

Wpływ wybranych izoenzymów cytochromu P-450 na niesteroidowe leki przeciwzapalne

The influence of certain cytochrome P450 isoenzymes on non-steroidal anti-inflammatory drugs

Ewelina Czuba¹, Adam Klimowicz¹, Stanisława Bielecka-Grzela², Anna Kacalak-Rzepka³

¹Samodzielna Pracownia Farmakoterapii Dermatologicznej Katedry Chorób Skórnych i Wenerycznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, kierownik Pracowni: dr hab. n. med. Adam Klimowicz, prof. PAM

²Samodzielna Pracownia Dermatologii Estetycznej Katedry Chorób Skórnych i Wenerycznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, kierownik Pracowni: dr hab. n. med. Stanisława Bielecka-Grzela, prof. PAM

³Katedra i Klinika Chorób Skórnych i Wenerycznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Romuald Maleszka

Post Dermatol Alergol 2009; XXVI, 6: 529–532

Streszczenie

Cytochrom P-450 tworzą białka enzymatyczne, które katalizują przemiany metaboliczne fazy I, obejmujące utlenianie wielu związków zarówno endogennych, jak i egzogennych. Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są jedną z szeroko stosowanych grup leków. W ich metabolizmie biorą udział m.in. izoenzymy CYP2C9, CYP2C8, CYP3A4, CYP1A2, które mogą również uczestniczyć w biotransformacji innych związków. Wiele NLPZ jest substratem dla pierwszego z wymienionych powyżej izoenzymów. Jego aktywność może być hamowana lub pobudzana przez wiele substancji. Zahamowanie aktywności CYP2C9 może wpływać na spowolnienie metabolizmu NLPZ, tym samym na zwiększenie stężenia leku w organizmie, co może prowadzić do wystąpienia działań niepożądanych. Przyspieszenie metabolizmu może natomiast spowodować szybszą eliminację substancji leczniczej, co nie pozwoli na osiągnięcie stężenia terapeutycznego.

Słowa kluczowe: cytochrom P-450, CYP2C9, niesteroidowe leki przeciwzapalne, metabolizm.

Abstract

Cytochrome P450 comprises many enzymes that are involved in phase I metabolic pathways, including oxidation of endo- as well as exogenous compounds. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widespread therapeutic agents. Several isoenzymes, including CYP2C9, CYP2C8, CYP3A4 and CYP1A2, catalyze biotransformation of these drugs as well as many other compounds. Several NSAIDs are the substrates for CYP2C9; however, its activity can be inhibited or induced by many substances. The inhibition of CYP2C9 can decrease NSAID metabolism and lead to increased systemic drug concentration, which may cause adverse events. On the other hand, faster metabolism can increase the elimination of the therapeutic agents, and might decrease the drug concentration below the therapeutic range.

Key words: cytochrome P450, CYP2C9, non-steroidal antiinflammatory drugs, metabolism.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) stanowią dużą grupę leków często stosowanych ze względu na działanie przeciwbólowe, przeciwzapalne oraz przeciwgorączkowe. Hamują one działanie cyklooksygenazy aktywującej jeden ze szlaków przemian kwasu arachidonowego, którego końcowymi produktami są prostaglandyny. Inhi-

bitory cyklooksygenazy – zarówno nieselektywne, jak i selektywne – zaleca się w leczeniu stanów zapalnych układu kostno-stawowego i mięśniowego, a także w przypadku bólów pourazowych, pooperacyjnych oraz głowy. Niesteroidowe leki przeciwzapalne wykorzystuje się również w terapii wielu chorób infekcyjnych przebiegających

Adres do korespondencji: dr hab. n. med. Adam Klimowicz, prof. PAM, Samodzielna Pracownia Farmakoterapii Dermatologicznej Katedry Chorób Skórnych i Wenerycznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, ul. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin, tel. +48 91 466 16 28, faks +48 91 466 12 56, e-mail: adklim@sci.pam.szczecin.pl

z podwyższoną temperaturą. Znalazły one także zastosowanie w leczeniu chorób dermatologicznych, m.in. rumienia guzowatego, w eozynofilowym zapaleniu powięzi, guzkowym zapaleniu tętnic, zespole antykardiolipinowym, oparzeniach słonecznych i zespole Kawasaki [1, 2]. Należy mieć na uwadze, że dłuższe przyjmowanie tych preparatów może sprzyjać wystąpieniu działań niepożądanych, do których należą m.in. krwawienia z przewodu pokarmowego oraz owrzodzenia żołądka i dwunastnicy. Stosunkowo często obserwuje się objawy nadwrażliwości w obrębie skóry oraz zaostrzenie astmy. Rzadziej występują zaburzenia czynności wątroby, funkcji nerek oraz zaburzenia hematologiczne. Pod wpływem stosowania niektórych leków z tej grupy może dochodzić do ostrych zaburzeń sercowo-naczyniowych [2–5].

