A2, CYP3A4 and MDR1 in the human colon carcinoma cell line LS180. *Phytoter Res* 2007, 21: 239-244.

Campbell O, de Lorimier L-P, Mealey KL. Adverse reaction to apomorphine in a Collie homozygous for the *ABCB1-1Δ* (*MDR1*) mutation. *J Small Anim Pract* 2017, 58: 119.

Chauret N, Gauthier A, Martin J, Nicoll-Griffith DA. *In vitro* comparison of cytochrome P450-mediated metabolic activities in human, dog, cat, and horse. *Drug Metab Dispos* 1997, 25: 1130-1136.

Chesné C, Guyomard C, Guillouzo A, Schmid J, Ludwig E, Sauter T. Metabolism of meloxicam in human liver involves cytochromes P4502C9 and 3A4. *Xenobiotica* 1998, 28: 1-13.

Conrad S, Viertelhaus A, Orzechowski A, Hoogstraate J, Gjellan K, Schrenk D, Kauffmann H-M. Sequencing and tissue distribution of the canine MRP2 gene compared with MRP1 and MDR1. *Toxicology* 2001, 156: 81-91.

Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, Rittman-Grauer L, Biedler JL, Melamed MR, Bertino JR. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *P Natl Acad Sci USA* 1989, 86: 695-698.

Cortright KA, Craigmill AL. Cytochrome P450-dependent metabolism of midazolam in hepatic microsomes from chickens, turkeys, pheasant and bobwhite quail. *J Vet Pharmacol Ther* 2006, 29: 469-476.

Court MH. Anesthesia of the Sighthound. *Clin Tech Small An P* 1999, 14: 38-43.

Court MH. Feline drug metabolism and disposition: pharmacokinetic evidence for species differences and molecular mechanisms. *Vet Clin N Am-Small* 2013, 43: 1039-1054.

Court MH, Greenblatt DJ. Molecular basis for deficient acetaminophen glucuronidation in cats. *Biochem Pharmacol* 1997, 53: 1041-1047.

Court MH, Greenblatt DJ. Molecular genetic basis for deficient acetaminophen glucuronidation by cats: UGT1A6 is a pseudogene, and evidence for reduced diversity of expressed hepatic UGT1A isoforms. *Pharmacogenetics* 2000, 10: 355-369.

Court MH, Hay-Kraus BL, Hill DW, Kind AJ, Greenblatt DJ. Propofol hydroxylation by dog liver microsomes: assay development and dog breed differences. *Drug Metab Dispos* 1999, 27: 1293-1299.

Cribb AE, Spielberg SP. An *in vitro* investigation of predisposition to sulphonamide idiosyncratic toxicity in dogs. *Vet Res Commun* 1990, 14: 241-252.

Darwish WS, Ikenaka Y, Eldaly EA, Ohno M, Sakamoto KQ, Fujita S, Ishizuka M. Cytochrome P450 1A-dependent activities in deer, cattle and horses. *J Vet Med Sci* 2010, 5: 561-566.

Deshpande D, Hill KE, Mealey KL, Chambers JP, Giese MA. The effect of the canine *ABCB1-1Δ* mutation on sedation after intravenous administration of acepromazine. *J Vet Intern Med* 2016, 30: 636-641.

DiMaio Knych HK, Stanley SD. Complementary DNA cloning, functional expression and characterization of a novel cytochrome P450, CYP2D50, from equine liver. *Biochem Pharmacol* 2008, 76: 904-911.

DiMaio Knych HK, DeStefano Shields C, Buckpitt AR, Stanley SD. Equine cytochrome P450 2C92: cDNA cloning, expression and initial characterization. *Arch Biochem Biophys* 2009, 485: 49-55.

Dowling P. Pharmacogenetics: It's not just about ivermectin in collies. *Can Vet J* 2006, 47: 1165-1168.

