مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره سیزدهم، شمارهٔ ۴، تیر ۱۳۹۰، صفحه ۲۵-۱۹

فنوتیپ فعالیت متابولیکی آنزیم سیتوکروم پی 3A (CYP3A) با تجویز میدازولام خوراکی در نمونه ای از داوطلبین سالم مازندرانی

محمدرضا شیران(PhD)[۱]، سعید قارویی آهنگر(MD)[۲]، شهاب رستمکلایی(MD)[۲]، سیدعلی اصغر سفیدگر(PhD)[۳]،

محمود برادران(PhD)[۴]، ماریا هاشمی(BSc)[۲]، مهرانگیز بالغی(BSc)[۲]، علی اکبر مقدم نیا(PhD)[۴*]

۱- گروه فارماکولوژی و فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲- دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳- گروه قارچ و انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴- گروه فارماکولوژی و فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۸۹/۱۱/۲۴ اصلاح: ۸۹/۱۲/۲۰ پذیرش: ۹۰/۲/۷

خلاصه

سابقه و هدف: آنزیم سیتوکروم پی 3A از مهمترین آنزیمهای کبدی- روده ای است که بیش از ۵۰ درصد داروهای موجود در بازار نیز عمدتاً بـه وسـیله آن متـابولیزه و از بدن حذف می شوند. فعالیت متابولیکی این آنزیم به فاکتورهای متعددی بستگی دارد. از آنجائیکه تا کنون مطالعه ای سیستماتیک از فعالیت آنـزیم سـیتوکروم پـی 3A در جمعیت ایرانی انجام نگرفته، این مطالعه به منظور بررسی فعالیت داخل بدنی آنزیم فوق با کمک میدازولام (به عنوان پروپ) در داوطلبین سالم مازندرانی انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه مقطعی بر روی ۱۰۰ داوطلب سالم مازندرانی انجام شد. پس از ثبت اطلاعات دموگرافیکی افراد (شامل سن، جنس، وزن)، ۱۰ میلی گـرم شـربت میدازولام تجویز شد، سپس غلظت پلاسمایی میدازولام در نمونه های خونی جمع آوری شده در زمانهای۰/۵، ۲ و ۶ ساعت بعد از تجویز، بـا اسـتفاده از دسـتگاه HPLC اندازه گیری شد. با استفاده از نرم افزار کینتیکی P-Pharm، کلیرانس خوراکی میدازولام (CL/F) بعنوان معیاری از فعالیت آنزیم سیتوکروم پی 3A محاسبه گردید.

یافته ها: میانگین سنی افراد تحت مطالعه ۶/۹±۲۴/۵ سال بود. ۱۸ نفر زن و بقیه مرد بودند. داوطلبین پس از خوردن میدازولام در تمام موارد حالت خواب آلودگی را تجربه کردند. میانگین کلیرانس خوراکی میدازولام ۲۰/۹۸±۷۷/۲۲ لیتر بر ساعت بود که در خانمها (۱۵/۱۹±۸۳/۷۹ لیتر بر ساعت) بیشتر از آقایان (۲۱/۸۵±۷۵/۶۸ لیتر بر ساعت) بود (p<۰/۰۰۱). حجم ظاهری انتشار کلی ۵۰/۴۴ ±۳۱۲/۶۵ لیتر و نیمه عمر حذف ۰/۶۸±۲/۹۶ به دست آمد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم سیتوکروم پی 3A در افراد ما در حد متوسط و طبیعی می باشد و کلیرانس خوراکی میدازولام در خانمها نیز بیشتر از آقایان می باشد.

واژه های کلیدی: ***فنوتیپ CYP3A، میدازولام، کلیرانس، متابولیسم کبدی.***

مقدمه

تفاوتهای بین فردی زیادی در پاسخ به داروها و عوامل فارماکولوژیک وجـود دارند (۱). وقتی دارویی با دوز یکسان بـه دو فـرد بـا وزن تقریبـا یکـسان تجـویز می شود، تفاوت غلظت پلاسمایی می تواند تا بیش از هزار برابر متغیـر باشـد (۲). تداخلات بین دارو- دارو، دارو- غذا، جنس، سن، تغییـرات در فعالیـت متـابولیکی آنزیمهای کبدی و روده ای خصوصاً سیتوکرومهای کبدی، همگی می تواننـد بـر تفاوتهای بین فردی در پاسخ به اثر داروها تأثیر گذار باشند. هـر چنـد پاسـخ بـین فردی به عوامل دارویی، مـی توانـد کـاملاً تکرارپـذیر باشـد ولـی ممکـن اسـت تفاوت های ژنتیکی نیز در بروز پاسخ به داروها دخیـل باشـند (۳). عامـل ژنتیـک مسئول ۲۰ تا ۹۵ درصد تنوع در متابولیسم و بروز اثرات بیولوژیک داروها می باشد (۴). گرچه خانواده آنزیمهای موسوم به سایتوکروم ها (CYP) گستردگی زیـادی

