

Wpływ klomipraminy na aktywność CYP2D6 – doniesienie wstępne

The influence of clomipramine on CYP2D6 activity

Monika Szewczuk-Bogusławska¹, Andrzej Kiejna¹,
Magdalena Grzesiak¹, Jan Aleksander Beszłej¹, Iwona Chlebowska¹,
Krystyna Orzechowska-Juzwenko², Piotr Milejski²

¹ Katedra i Klinika Psychiatrii AM we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. n. med. A. Kiejna

² Zakład Farmakologii Klinicznej AM we Wrocławiu
Kierownik: dr hab. A. Wiela-Hojeńska

Summary

Aim. Genetically determined activity of CYP2D6 may be modified by some drugs through inhibition processes. Inhibition properties of TCA's were confirmed mainly in in vitro studies. The aim of the study was to assess the influence of clomipramine on CYP2D6 activity in vivo.

Method. 11 patients diagnosed with depression according to ICD-10 and DSM-IV (major depression) criteria were included in the study. In all the cases clomipramine therapy was indicated. CYP2D6 activity was assessed by the phenotyping method. All patients were treated simultaneously. Each of the patients ingested one tablet containing 100 mg of sparteine sulfate. Urine excreted during the following 6 h was collected. Based on sparteine metabolic ratio (MR) the phenotype status was estimated twice: after the wash-out period, before clomipramine treatment, sparteine metabolic ratio (MR1), and after 2-weeks of clomipramine treatment (MR2).

Results. During clomipramine treatment MR2 values were statistically significantly higher than MR1. In 3 patients (27.3%) treated with clomipramine the changes of phenotype status were observed.

Conclusions. Clomipramine is a CYP2D6 inhibitor and may change the CYP2D6 phenotype status (EM into PM).

Słowa klucze: CYP2D6, klomipramina, fenotypowanie, inhibicja

Key words: CYP2D6, clomipramine, phenotyping, inhibition

Wstęp

Cytochrom 2D6 charakteryzuje genetycznie uwarunkowana aktywność. W związku z osobniczymi różnicami utleniania przy udziale CYP2D6 wyróżnia się obecnie cztery

odmienne fenotypowo grupy: szybko metabolizującą (EM) – od 75 do 85% populacji rasy kaukaskiej, pośrednio (IM) – od 10 do 35 %, wolno (PM) – od 5 do 10%, oraz ultraszybko metabolizującą (UM) – od 1 do 10% [1, 2, 3, 4]. Fenotypy uwarunkowane są przez określony genotyp. Genotyp nie zmienia się w ciągu życia, można go oznaczyć w jednorazowym badaniu. Genetycznie uwarunkowaną aktywność mogą jednak modyfikować różne, zmieniające się w ciągu życia, czynniki, np.: wiek, dieta, choroby, stosowane równocześnie leki [5, 6, 7, 8].

Najbardziej znaczącym czynnikiem modyfikującym aktywność CYP2D6 jest wpływ leków. W niektórych przypadkach wpływ ten jest silny; może wówczas dochodzić do zmiany fenotypu oksydacji podczas stosowania leku. Stwierdza się wówczas fenotyp wolnego metabolizmu u osoby o genotypie warunkującym szybki metabolizm. Zjawisko to nosi nazwę fenokopii [3].

Znanych jest wiele leków hamujących szybkość procesów oksydacji katalizowanych przez CYP2D6 [7, 8, 9]. Polimorfizm genetyczny CYP2D6 został odkryty w latach 70.; leki z grupy TLPD były już wówczas znane i stosowane. Kolejne wprowadzane do leczenia depresji leki były często badane pod kątem udziału cytochromów w ich metabolizmie oraz ich wpływu na aktywność cytochromów jeszcze na etapie badań przedrejestracyjnych. Zatem niewiele jest doniesień o wpływie właśnie TLPD na aktywność CYP2D6; dotyczy to zwłaszcza badań na ludziach (na przykład opublikowane niedawno wyniki badań własnych dotyczące doksepiny są pierwszą publikacją o inhibicyjnych właściwościach tego leku na aktywność CYP2D6 [10]). Celem pracy była ocena wpływu klomipraminy na aktywność CYP2D6 *in vivo*.