Fecht S, Wöhlke A, Hamann H, Distl O. Analysis of the canine *mdr1-1Δ* mutation in the dog breed elo. *J Vet Med A* 2007, 54: 401-405.

Firdova Z, Turnova E, Bielikova M, Turna J, Dudas A. The prevalence of *ABCB1:c.227_230delATAG* mutation in affected dog breeds from European countries. *Res Vet Sci* 2016, 106: 89-92.

Fleischer S, Sharkey M, Mealey K, Ostrander EA, Martinez M. Pharmacogenetic and metabolic differences between dog breeds: their impact on canine medicine and the use of the dog as a preclinical animal model. *AAPS J* 2008, 10: 110-119.

Forbes NA. Avian Anesthesia. *Vet Quart* 1998, 20 (suppl 1): S65-S66.

Gelatt KN, van der Woerd A, Ketring KL, Andrew SE, Brooks DE, Biros DJ, Denis HM, Cutler TJ. Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet Ophthalmol* 2011, 4: 99-106.

Geyer J, Klintzsch S, Meerkamp K, Wöhlke A, Distl O, Moritz A, Petzinger E. Detection of the nt230(del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs; case reports of doramectin toxicosis, breed disposition, and microsatellite analysis. *J Vet Pharmacol Ther* 2007, 30: 482-485.

Gramer I, Leidolf R, Döring B, Klintzsch S, Krämer E-M, Yalcin E, Petzinger E, Geyer J. Breed distribution of the nt230(del4) *MDR1* mutation in dogs. *Vet J* 2011, 189: 67-71.

Guengerich FP. Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999, 39: 1-17.

Gunes A, Dahl M-L. Variation of CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics* 2008, 9: 625-637.

Hamamoto K, Mizuno Y, Kijima M, Abe T, Kobayashi E, Kato M, Yamagishi N, Furuhami K. Cytochrome P450 2D14 (CYP2D14) gene deletion variants in the Japanese Black Cattle and characterization of their effects on metoclopramide pharmacokinetics. *J Vet Sci Techno* 2016, 7: 03.

Haritova AM, Krastev SZ, Santos RR, Schrickx JA, Fink-Gremmels J. ABC transporters in the eyes of dogs and implications in drug therapy. *Curr Eye Res* 2013, 38: 271-277.

Hartikainen S. Iäkkään monilääkitys. *Lääketeieteellinen aikakauskirja Duodecim* 2002, 118: 385-391.

Hay Kraus BL, Greenblatt DJ, Venkatakrisnan K, Court MH. Evidence for propofol hydroxylation by cytochrome P4502B11 in canine liver microsomes: breed and gender differences. *Xenobiotica* 2000, 30: 575-588.

Henik RA, Kellum HB, Bentjen SA, Mealey KL. Digoxin and mexiletine sensitivity in a Collie with the MDR1 mutation. *J Vet Intern Med* 2006, 20: 415-417.

Huang Q, Gehring R, Tell LA, Li M, Riviere JE. Interspecies allometric meta-analysis of the comparative pharmacokinetics of 85 drugs across veterinary and laboratory animal species. *J Vet Pharmacol Ther* 2015, 38: 214-226.

Hugnet C, Bentjen SA, Mealey KL. Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of collies in France. *J Vet Pharmacol Ther* 2004, 27: 227-229.

Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* 2004, 25: 193-200.

Kamimura H. Genetic polymorphism of cytochrome P450s in beagles: possible influence of CYP1A2 deficiency on toxicological evaluations. *Arch Toxicol* 2006, 80: 732-738.

Kawabata A, Momoi Y, Inoue-Murayama M, Iwasaki T. Canine *mdr1* gene mutation in Japan. *J Vet Med Sci* 2005, 67: 1103-1107.

Khalil WF, Saitoh T, Shimoda M, Kokue E. *In vitro* cytochrome P450-mediated hepatic activities for five substrates in specific pathogen free chickens. *J Vet Pharmacol Ther* 2001, 24: 343-348.