▣ این مقاله حاصل پایان نامه دانشجو سعید قارویی آهنگر دانشجو پزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۲۰۱۱۹۱۰۱۵ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فارماکولوژی – فیزیولوژی، تلفن: ۴-۲۱۹۹۵۹۱-۰۱۱۱
e-mail:moghadamnia@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]

دارند (۵) ولی سه خانواده CYP 3, CYP 2, CYP 1 برای متابولیسم کبدی داروها و سموم مهمتر از بقیه هستند (۸-۶). سایر اعضای این خانواده برای ترکیبات اندوژن حاصل از متابولیسم، بسیار اختصاصی عمل می کنند و معمولاً توسط ترکیبات اگزوژن القاء نمی شوند (۹و۵). مهمترین آنزیم متابولیزه کننده داروها در این گروه آنزیم سیتوکروم پی 3A (CYP3A) می باشد که حدود ۶۰ درصد از کل سیتوکرومهای کبدی را شامل میشود و بیش از ۵۰ درصد از داروهایی که به طور معمول خورده می شوند و باید از مسیر میکروزمال کبدی حذف شوند را کاتالیز می کند (۱۰و۵). این آنزیم همچنین آنزیم اصلی دخیل در متابولیسم عبور اول کبدی بسیاری از داروها است (۱۲و۱۱).

یکی از مشخصات آنزیمهای خانواده CYP3A تفاوت فاحش مشاهده شده در فعالیت کاتابولیکی کبدی و روده ای آن در بین افراد مختلف است. تفاوت ۱۰ الی ۱۰۰ برابری مشاهده شده در فعالیت کاتابولیکی کبدی و تفاوت ۳۰ برابری فعالیت کاتابولیکی این آنزیم در روده باعث شده تا تجویز دوز درمانی مناسب جهت حصول نتیجه درمانی ایده ال برای داروهایی که سابسترا برای این آنزیم هستند مشکل باشد (۱۲).

فاکتورهای متعددی از جمله تغذیه (۱۳و۵)، سن (۱۵و۱۴)، ژنتیک (۱۶و۹)، بیماری زمینه ای کبد (۱۷و۶)، مسمومیتهای کبدی وابسته به داروها (۱۸و۹)، توکسین های کبدی، واکنشهای دارویی غیر وابسته به دوز، آلرژیک و متابولیک بر فعالیت سیتوکرومها تاثیر گذارند(۱۸). تاکنون روش های متعددی برای تعیین فنوتیپ CYP3A پیشنهاد شده اند، اما روشهایی که بیشتر از همه مورد تاییدند و بیشتر استفاده شده اند استفاده از پروب میدازولام و اریترومایسین هستند (۲۱-۱۹) متابولیسم میدازولام زمانی که از راه وریدی تجویز شده باشد، منعکس کننده فعالیت CYP3A کبدی میباشد، اما هنگامی که از راه خوراکی تجویز شود میتواند نشان دهنده فعالیت هر دو CYP3A کبدی و روده ای باشد (۲۲). تحقیقات مختلفی نشان داده اند که فعالیت سیتوکرومهای CYP3A تحت تاثیر عوامل مختلفی همچون عوامل محیطی، ژنتیکی، هورمونی، تغذیه ای و بیماریها می باشند (۲۴و۲۳). علی رغم اینکه فعالیت این آنزیم در برخی جوامع تعیین شده است، اما در جامعه ایرانی مطالعه ای سیستماتیک در این مورد وجود ندارد. بنابراین، در این مطالعه به بررسی میزان فعالیت سیتوکروم P450 3A در نمونه ای از داوطلبان سالم مازندرانی عمدتاً ساکن مازندران، بر اساس کلیرانس خوراکی میدازولام پرداخته شد.