Wystąpienie objawów niepożądanych wiąże się z mechanizmem działania NLPZ. Stosowane w dawkach leczniczych leki tej grupy hamują działanie cyklooksygenazy (COX), odpowiedzialnej za pierwszy etap syntezy prostaglandyn z kwasu arachidonowego. Enzym ten występuje w dwóch izoformach COX-1 i COX-2, zidentyfikowanych w 1990 r. W utrzymaniu homeostazy krążeniowej, cytoprotekcji w obrębie przewodu pokarmowego i nerek istotną rolę odgrywa COX-1, natomiast w procesach zapalnych bierze udział COX-2 [2].

Ze względu na funkcję obu form cyklooksygenazy, powinno się ograniczyć wpływ hamującego działania na COX-1, natomiast dążyć do selektywnego zahamowania COX-2. Należy podkreślić, że produkty COX-2 mają nie tylko właściwości prozapalne. Prostacyliny działają rozkurczająco na naczynia i hamują agregację płytek krwi. Silne hamowanie COX-2 może więc przyczynić się do wystąpienia zaburzeń sercowo-naczyniowych [2, 5].

Bezpieczeństwo kliniczne stosowania inhibitorów COX zależy od wielu czynników, do których zalicza się: zdolność hamowania COX-1 i COX-2, stężenie inhibitorów potrzebne do zmniejszenia aktywności COX o 50% [IC_{50} (COX)], farmakokinetykę i farmakodynamikę substancji leczniczych, dystrybucję inhibitorów w tkankach oraz wskaźnik terapeutyczny. Dodatkowo, różne formy alleli COX-1 i COX-2 mogą predysponować do wystąpienia działań niepożądanych [3].

Po wycofaniu ze sprzedaży selektywnych inhibitorów COX-2 – preparatów rofekoksybu (VIOXX) i waldekoksybu (Bextra) – z powodu zwiększonego ryzyka wystąpienia zawału serca i udaru mózgu rozpoczęto poszukiwania dodatkowych przyczyn odpowiedzialnych za powikłania podczas terapii NLPZ. Jednym z czynników, na który zwrócono uwagę, był cytochrom P-450.

Cytochrom P-450 tworzą białka enzymatyczne, które katalizują przemiany metaboliczne fazy I, obejmujące utlenianie wielu związków zarówno endogennych, jak i egzogennych [6]. Spośród związków endogennych metabolizowanych na tej drodze należy wymienić: steroidy, kwasy tłuszczowe, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach oraz prostaglandyny, natomiast ze związków egzogennych – leki, toksyczne substancje chemiczne i związki nowotworowe.

Izoenzymy cytochromu P-450 wyizolowano z różnych tkanek, m.in.: wątroby, nerek, płuc, jelit i mózgu. Mimo że wykazują one duże podobieństwo w sekwencji aminokwasów, różnią się wyraźnie pod względem katalizowania procesów metabolicznych. Mikrosomy ludzkiej wątroby zawierają liczne formy cytochromu P-450, które odgrywają istotną rolę w metabolizmie oksydacyjnym wielu związków chemicznych. Z wątroby ludzkiej wyizolowano m.in.: izoenzymy CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 oraz CYP3A5 (a z wątroby płodu CYP3A7). W tkankach pozawątrobowych w przemianach oksydacyjnych leków i innych egzogennych substancji chemicznych uczestniczą CYP1A1 i CYP1B1 [7].

W metabolizmie NLPZ biorą udział m.in. izoenzymy CYP2C9, CYP2C8, CYP3A4, CYP1A2, które mogą również uczestniczyć w biotransformacji innych związków endogennych i egzogennych [8]. W tab. 1. zamieszczono przykłady NLPZ metabolizowanych przy udziale powyższych izoenzymów cytochromu P-450.