Kharasch ED, Thummel KE. Identification of cytochrome P450 2E1 as the predominant enzyme catalyzing human liver microsomal defluorination of sevoflurane, isoflurane, and methoxyflurane. *Anesthesiology* 1993, 79: 795-807.

Kidd LB, Salavaggione OE, Szumlanski CL, Miller JL, Weinshilboum RM, Trepanier L. Thiopurine methyltransferase activity in red blood cells of dogs. *J Vet Intern Med* 2004, 18: 214-218.

Křížová-Forstová V, Lamka J, Cvilink V, Hanušová V, Skálová L. Factors affecting pharmacokinetics of benzimidazole anthelmintics in food-producing animals: The consequences and potential risks. *Res Vet Sci* 2011, 91: 333-341.

KuKanich B, Coetzee JF. Comparative pharmacokinetics of amikacin in Greyhound and Beagle dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2008, 31: 102-107.

Kukanich B, Coetzee JF, Gehring R, Hubin M. Comparative disposition of pharmacologic markers for cytochrome P-450 mediated metabolism, glomerular filtration rate, and extracellular and total body fluid volume of Greyhound and Beagle dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2007, 30: 314-319.

Lankford SM, Bai SA, Goldstein JA. Cloning of canine cytochrome P450 2E1 cDNA: identification and characterization of two variant alleles. *Drug Metab Dispos* 2000, 28: 981-986.

Leslie EM, Deeley RG, Cole SPC. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol Appl Pharm* 2005, 204: 216-237.

Lespine A, Dupuy J, Orlowski S, Nagy T, Glavinas H, Krajcsi P, Alvineri M. Interaction of ivermectin with multidrug resistance proteins (MRP1, 2 and 3). *Chem-Biol Interact* 2006, 159: 169-179.

Li N, Palandra J, Nemirovskiy OV, Lai Y. LC-MS/MS mediated absolute quantification and comparison of bile salt export pump and breast cancer resistance protein in livers and heptaocytes across species. *Anal Chem* 2009, 81: 2251-2259.

Lind DL, Fidel JL, Gay JM, Mealey KL. Evaluation of vincristine-associated myelosuppression in border collies. *Am J Vet Res* 2013, 74: 257-261.

Liu Y, Peng H, Zhang J-T. Expression profiling of ABC transporters in a drug-resistant breast cancer cell line using AmpArray. *Mol Pharmacol* 2005, 68: 430-438.

Martinez M, Modric S, Sharkey M, Troutman L, Walker L, Mealey K. The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 2008, 31: 285-300.

Martinez MN, Antonovic L, Court M, Dacasto M, Fink-Gremmels J, Kukanich B, Locuson C, Mealey K, Myers MJ, Trepanier L. Challenges in exploring the cytochrome P450 system as a source of variation in canine drug pharmacokinetics. *Drug Metab Rev* 2013, 45: 218-230.

McAnulty JF, Lensmeyer GL. The effects of ketoconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine A in cats. *Vet Surg* 1999, 28: 448-455.

McConkey SE, Grant DM, Cribb AE. The role of para-aminophenol in acetaminophen-induced methemoglobinemia in dogs and cats. *J Vet Pharmacol Ther* 2009, 32: 585-595.

Mealey KL. Adverse drug reactions in herding-breed dogs: the role of P-glycoprotein. *Compendium* 2006, 28: 23-33.

Mealey KL. Canine *ABCB1* and macrocyclic lactones: Heartworm prevention and pharmacogenetics. *Vet Parasitol* 2008, 158: 215-222.

Mealey KL. ABCG2 transporter: therapeutic and physiologic implications in veterinary species. *J Vet Pharmacol Ther* 2012, 35: 105-112.

Mealey KL. Adverse drug reactions in veterinary patients associated with drug transporters. *Vet Clin N Am-Small* 2013, 43: 1067-1078.