مواد و روشها

مشخصات افراد شرکت کننده: این مطالعه مقطعی پس از تائید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل بر روی یکصد داوطلب (۸۲ مرد و ۱۸ زن) سالم ساکن استان مازندران پس از اخذ رضایت نامه کتبی انجام شد. افراد با محدوده سنی بین ۱۸ تا ۵۵ (۶/۹±۲۴/۵) سال و میانگین وزن ۱۰/۱±۷۲/۴ کیلوگرم (با محدوده وزن ۱۲۰-۴۲ کیلوگرم) که سلامتی آنها بر اساس عدم علامت یا نشانه ای از بیماری و در معاینه توسط پزشک تایید شده بود، وارد مطالعه شدند. افراد با سن کمتر از ۱۲ سال، استعمال سیگار و بارداری و عدم مصرف داروهای القاء کننده و یا مهار کننده آنزیم CYP3A حداقل از یکماه قبل از شروع مطالعه، وارد مطالعه شدند. افراد شرکت کننده در طول مطالعه از عدم مصرف میدازولام و یا فرآورده های حاوی آنها یا هر دارویی که به طور مستقیم یا غیر مستقیم در متابولیسم دارو تداخل ایجاد می کرد، اجتناب کردند.

مواد استفاده شده در این مطالعه: میدازولام به شکل آمپول های حاوی ۵ میلیگرم ماده موثره در هر میلی لیتر از کارخانه داروسازی اکسیر (لرستان، ایران) خریداری شدند. سایر مواد مصرفی مثل اتیلن دی آمید ترا استیک اسید (EDTA= Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid)؛ n-hexan: Methanol: Isoamylalcohol؛ با درجه آنالیتیکی از عرضه کنندگان داخلی تهیه شد. دیازپام به عنوان استاندارد داخلی به صورت باز خالص، از کارخانه داروسازی دکتر عبیدی تهران تهیه گردید.

روش اجراء: داوطلبین ۱۰ میلی گرم میدازولام به همراه ۱۰۰ میلی لیتر از یک شربت ساده دریافت کردند. نمونه های خونی (۱۰ میلی لیتر) از ورید بازویی بلافاصله قبل از تجویز میدازولام و در زمانهای ۰/۵، ۲ و ۶ ساعت بعد از تجویزگرفته شد. سپس خونها در لوله های حاوی مقدار کمی EDTA ریخته شد و لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه و با دور g3500 × سانتریفیوژ شدند. پلاسمای به دست آمده به لوله دیگری منتقل گردیده و تا موقع اندازه گیری غلظت میدازولام درفریزر۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

آنالیز توسط دستگاه HPLC: آنالیز نمونه های پلاسمایی با استفاده از روش از قبل ارائه شده (۲۵) با اندکی تغییرات و توسط دستگاه HPLC مدل (KNAUER) انجام شد. جداسازی توسط ستون C18 با مشخصات Eurospher C18 analytical column (5-µm particle size, 100 mm i.d. ×۴٫۶) و با استفاده از فاز متحرک شامل متانول (۷۵٪) و آب (۲۵٪) و با سرعت یک میلی لیتر بر دقیقه انجام شد. شناسایی و اندازه گیری میدازولام با استفاده از شناساگر (Kanaver UV detector (K-2600 UV در طول موج حداکثر ۲۴۲ نانومتر انجام شد.

روش استخراج میدازولام از نمونه های پلاسمایی: برای تعیین غلظت میدازولام، نمونه های پلاسمایی از فریزر خارج شده و در آزمایشگاه به حال خود رها شدند تا از حالت فریز خارج شده و به آرامی در دمای محیط ذوب شوند. سپس ۱ میلی لیتر از پلاسمای ذوب شده به لوله پلاستیکی ته مخروطی درپیچ دار حاوی ۲۵ میکرولیتر از محلول ۲۵ نانوگرم در میلی لیتر دیازپام به عنوان استاندارد داخلی، ۲۰۰ میکرولیتر سود ۱مولار و ۲۰۰ میکرولیتر ایزو آمیل الکل اضافه گردید.

سپس ۹ میلی لیتر محلول n-hexan به آن اضافه شده و به مدت ۱ دقیقه تکان داده شد. بعد از آن، لوله ها در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با دور g 3000 × سانتریفیوژ شدند و لایه آلی (بالایی) برداشته و به یک لوله پلاستیکی تمیز حاوی ۲۰۰ میکرولیتر اسیدکلریدریک ۰/۰۵ مولار منتقل گردید و بعد به مدت ۱ دقیقه تکان داده شد و مجدداً به مدت ۵ دقیقه و با دور g × 3000 سانتریفیوژ شدند. لایه آلی (فوقانی) دور ریخته شده و از لایه آبی پائینی هر بار به مقدار ۲۰ میکرولیتر مستقیماً به ستون جداکننده در HPLC تزریق شد.

محدوده قابل اندازه گیری برای میدازولام ۱ نانوگرم در میلی لیتر و (C.V= Coeficient Variation) محاسبه شده به عنوان معیاری از صحت و دقت متد در همه موارد کمتر از ۱۰٪ در نظر گرفته شد. کلیرانس خوراکی میدازولام با استفاده از نرم افزار کینتیکی P-Pharm محاسبه گردیده و به عنوان معیاری از فعالیت آنزیم CYP3A در نظر گرفته شد (۲۶).