Jak wspomniano wcześniej, zainteresowano się pierwszym z tych izoenzymów, czyli CYP2C9, jako potencjalnym czynnikiem ryzyka wystąpienia działań niepożądanych po przyjęciu NLPZ. Może to wiązać się z tym, że wiele leków z omawianej grupy jest substratami dla tego izoenzymu. Jego aktywność zależy od formy allelicznej. W populacji ludzkiej występuje duży polimorfizm CYP2C9. Ocenia się, że ok. 12% białej ludności (rasa kaukaska) wykazuje genotyp CYP2C9*1/*3. Według jednej z teorii wystąpienie działań niepożądanych dotyczących krwawienia z przewodu pokarmowego wiąże się z genotypem heterozygot (CYP2C9*1/*2, CYP2C9*1/*3) lub homozygot (CYP2C9*2/*2, CYP2C9*3/*3) dla alleli CYP2C9*2 lub CYP2C9*3. Powyższe genotypy heterozygot lub homozygot prawdopodobnie mają wpływ na powstanie fenotypów wolno metabolizujących [3, 11].

Izoenzym CYP2C9 odgrywa istotną rolę w metabolizmie NLPZ, a także w biotransformacji innych związków. Jego aktywność może być hamowana lub pobudzana przez wiele substancji. Zahamowanie aktywności CYP2C9 może wpływać na spowolnienie metabolizmu NLPZ, a tym samym na zwiększenie stężenia leku w organizmie, co może prowadzić do wystąpienia działań niepożądanych. Przyspieszenie metabolizmu może natomiast spowodować szybszą eliminację substancji leczniczej, co nie pozwoli na osiągnięcie stężenia terapeutycznego.

Wśród obecnie stosowanych substancji leczniczych ponad 100 zidentyfikowano jako substraty dla CYP2C9. Stanowią one 10–20% wszystkich przepisywanych leków. Kliniczne konsekwencje polimorfizmu CYP2C9 przebadano jednak tylko w przypadku niektórych z nich [4].

Niesteroidowe leki przeciwzapalne są metabolizowane przy udziale CYP2C9 w różnym stopniu. W wyniku przeprowadzonych badań przez różnych autorów stwierdzono mniejszą rolę CYP2C9 w metabolizmie sulindaku, naproksenu, ketoprofenu, diklofenaku, rofekoksybu i etorikoksy-

Tab. 1. Wybrane NLPZ metabolizowane przez CYP1A2, CYP3A4, CYP2C8 i CYP2C9 (wg [6, 8, 9, 10])

CYP	Substraty	Inhibitory	Induktory
CYP1A2	diklofenak naproksen		
CYP2C8	aminofenazon diklofenak ibuprofen naproksen		
CYP2C9	aminofenazon celekoksyb diklofenak flurbiprofen ibuprofen indometacyna kwas acetylosalicylowy kwas mefenamowy lornoksykam meloksykam naproksen piroksykam tenoksykam	diklofenak ibuprofen indometacyna kwas mefenamowy lornoksykam meloksykam fenylobutazon	
CYP3A4	aminofenazon celekoksyb diklofenak meloksykam	diklofenak	fenylobutazon

bu, ponieważ w przypadku wspomnianych preparatów tą drogą eliminuje się nie więcej niż 20% dawki leku [3]. Większe znaczenie w biotransformacji ibuprofenu, indometacyny, flurbiprofenu, waldekoksylu, lornoksykamu, tenoksykamu, meloksykamu i piroksykamu wykazuje CYP2C9. Mimo dużej jego roli w metabolizmie niektórych NLPZ, należy również uwzględnić udział w tym procesie innych izoenzymów cytochromu P-450, np. w przypadku ibuprofenu – CYP2C8, natomiast w przypadku celekoksylu, waldekoksylu oraz meloksykamu – CYP3A4 [3, 12].

Główną drogą przemian metabolicznych dla ketoprofenu jest sprzężanie z kwasem glukuronowym; na tej drodze jest eliminowane niemal 80% dawki. Z tego też powodu udział CYP2C9 w biotransformacji ketoprofenu jest mniejszy, ponieważ wpływa on na metabolizm oksydacyjny.