Mealey KL, Meurs KM. Breed distribution of the *ABCB1-1Δ* (multidrug sensitivity) polymorphism among dogs undergoing *ABCB1* genotyping. *J Am Vet Med A* 2008, 233: 921-924.

Mealey KL, Burke NS. Identification of a nonsense mutation in feline *ABCB1*. *J Vet Pharmacol Ther* 2015, 38: 429-433.

Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Cantor CH. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics* 2001, 11: 727-733.

Mealey KL, Northrup NC, Bentjen SA. Increased toxicity of P-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the *MDR1* deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Am Vet Med A* 2003, 223: 1453-1455.

Mealey KL, Munyard KA, Bentjen SA. Frequency of the mutant *MDR1* allele associated with multidrug sensitivity in a sample of herding breed dogs living in Australia. *Vet Parasitol* 2005, 131: 193-196.

Mealey KL, Fidel J, Gay JM, Impellizeri JA, Clifford CA, Bergman PJ. ABCB1-1Δ polymorphism can predict hematologic toxicity in dogs treated with vincristine. *J Vet Intern Med* 2008, 22: 996-1000.

Mealey KL, Waiting D, Raunig DL, Schmidt KR, Nelson FR. Oral bioavailability of P-glycoprotein substrate drugs do not differ between *ABCB1-1Δ* and *ABCB1* wild type dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2010, 33: 453-460.

Messias A, Gekeler F, Wegener A, Dietz K, Kohler K, Zrenner E. Retinal safety of a new fluoroquinolone, pradofloxacin, in cats: assessment with electroretinography. *Doc Ophthalmol* 2008, 116: 177-191.

Mise M, Hashizume T, Matsumoto S, Terauchi Y, Fujii T. Identification of non-functional allelic variant of CYP1A2 in dogs. *Pharmacogenetics* 2004, 14: 769-773.

Modric S, Martinez M. Patient variation in veterinary medicine – Part II – Influence of physiological variables. *J Vet Pharmacol Ther* 2011, 34: 209-223.

Moilanen E, Kankaanranta H. Eikosanoidit ja tulehduskipulääkkeet. Teoksessa: Koulu M, Mervaala E (toim.) *Farmakologia ja toksikologia*. 9. p. Kustannusosakeyhtiö Medicina, Kuopio 2013: 307-342.

Monobe MM, Araujo JP, Lunsford KV, Silva RC, Bulla C. Frequency of the MDR1 mutant allele associated with multidrug sensitivity in dogs from Brazil. *Veterinary medicine: Research and Reports* 2015, 6: 111-117.

Myers MJ, Martinez M, Li H, Qiu J, Troutman L, Sharkey M, Yancy HF. Influence of ABCB1 genotype in collies on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of loperamide in a dose-escalation study. *Drug Metab Dispos* 2015, 43: 1392-1407.

Nebbia C, Dacasto M, Rossetto Giaccherino A, Giuliano Albo A, Carletti M. Comparative expression of liver cytochrome P450-dependent monooxygenases in the horse and in other agricultural and laboratory species. *Vet J* 2003, 165: 53-64.

Nebbia C, Dacasto M, Carletti M. Postnatal development of hepatic oxidative, hydrolytic and conjugative drug-metabolizing enzymes in female horses. *Life Sci* 2004, 74: 1605-1619.

Nebert DW, Gonzalez FJ. P450 genes: structure, evolution and regulation. *Annu Rev Biochem* 1987, 56: 945-993.

Nebert DW, Russel DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *The Lancet* 2002, 360: 1155-1162.

Neff MW, Robertson KR, Wong AK, Safra N, Broman KW, Slatkin M, Mealey KL, Pedersen NC. Breed distribution and history of canine *mdr1-1Δ*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *P Natl Acad Sci USA* 2004, 101: 11725-11730.

Ohtsuki S, Terasaki T. Contribution of carrier-mediated transport systems to the blood-brain barrier as a supporting and protecting interface for the brain; Importance for CNS drug discovery and development. *Pharm Res* 2007, 24: 1745-1758.