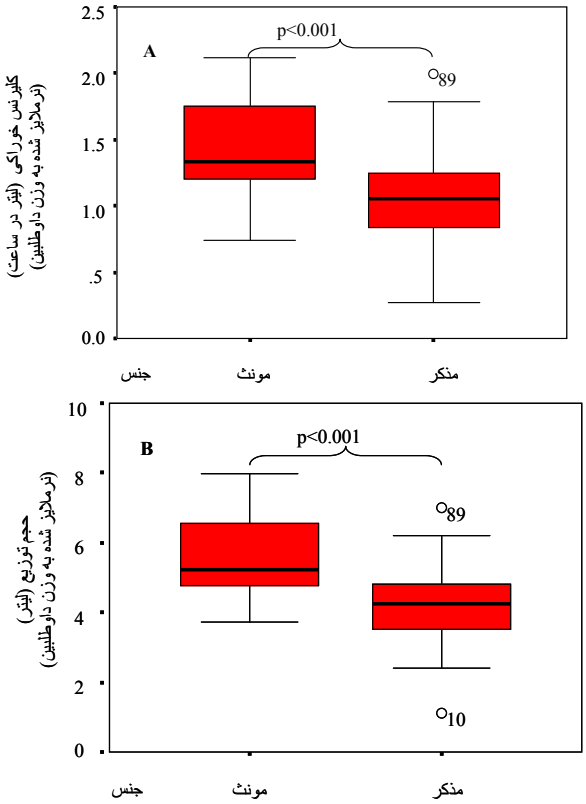
[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]

برای مقایسه میانگینهای گزارش شده در مورد کلیرانس خوراکی میدازولام از مطالعات گذشته با داده های به دست آمده در این مطالعه از تست Z استفاده گردید. ضمناً برای مقایسه میانگین های گزارش شده در پارامترهای فارماکوکینتیکی به دست آمده در دو جنس مختلف از آزمون آماری T-Test استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین سنی افراد تحت مطالعه ۶/۹±۲۴/۵ سال بود. ۱۸ نفر آنان زن بودند. داوطلبین پس از خوردن میدازولام در تمام موارد حالت خواب آلودگی را تجربه کردند که گذرا بوده و پس از ۳ ساعت خواب آلودگی از بین رفت. در این مطالعه سطح پلاسمایی مبدازولام بطور میانگین ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر بود. تنها یک نفر غلظت تقریباًبالای ۱۰۰ نانوگرم در میلی لیتر خون نشان داد. میانگین کلیرانس خوراکی میدازولام ۲۰/۹۸±۷۷/۲۲ لیتر بر ساعت بود (جدول ۱) ($p<۰/۰۰۱$).

حجم ظاهری انتشار کلی ۵۰/۴۴±۳۱۲/۶۵ لیتر و نیمه عمر حذف ۰/۶۸±۲/۹۶ به دست آمد. تفاوت بین حداکثر و حداقل داده ها ۶/۳ برابر بوده است. کلیرانس خوراکی میدازولام و حجم توزیع آن (پس از نرمالایز کردن داده های کینتیکی CL/F, Vd/F به وزن افراد) بطور معنی دار ی در زنان (۱۵/۱۹±۸۳/۷۹ لیتر یر ساعت)بیشتر از مردان (۲۱/۸۵±۷۵/۶۸ لیتر یر ساعت) بود ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱. مقایسه کلیرانس خوراکی میدازولام (A) و حجم توزیع آن (B) در بین داوطلبین مذکر و مونث.

جدول ۱. پارامترهای کینتیکی حاصل پس از از تجویز خوراکی میدازولام به ۱۰۰ داوطلب سالم مازندرانی