Naproksen ulega również w dużym stopniu sprzężaniu z kwasem glukuronowym – w postaci glukuronianów jest eliminowane 60% dawki. Tworzone w wyniku reakcji katalizowanych przez cytochrom P-450 demetylowane pochodne stanowią dodatkowo 20% dawki wydalanej z moczem; podobny odsetek metabolitów wydalany jest z żółcią. Udział cytochromu P-450 w całkowitym metabolizmie naproksenu nie przekracza więc 40%. Należy dodać, że demetylacja tego leku jest tylko częściowo katalizowana przez CYP2C9 (w ok. 50%) w mikrosomach wątroby. W proces ten są zaangażowane także inne izoenzymy cytochromu P-450 – CYP2C8 i CYP1A2, co powoduje, że CYP2C9 odgrywa relatywnie mniejszą rolę w metabolizmie naproksenu [3].

Wyniki badań uzyskane przez różnych autorów wskazują, że farmakokinetyka diklofenaku nie wiąże się z genotypem CYP2C9 [13], mimo znacznego udziału CYP2C9 w procesach hydroksylacji w mikrosomach wątroby [14, 15]. Kirchheiner i wsp. [16] sugerują, że genotyp CYP2C9 odgrywa niewielką rolę w hamowaniu aktywności COX-1 i COX-2 podczas przyjmowania diklofenaku. Lek ten ulega sprzężaniu z kwasem glukuronowym w 75%, natomiast 25% dawki – hydroksylacji. W procesie tym biorą udział CYP2C9 i CYP2C8 [17].

Kolejny przedstawiciel NLPZ – indometacyna – podlega reakcji demetylacji w mikrosomach wątroby przy udziale CYP2C9 w ok. 50%. Innym ważnym procesem metabolicznym tego leku jest, podobnie jak w przypadku naproksenu, sprzężanie z kwasem glukuronowym – dotyczy to niemal 22% dawki. Jedenaście procent dawki jest ponadto wydalane jako niezmieniony lek, natomiast 13% – w postaci N-dechlorobenzoiloindometacyny. Należy dodać, że ten ostatni metabolit powstaje przy udziale karboksyloesterazy, a nie izoenzymów cytochromu P-450 [18].

Dwa izomery optyczne ibuprofenu – (S)-(+)-ibuprofen i (R)-(-)-ibuprofen – ulegają zarówno procesowi glukuronizacji, jak i 2-hydroksylacji oraz 3-hydroksylacji. 3-Hydroksyibuprofen jest metabolizowany dalej do karboksypochodnej poprzez dehydrogenazy cytozolu. Oksydacyjne przemiany metaboliczne ibuprofenu są katalizowane przez enzymy CYP2C9 i CYP2C8 – dotyczy to ok. 30% dawki leku [3]. Stwierdzono spowolnienie metabolizmu racemicznego ibuprofenu oraz obu jego izomerów optycznych, ob-

jawiającego się zwiększoną biodostępnością u badanych z allelem CYP2C9*3 i wydłużeniem czasu półtrwania w porównaniu z osobami z allelem CYP2C9*1. Odnotowano również, że działania niepożądane występowały z mniejszą częstotliwością u osób z allelem CYP2C8*3 (20%) i CYP2C8*4 (20%) niż u osób z CYP2C8*1 (77%) [19].

Głównym metabolitem meloksykamu, tworzonym w procesie utleniania w mikrosomach wątroby, jest 5-hydroksymetylomeloksykam. Związek ten może następnie ulegać dalszemu utlenieniu (w ok. 70%) do 5'-karboksymeloksykamu. 5-Hydroksymetylomeloksykam występuje w mikrosomach wątroby w dwóch formach – jednej, metabolizowanej przy udziale CYP2C9, i drugiej – CYP3A4. Udział CYP3A4 w biotransformacji leku szacuje się na ok. 40%. Niemal 10% podanej dawki meloksykamu jest wydalane w postaci niezmienionej [3].