Okai Y, Nakamura N, Matsushiro H, Kato H, Setoguchi A, Yazawa M, Okuda M, Watari T, Hasegawa A, Tsujimoto H. Molecular analysis of multidrug resistance in feline lymphoma cells. *Am J Vet Res* 2000, 61: 1122-1127.

Olsén L, Ingvast-Larsson C, Bondesson U, Broström H, Tjälve H, Larsson P. Cetirizine in horses: pharmacokinetics and effect of ivermectin pretreatment. *J Vet Pharmacol Ther* 2007, 30: 194-200.

Osselaere A, De Bock L, Eeckhaut V, De Backer P, Van Bocxlaer J, Boussery K, Croubels S. Hepatic and intestinal CYP3A expression and activity in broilers. *J Vet Pharmacol Ther* 2013, 36: 588-593.

Oswald H, Sharkey M, Pade D, Martinez MN. Canine gastrointestinal physiology: breed variations that can influence drug absorption. *Eur J Pharm Biopharm* 2015, 97: 192-203.

Ourlin J-C, Baader M, Fraser D, Halpert JR, Meyer UA. Cloning and functional expression of a first inducible avian cytochrome P450 of the CYP3A subfamily (CYP3A37). *Arch Biochem Biophys* 2000, 373: 375-384.

Parton K, Wiffen EM, Haglund ND, Cave NJ. Macrocyclic lactone toxicity due to abamectin in farm dogs without the ABCB1 gene mutation. *New Zeal Vet J* 2012, 60: 194-197.

Paul AJ, Tranquilli WJ, Seward RL, Todd KS, Dipietro JA. Clinical observations in collies given ivermectin orally. *Am J Vet Res* 1987, 48: 684-685.

Paulson SK, Engel L, Reitz B, Bolten S, Burton EG, Maziasz TJ, Yan B, Schoenhard GL. Evidence for polymorphism in the canine metabolism of the cyclooxygenase 2 inhibitor, celecoxib. *Drug Metab Dispos* 1999, 27: 1133-1142.

Pawlowski KM, Mucha J, Majchrzak K, Motyl T, Król M. Expression and role of PGP, BRCP, MRP1 and MRP3 in multidrug resistance of canine mammary cancer cells. *BMC Vet Res* 2013, 9: 119.

Ramirez CJ, Minch JD, Gay JM, Lahmers SM, Guerra DJ, Haldorson GJ, Schneider T, Mealey KL. Molecular genetic basis for fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *Pharmacogenet Genom* 2011, 21: 66-75.

Roulet A, Puel O, Gesta S, Lepage J-F, Drag M, Soll M, Alvinerie M, Pineau T. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur J Pharmacol* 2003, 460: 85-91.

Salavaggione OE, Kidd L, Prondzinski JL, Szumlanski CL, Pankratz VS, Wang L, Trepanier L, Weinshilboum RM. Canine red blood cell thiopurine S-methyltransferase: companion animal pharmacogenetics. *Pharmacogenetics* 2002, 12: 713-724.

Salavaggione OE, Yang C, Kidd LB, Thomae BA, Pankratz VS, Trepanier LA, Weinshilboum RM. Cat red blood cell thiopurine S-methyltransferase: companion animal pharmacogenetics. *J Pharmacol Exp Ther* 2004, 308: 617-626.

Sams RA, Muir WW. Effects of phenobarbital on thiopental pharmacokinetics in Greyhounds. *Am J Vet Res* 1988, 49: 245-249.

Sams RA, Muir WW, Detra RL, Robinson EP. Comparative pharmacokinetics and anesthetic effects of methohexital, pentobarbital, thiamylal, and thiopental in Greyhound dogs and non-Greyhound, mixed-breed dogs. *Am J Vet Res* 1985, 46: 1677-1683.

Sartor LL, Bentjen SA, Trepanier L, Mealey KL. Loperamide toxicity in a collie with the MDR1 mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Vet Intern Med* 2004, 18: 117-118.