پارامترهای کینتیکی	جنس	تعداد افراد	میانگین داده ها	۹۵٪ محدوده اطمینان بر میانگین داده ها		حداکثر	حداقل
				پایینی	بالایی		
کلیرنس خوراکی	مونث	۱۸	۱۵/۱۹±۸۳/۷۹	۷۴/۹۶	۹۲/۶۲	۱۱۲/۰۳	۵۱/۳۱
(لیتر بر ساعت)	مذکر	۸۲	۲۱/۸۵±۷۵/۶۸	۶۳/۳۲	۸۸/۰۴	۱۱۵/۹۵	۱۸/۴۳
*CL/F (Lh^{-1})	همه افراد	۱۰۰	۲۰/۹۸±۷۷/۲۲	۶۵/۳۵	۸۹/۰۹	۱۱۵/۹۵	۱۸/۴۳
حجم توزیع خوراکی	مونث	۱۸	۳۳/۵۷±۳۲۸/۰۸	۳۰۸/۵۷	۳۴۷/۵۹	۳۹۲/۰۱	۲۵۸/۱۴
(لیتر)	مذکر	۸۲	۵۳/۰۲±۳۰۹/۰۳	۲۷۹/۰۳	۳۳۹/۰۳	۴۰۱/۳۱	۶۳/۲
**Vd/F(L)	همه افراد	۱۰۰	۵۰/۴۴±۳۱۲/۶۵	۲۸۴/۱۱	۳۴۱/۱۹	۴۰۱/۳۱	۶۳/۲
نیمه عمر فاز حذف	مونث	۱۸	۰/۲۵±۲/۷۶	۲/۶۱	۲/۹	۳/۴۹	۲/۴۲
(ساعت)	مذکر	۸۲	۰/۷۴±۳	۲/۵۸	۳/۴۲	۶/۵۴	۲/۳۸
$t_{½}$ (h)	همه افراد	۱۰۰	۰/۶۸±۲/۹۶	۲/۵۷	۳/۳۴	۶/۵۴	۲/۳۸

* CL/F= Clearence Over F(Fraction Of Absorbed Midazolam)

** Vd= Volum Of distribution

جدول شماره ۲. مقایسه مقادیر کلیرانس خوراکی میدازولام ازمطالعه فعلی با داده های حاصل از مطالعات قبلی در سایر جمعیت ها (۳۰-۲۷).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]

تست Z				
* منابع	p value	CL/F (L.h-1)	جنسیت	تعداد نمونه ها
Zhu et al., 2001(چین)	۰/۰۰۰۱	۳۷/۸±۲/۸	(چین) **مرد	۱۰
Carrillo et al., 1998 (اسپانیا)	۰/۰۰۰۱	۳۵/۷±۱۲/۶	مرد (Coca)	-
Stromberg et al., 1992 (ژاپن)	۰/۰۰۰۱	۵۲ ± ۲۴	***زن	۶
Tateishi et al., 2001(ژاپن)	۱/۰۰۰۰	۱۰۳ ± ۶۰	مرد	۲۰
Tateishi et al., 2001(ژاپن)	۰/۶۹۱۵	۸۵ ± ۴۴	مرد (ژاپن)	۲۲
Thummel et al., 1996 (ایالات متحد آمریکا)	۰/۹۴۷۴	۸۵ ± ۴۸	مرد ۱۰	۲۰
Gorski et al., 1998 (ایالات متحد آمریکا)	۱/۰۰۰۰	۱۰۳ ± ۵۳	مرد ۸	۱۶
Kocarek et al., 1995 (ایالات متحد آمریکا)	۱/۰۰۰۰	۱۰۹ ± ۵۲	مرد ۳	۶
Lin et al., 2001(ایالات متحد آمریکا)	۰/۹۷۷۰	۸۹±۵۹		۲۲۴
Tsunoda et al., 1999 (ایالات متحد آمریکا)	۱/۰۰۰۰	۱۳۹ ± ۸۰	مرد ۶	۹
Kinirons et al., 1999 (ایالات متحد آمریکا)	۰/۹۴۷۴	۸۵ ± ۴۸	مرد ۱۰	۲۰
Gorski et al., 2003 (ایالات متحد آمریکا)	۱/۰۰۰۰	۱۱۶ ± ۵۹	مرد ۲۴	۵۲
Belle et al., 2002 (ایالات متحد آمریکا)	۱/۰۰۰۰	۱۵۱	زن	۹
نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر	–	۷۷ ± ۲۱	مرد و زن	۱۰۰
	–	۷۵/۷ ± ۲۲	مرد	۸۲
	–	۸۳/۸±۱۵/۲	زن	۱۸