W przypadku celekoksylu głównym procesem metabolicznym okazuje się metylohydroksylacja. Ta droga przemiany leku występuje w mikrosomach wątroby. Reakcja jest katalizowana w znacznym stopniu przez CYP2C9 w warunkach *in vitro* (w ok. 70–90%), mniejszą rolę przypisuje się CYP3A4 (poniżej 25%) [3, 12]. Według niektórych badaczy metabolizm celekoksylu, podobnie jak wielu innych substratów CYP2C9, jest osłabiony w przypadku ekspresji cDNA CYP2C9*2 i CYP2C9*3, a dokładnie w przypadku genotypów CYP2C9*1/*2 i CYP2C9*1/*3 [20]. Obserwacji tych nie potwierdzają wyniki badań Brenner i wsp., którzy nie odnotowali wpływu genotypu CYP2C9 na parametry farmakokinetyczne celekoksylu w stanie stacjonarnym [13].

Tylko wieloletnie badania pacjentów przyjmujących przewlekle NLPZ pozwolą odpowiedzieć na pytanie, w jakim stopniu izoenzymy cytochromu P-450 oddziałują na farmakokinetykę i farmakodynamikę omawianych substancji leczniczych oraz czy genotyp CYP2C9 wpływa na zwiększenie prawdopodobieństwa wystąpienia działań niepożądanych.

Ma to bardzo istotne znaczenie dla bezpieczeństwa farmakoterapii, ponieważ NLPZ są jedną z szeroko stosowanych grup leków, często z preparatami o innym działaniu. Polipragmazja może stwarzać ryzyko wystąpienia działań niepożądanych, których – przy odpowiednio dobranych środkach leczniczych – można uniknąć.

Piśmiennictwo

1. Szepietowski J, Reich A. Leczenie chorób skóry i chorób przenoszonych drogą pociową. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008.
2. Süleyman H, Demircan B, Karagöz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacol Rep* 2007; 59: 247-58.
3. Rodrigues AD. Impact of CYP2C9 genotype on pharmacokinetics: are all cyclooxygenase inhibitors the same? *Drug Metab Dispos* 2005; 33: 1567-75.
4. Kirchheiner J, Brockmoller J. Clinical consequences of cytochrome P4502C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 1-16.
5. Dajani EZ, Islam K. Cardiovascular and gastrointestinal toxicity of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in man. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59 Suppl 2: 117-33.
6. Danielson PB. The cytochrome P-450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Curr Drug Metab* 2002; 3: 561-97.
7. Yamazaki H, Shimada T. Cytochrome P450 reconstitution systems. In: *Methods in molecular biology*. Vol. 320. Phillips IR, Shepard EA (eds). Humana Press, Totova 2006; 61-71.
8. Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev* 2002; 34: 83-448.
9. Totah RA, Rettie AE. Cytochrome P450 2C8 – substrates, inhibitors, pharmacogenetics, and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 341-52.
10. Zhou SF. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. *Curr Drug Metab* 2008; 9: 310-22.
11. Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, et al. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology* 2007; 133: 465-71.
12. Schwarz UL. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C9 gene. *Eur J Clin Invest* 2003; 33 Suppl 2: 23-30.
13. Brenner SS, Herrlinger C, Dilger K, et al. Influence of age and cytochrome P450 2C9 genotype on the steady-state disposition of diclofenac and celecoxib. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 283-92.
14. Martin JH, Begg EJ, Kennedy MA, et al. Is cytochrome P450 2C9 genotype associated with NSAID gastric ulceration? *Br J Clin Pharmacol* 2001; 51: 627-30.
15. Martinez C, Blanco G, Ladero JM, et al. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 205-8.
16. Kirchheiner J, Meineke I, Steinbach N, et al. Pharmacokinetics of diclofenac and inhibition of cyclooxygenases 1 and 2: no relationship to the CYP2C9 genetic polymorphism in humans. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55: 51-61.
17. Kumar S, Samuel K, Subramanian R, et al. Extrapolation of diclofenac clearance from *in vitro* microsomal metabolism data: role of acyl glucuronidation and sequential oxidative metabolism of the acyl glucuronide. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 969-78.
18. Nakajima M, Inoue T, Shimada N, et al. Cytochrome P450 2C9 catalyzes indomethacin O-demethylation in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1998; 26: 261-6.
19. López-Rodríguez R, Novalbos J, Gallego-Sandín S, et al. Influence of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms on pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of racemic and enantiomeric forms of ibuprofen in healthy volunteers. *Pharmacol Res* 2008; 58: 77-84.
20. Rodrigues AD, Rushmore TH. Cytochrome P450 pharmacogenetics in drug development: *in vitro* studies and clinical consequences. *Curr Drug Metab* 2002; 3: 289-309.