Savides MC, Oehme FW, Nash SL, Leipold HW. The toxicity and biotransformation of single doses of acetaminophen in dogs and cats. *Toxicol Appl Pharm* 1984, 74: 26-34.

Schmitz A, Demmel S, Peters LM, Leeb T, Mevissen M, Haase B. Comparative human-horse sequence analysis of the *CYP3A* subfamily gene cluster. *Anim Genet* 2010, 41: 72-79.

Schrickx JA, Fink-Gremmels J. Implications of ABC transporters on the disposition of typical veterinary medicinal products. *Eur J Pharmacol* 2008, 585: 510-519.

Shah SS, Sanda S, Regmi NL, Sasaki K, Shimoda M. Characterization of cytochrome P450-mediated drug metabolism in cats. *J Vet Pharmacol Ther* 2007, 30: 422-428.

Sherman JG. Understanding the impact of P-glycoprotein mutation on canine health. *Vet J* 2011, 190: 13-14.

Spencer ES, Minch J, Lahmers KK, Haldorson GJ, Mealey KL. Canine *ABCB4*: Tissue expression and cDNA structure. *Res Vet Sci* 2010, 89: 65-71.

Stiedl CP, Weber K. Fast and simple detection methods for the 4-base pair deletion of canine *MDR1/ABCB1* gene by PCR and isothermal amplification. *J Vet Diagn Invest* 2017, 29: 176-180.

- Sugawara I, Kataoka I, Morishita Y, Hamada H, Tsuruo T, Itoyama S, Mori S. Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug-resistant gene as revealed by a monoclonal antibody, MRK 16. *Cancer Res* 1988, 48: 1926-1929.
- Szotáková B, Baliharová V, Lamka J, Nožinová E, Wsól V, Velík J, Machala M, Neča J, Souček P, Šusová S, Skálová L. Comparison of *in vitro* activities of biotransformation enzymes in pig, cattle, goat and sheep. *Res Vet Sci* 2004, 76: 43-51.
- Tanaka N, Shinkyō R, Sakaki T, Kasamatsu M, Imaoka S, Funae Y, Yokota H. Cytochrome P450 2E polymorphism in feline liver. *Biochim Biophys Acta* 2005, 1726: 194-205.
- Tanaka N, Miyasho T, Shinkyō R, Sakaki T, Yokota H. cDNA cloning and characterization of feline CYP1A1 and CYP1A2. *Life Sci* 2006, 79: 2463-2473.
- Tappin SW, Goodfellow MR, Peters IR, Day MJ, Hall EJ, Mealey KL. Frequency of the mutant *MDR1* allele in dogs in the UK. *Vet Rec* 2012, 171: 72.
- Tenmizu D, Endo Y, Noguchi K, Kamimura H. Identification of the novel canine CYP1A2 1117 C > T causing protein deletion. *Xenobiotica* 2004, 34: 835-846.
- Tenmizu D, Noguchi K, Kamimura H, Ohtani H, Sawada Y. The canine CYP1A2 deficiency polymorphism dramatically affects the pharmacokinetics of 4-cyclohexyl-1-ethyl-7-methylpyrido[2,3-*D*]-pyrimidine-2-(1*H*)-one (YM-64227), a phosphodiesterase type 4 inhibitor. *Drug Metab Dispos* 2006, 34: 800-806.
- Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *P Natl Acad Sci USA* 1987, 84: 7735-7738.
- Trepanier LA. Idiosyncratic toxicity associated with potentiated sulfonamides in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 2004, 27: 129-138.
- Trepanier LA. Cytochrome P450 and its role in veterinary drug interactions. *Vet Clin N Am-Small* 2006, 36: 975-985.

Trepanier LA, Ray K, Winand NJ, Spielberg SP, Cribb AE. Cytosolic arylamine *N*-acetyltransferase (NAT) deficiency in the dog and other canids due to an absence of NAT genes. *Biochem Pharmacol* 1997, 54: 73-80.