بحث و نتیجه گیری

میانگین کلیرانس خوراکی میدازولام افراد شرکت کننده در این مطالعه ۲۰/۹۸±۷۷/۲۲ لیتر بر ساعت بود که با مقادیر به دست آمده در بعضی از مطالعات نزدیک بوده و با آنها قابل مقایسه است (۳۰-۲۷). مقایسه داده ها نشان می دهد که فعالیت متابولیکی این آنزیم در افراد جامعه ایرانی به جمعیت های شرق آسیا شبیه است. اما نسبت به برخی جوامع، فعالیت آنزیمی افراد ما بیشتر (۳۳-۳۱) و نسبت به برخی دیگر این فعالیت کمتر بود (۳۶-۳۴و۲۹و۲۳). در مطالعات انجام شده در جوامع مختلف، نشان داده شده که میزان فعالیت آنزیم CYP3A در خانمها بیشتر از آقایان است (۳۹-۳۷). در مطالعه Zhu و همکارانش نیز فعالیت CYP3A در جمعیت چینی به طور معنی داری در خانمها بیشتر از آقایان بود (۲۴). همچنین در مطالعه دیگری که در کشور چین توسط Zhu و همکارانش انجام شد نتایجی مشابه با مطالعه قبلی به دست آمده است که در آن فعالیت CYP3A در خانمها بیشتر از آقایان بود (۳۳). در این مطالعه نیز فعالیت CYP3A در خانمها بطور معنی داری بیشتر از آقایان بود. بنابراین بسیاری از داروهایی که از راه CYP3A متابولیزه می شوند ممکن است در خانمها سریعتر حذف شوند. با این استنتاج، ممکن است برای رسیدن به غلظت پلاسمایی یکسان با مردان، زنان به دوزهای بالاتری از داروهایی که سوبسترای برای آنزیم CYP3A هستند نیاز داشته باشند.

برای توجیه این تفاوت در دو جنس که در مطالعه حاضر نشان داده شد، باید گفت که CYP3A نقش مهمی را در متابولیسم چندین هورمون استروئیدی شامل استروژن، پروژسترون و تستوسترون ایفا می کند (۴۱-۳۹). مکانیسم تفاوت این چنین در فعالیت آنزیم در دو جنس میتواند بیانگر این واقعیت باشد که ممکن است هورمونهای استروئیدی تنظیم کننده فعالیت CYP3A در سطح بیان ژنها دخیل باشند (۴۰). سیکل قائدگی فاکتور قدرتمندی در تنوع متابولیسم داروها در خانمهای جوان می باشد (۴۱و۳۹و۲۴) و سبب شده که اخیراً FDA توجه خاصی را به این موضوع داشته باشد (۴۲). در مطالعه دیگری که اخیراً توسط Wolbold و همکارانش صورت گرفته، نشان داده شده که میزان بیان شدن آنزیم CYP3A در افراد مونث دو برابر افراد مذکر میباشد که این امر می تواند توجیه کننده کلیرانس سریعتر سوبستراهای آن در زنان در مقایسه با مردان باشد (۴۳). که این نتایج نیز با نتایج مطالعه حاضر همسو می باشند.

در مجموع با توجه به مطالعات انجام شده و نتایج به دست آمده از مطالعه ما چنین استنباط می شود که کلیرانس میدازولام در مطالعه ما با کلیرانس میدازولام از مطالعاتی که در شرق آسیا به دست آمده نزدیکتر است. در نهایت باید گفت که، فعالیت CYP3A تفاوتهای بین فردی قابل توجهی در جمعیتها دارد. در مطالعه ما فعالیت آنزیم CYP3A در خانمها بیشتر از آقایان بوده است. این می تواند افراد مختلف را مستعد به واکنشهای دارویی نسبت به داروهای خاصی تحت تأثیر این سیستم آنزیمی کند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از شورای پژوهشی و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل و از رئیس و کادر مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی مولکولی هم بخاطر کمکهای تکنیکی و از آقای دکتر روئینی بدلیل تحویل مواد استاندارد و همچنین از کلیه داوطلبین گرامی شرکت کننده در این طرح تقدیر و تشکر میگردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]

Phenotyping of CYP3A by Oral Midazolam in Healthy Mazandarani Volunteers (Iran)

M.R. Shiran (PhD) [1], S. Gharooee Ahangar (MD) [2], Sh. Rostamkolaee (MD) [2], S.A.A. Sefidgar (PhD) [3], M. Baradaran (PhD) [4], M. Hashemi (BSc) [2], M. Baleghi (BSc) [2], A.A. Moghadamnia (PhD) [*1]

1. Department of Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
2. Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. Department of Mycology and Parasitology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Department of Pharmacology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

J Babol Univ Med Sci; 13(4); Jul 2011
Received: Feb 13th 2011, Revised: Mar 10th 2011, Accepted: Apr 27th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: CYP3A is responsible for hepatic microsomal metabolism of more than 50% of drugs which are its specific substrate. Metabolic activity of this enzyme depends on several factors. Since it has not been done a systematic study of the enzyme activity in Iranian population, this study was conducted to investigate the enzyme activity in a small sample of Mazandarani population (from north of Iran) using midazolam (MDZ) blood levels as an important probe.

METHODS: This study was done on 100 Mazandarani healthy volunteers. After recoding individual information (age, sex and weight), subjects were given 100 ml syrup containing 10 mg midazolam. Blood samples were taken after 0.5, 2 and 6 hr after drug administration and plasma concentrations of midazolam were measured using HPLC method. Oral clearance of midazolam (CL/F) as criteria of the enzyme activity was assessed using P-Pharm software.

FINDINGS: The mean (SD) of age was 24.5 ± 6.9 years. Eighteen persons were female. All the subjects experienced some degrees of sedation. The mean (SD) of clearance of MDZ was 77.22 ± 20.98 l/h and clearance of MDZ in female (83.79 ± 15.19 l/h) was higher than male (75.68 ± 21.85l/h) ($p<0.001$). Total volume of distribution (Vd) and elimination half life were 312.65 ± 50.44 and 2.96 ± 0.68, respectively.

CONCLUSION: According to the results, a normal phenotype of CYP3A activity was observed in the Iranian participants in this study. The clearance of oral MDZ and/or CYP3A activity is higher in female subjects than in males.

KEY WORDS: *Phenotype of CYP3A, Midazolam, Clearance, Hepatic metabolism.*

[*]**Corresponding Author;**
Address: Department of Pharmacology, Babol University of Medical Sciences, 4717641367, Babol, Iran
Tel: +98 111 2199591-4
E-mail: moghadamnia@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]

References

1. Maitland-van der Zee AH, de Boer A, Leufkens HG. The interface between pharmacoepidemiology and pharmacogenetics. Eur J Pharmacol 2000;410(2-3):121-30.
2. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. J Intern Med 2001; 250(3):186-200.
3. Drazen JM, Silverman EK, Lee TH. Heterogeneity of therapeutic responses in asthma. Br Med Bull 2000;56(4): 1054-7.
4. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. N Engl J Med 2003; 348(6):538-49.
5. Danielson PB. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. Curr Drug Metab 2002;3(6):561-97.
6. Ehrenpreis S, Greenberg J, Comaty JE. Mechanism of development of tolerance to injected morphine by guinea pig ileum. Life Sci 1975;17(1): 49-54.
7. Watkins PB. Drug metabolism by cytochromes P450 in the liver and small bowel. Gastroenterol Clin North Am 1992;21(3):511-26.
8. Wrighton SA, VandenBranden M, Ring BJ. The human drug metabolizing cytochromes P450. J Pharmacokinet Biopharm 1996;24(5):461-73.
9. DeLeve LD, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver disease. Gastroenterol Clin North Am 1995;24(4):787-810.
10. Roy P, Tretyakor O, Wright J, Waxmam DJ. Stereoselective metabolism of ifosfamide by human P-450S 3A4 and 2B6. Favorable metabolic properties of R-enantiomer. Drug Metab Dispos 1999;27(11):1309-18.
11. Kolars JC, Lown KS, Schmiedin Ren P, et al. CYP3A gene expression in human gut epithelium. Pharmacogenetics 1994;4(5):247-59.
12. Paine MF, Khalighi M, Fisher JM, et al. Characterization of interintestinal and intraintestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. J Pharmacol Exp Ther 1997;283(3):1552-62.
13. Alvares AP, Kappas A. Influence of phenobarbital on the metabolism and analgesic effect of methadone in rats. J Lab Clin Med 1972;79(3):439-51.
14. McCann SJ, Pond SM, James KM, Le Couteur DG. The association between polymorphisms in the cytochrome P-450 2D6 gene and Parkinson's disease: a case-control study and meta-analysis. J Neurol Sci 1997;153(1):50-3.
15. Hilmer SN, Shenfield GM, Le Couteur DG. Clinical implications of changes in hepatic drug metabolism in older people. Ther Clin Risk Manag 2005;1(2):151-6.
16. Smith G, Stubbins MJ, Harries LW, Wolf CR. Molecular genetics of the human cytochrome P450 monooxygenase superfamily. Xenobiotica 1998;28(12):1129-65.
17. Verbeeck RK. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with hepatic dysfunction. Eur J Clin Pharmacol 2008;64(12):1147-61.
18. Gunawan BK, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver disease. Clin Liver Dis 2007;11(3):459-75, v. Review.
19. Streetman DS, Bertino JS Jr, Nafziger AN. Phenotyping of drug-metabolizing enzymes in adults: a review of in-vivo cytochrome P450 phenotyping probes. Pharmacogenetics 2000;10(3):187-216.
20. Watkins PB. Noninvasive tests of CYP3A enzymes. Pharmacogenetics 1994;4(4):171-84.
21. Wrighton SA, Schuetz EG, Thummel KE, Shen DD, Korzekwa KR, Watkins PB. The human CYP3A subfamily: practical considerations. Drug Metab Rev 2000;32(3-4):339-61.
22. Wandel C, Bocker RH, Bohrer H, et al. Relationship between hepatic cytochrome P450 3A content and activity and the disposition of midazolam administered orally. Drug Metab Dispos 1998;26(2):110-4.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]