Trepanier LA, Cribb AE, Spielberg SP, Ray K. Deficiency of cytosolic arylamine *N*-acetylation in the domestic cat and wild felids caused by the presence of a single *NAT1*-like gene. *Pharmacogenetics* 1998, 8: 169-179.

Tydén E, Olsén L, Tallkvist J, Larsson P, Tjälve H. CYP3A in horse intestines. *Toxicol Appl Pharm* 2004, 201: 112-119.

Tydén E, Olsén L, Tallkvist J, Tjälve H, Larsson P. Cytochrome P450 3A, NADPH cytochrome P450 reductase and cytochrome *b*₅ in the upper airways in the horse. *Res Vet Sci* 2008, 85: 80-85.

Tydén E, Tallkvist J, Tjälve H, Larsson P. P-glycoprotein in intestines, liver, kidney and lymphocytes in horse. *J Vet Pharmacol Ther* 2009, 32: 167-176.

Tydén E, Björnström H, Tjälve H, Larsson P. Expression and localization of BCRP, MRP1 and MRP2 in intestines, liver and kidney in the horse. *J Vet Pharmacol Ther* 2010, 33: 332-340.

Tydén E, Löfgren M, Pegolo S, Capolongo F, Tjälve H, Larsson P. Differential gene expression of CYP3A isoforms in equine liver and intestines. *J Vet Pharmacol Ther* 2012, 35: 588-595.

Verstuyft C, Schwab M, Schaeffeler E, Kerb R, Brinkmann U, Jaillon P, Funck-Brentano C, Becquemont L. Digoxin pharmacokinetics and *MDR1* genetic polymorphisms. *Eur J Clin Pharmacol* 2003, 58: 809-812.

Vickers AEM, Fischer V, Connors S, Fisher RL, Baldeck J-P, Maurer G, Brendel K. Cyclosporin A metabolism in human liver, kidney and intestine slices. Comparison to rat and dog slices and human cell lines. *Drug Metab Dispos* 1992, 20: 802-809.

Vuchetich JP, Weinshilboum RM, Price RA. Segregation analysis of human red blood cell thiopurine methyltransferase activity. *Genet Epidemiol* 1995, 12: 1-11.

Wen X, Wang J-S, Backman JT, Laitila J, Neuvonen PJ. Trimethoprim and sulfamethoxazole are selective inhibitors of CYP2C8 and CYP2C9, respectively. *Drug Metab Dispos* 2002, 30: 631-635.

White SD, Rosychuk AW, Outerbridge CA, Fieseler KV, Spier S, Ihrke PJ, Chapman PL. Thiopurine methyltransferase in red blood cells of dogs, cats and horses. *J Vet Intern Med* 2000, 14: 499-502.

Yamazaki H, Nakano M, Imai Y, Ueng Y-F, Guengerich FP, Shimada T. Roles of cytochrome b₅ in the oxidation of testosterone and nifedipine by recombinant cytochrome P450 2A4 and by human liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1996, 325: 174-182.

Yeh SY, Chernov HI, Woods LA. Metabolism of morphine by cats. *J Pharm Sci* 1971, 60: 469-471.

Zandvliet M, Teske E, Schrickx JA. Multi-drug resistance in a canine lymphoid cell line due to increased P-glycoprotein expression, a potential model for drug-resistant canine lymphoma. *Toxicol In Vitro* 2014, 28: 1498-1506.

Zhang L-L, Zhang J-R, Guo K, Ji H, Zhang Y, Jiang S-X. Effects of fluoroquinolones on CYP4501A and 3A in male broilers. *Res Vet Sci* 2011, 90: 99-105.

Zhu M, Yancy HF, Deaver C, Jones YL, Myers MJ. Loperamide-induced expression of immune and inflammatory genes in Collies associated with ivermectin sensitivity. *J Vet Pharmacol Ther* 2015, 39: 131-137.