23. Belle DJ, Challaghan JT, Gorski JC, et al. The effects of an oral contraceptive containing ethinyloestradiol and norgestrel on CYP3A activity. Br J Clin Pharmacol 2002;53(1):67-74.
24. Zhu B, Liu ZQ, Chen GL, et al. The distribution and gender difference of CYP3A activity in Chinese subjects. Br J Clin Pharmacol 2003;55(3):264-9.
25. Chen ZR, Somogyi AA, Bochner F. Simultaneous determination of dextromethorphan and three metabolites in plasma and urine using high-performance liquid chromatography with application to their disposition in man. Ther Drug Monit 1990;12(1):97-104.
26. Mortimer O, Lindstrom B, Laurell H, Bergman U, Rane A. Dextromethorphan: polymorphic serum pattern of the O-demethylated and didemethylated metabolites in man. Br J Clin Pharmacol 1989;27(2):223-7.
27. Kinirons MT, O' Shea D, Kim RB, et al. Failure of erythromycin breath test to correlate with midazolam clearance as a probe of cytochrome P4503A. Clin Pharmacol Ther 1999;66(3):224-31.
28. Lin YS, Lockwood GF, Graham MA, et al. In-vivo phenotyping for CYP3A by a single-point determination of midazolam plasma concentration. Pharmacogenetics 2001;11(9):781-91.
29. Tateishi T, Natanabe M, Nakura H, et al. CYP3A activity in European American and Japanese men using midazolam as an in vivo probe. Clin Pharmacol Ther 2001;69(5):333-9.
30. Thummel KE, O' Shea D, Paine MF, et al. Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism. Clin Pharmacol Ther 1996;59(5):491-502.
31. Carrillo JA, Ramos SI, Agunder JA, Martinez C, Benitez J. Analysis of midazolam and metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography: probe of CYP3A. Ther Drug Monit 1998;20(3):319-24.
32. Stromberg C, Vanakoski J, Olkkola KT, Lindgvist A, Seppala T, Laitinen LA. Exercise alters the pharmacokinetics of midazolam. Clin Pharmacol Ther 1992;51(5):527-3.
33. Gorski JC, Jones DR, Haehner Daniels BD, Hamman MA, Mara EM Jr, Hall SD. The contribution of intestinal and hepatic CYP3A to the interaction between midazolam and clarithromycin. Clin Pharmacol Therp 1998;64(2):133-43.
34. Kocarek TA, Schuetz EG, Strom SC, Fisher RA, Guzelian PS. Comparative analysis of cytochrome P4503A induction in primary cultures of rat, rabbit, and human hepatocytes. Drug Metab Dispos 1995;23(3):415-21.
35. Tsunoda SM, Velez RL, Von Moltke LL, Greenblatt DJ. Differentiation of intestinal and hepatic cytochrome P450 3A activity with use of midazolam as an in vivo probe: effect of ketoconazole. Clin Pharmacol Ther 1999;66(5):461-71.
36. Gleiter CH, Gundert-Remy U. Gender differences in pharmacokinetics. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1996; 21(2):123-8.
37. Miao J, Jin Y, Marunde RL, et al. Association of genotypes of the CYP3A cluster with midazolam disposition in vivo. Pharmacogenomics J 2009;9(5):319-26.
38. Harris RZ, Benet LZ, Schwartz JB. Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. Drugs 1995;50(2): 222-39.
39. Jounaidi Y, Guzelian PS, Maurel P, Vilarem MJ. Sequence of the 5'-flanking region of CYP3A5: comparative analysis with CYP3A4 and CYP3A7. Biochem Biophys Res Commun 1994;205(3):1741-7.
40. Kashuba AD, Nafziger AN, Kearns GL, et al. Limitations of dextromethorphan N-demethylation as a measure of CYP3A activity. Pharmacogenetics 1999;9(4):453-62.
41. Kreek MJ, Schecter A, Gutjahr CL, et al. Analyses of methadone and other drugs in maternal and neonatal body fluids: use in evaluation of symptoms in a neonate of mother maintained on methadone. Am J Drug Alcohol Abuse 1974;1(3):409-19.
42. Wolbold, R, Klein K, Burk O, et al. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. Hepatology 2003;38(4):978-88.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.3.8]