Badani

Do badania zakwalifikowano 11 pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresyjnego, zaburzeń depresyjnych nawracających oraz epizodu depresyjnego w przebiegu zaburzeń afektywnych dwubiegunowych zgodnie z kryteriami klasyfikacji ICD-10. Grupę badaną stanowiło 6 kobiet i 5 mężczyzn w wieku 26–67 lat (średnia 52,09), u których stwierdzono wskazania do zastosowania klomipraminy.

Podczas badania u pacjentów stosowano dobrane indywidualnie dawki klomipraminy (od 112,5 do 225 mg na dobę). Wysokość stosowanej dawki zależna była od efektu terapeutycznego oraz tolerancji leczenia. Podczas badania nie stosowano leków metabolizowanych przez CYP2D6 lub hamujących jego aktywność.

Metoda

Po zażyciu przez pacjenta jednorazowej dawki 100 mg siarczanu sparteiny przeprowadzano 6-godzinną zbiórkę moczu. Po oznaczeniu objętości wydalonego moczu pobierano próbkę 50 ml, którą zamrażano w temp. -20°C do czasu analizy. Zawartość sparteiny (SP) i jej metabolitów – 2- i 5- dehydroksysparteiny (DHS) – w moczu oznaczano, stosując metodę gazowej chromatografii opracowaną przez Eichelbau-ma. Fenotyp oksydacji oznaczano na podstawie wartości wskaźnika MR sparteiny tj. ilorazu: % dawki wydalonej z moczem sparteiny/ % dawki wydalonych z moczem

jej metabolitów – 2- i 5- dehydroksysparteiny. Fenotyp oksydacji oznaczano dwukrotnie: po okresie wash-out (MR1) oraz po 14 dniach stosowania ustalonej dawki klomipraminy (MR2). Wpływ leku na aktywność CYP2D6 szacowano na podstawie zmiany wartości MR.

Czynnikiem decydującym o wyborze sparteiny jako substancji wzorcowej była jej dostępność oraz doświadczenie zespołu p. prof. Orzechowskiej-Juzwenko, który prowadził liczne badania z użyciem sparteiny. Ponadto podważa się wartość niektórych innych substancji modelowych, na przykład stosowanego przede wszystkim przez badaczy amerykańskich dekstrometofanu. Stwierdzono bowiem obecność dekstrorfanu (DX) w moczu osób o genotypie PM, nie posiadających aktywnych enzymów CYP2D6. Świadczy to o udziale innych szlaków metabolicznych prowadzących do powstania DX [11].

Dane uzyskane na podstawie badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu SPSS dla Windows wersja 10.1.

Wyniki

Analiza zmian wartości MR podczas leczenia klomipraminą

Analizowano dane uzyskane w grupie 11 osób leczonych klomipraminą – nie stwierdzono przypadków o fenotypie PM.

Statystyki opisowe (średnia, mediana, odchylenie standardowe, skośność, kurtoza, wartość minimalna i maksymalna i percentyle) dla wartości MR1 i MR 2 oraz relatywnego wzrostu wskaźnika MR (MR2/MR1) w grupie pacjentów leczonych klomipraminą przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Wartości MR1 i MR2 oraz relatywnego wzrostu wskaźnika MR klomipraminy – statystyki opisowe

		MR 1	MR 2	Relatywny wzrost MR
N		11	11	11
Średnia		4,4782	26,9191	6,4057
Mediana		1,5400	9,6800	4,6346
Odchylenie standardowe		5,17868	41,04461	6,35476
Skośność		1,190	1,806	1,248
Kurtoza		0,159	1,888	1,176
Minimum		0,47	0,29	0,48
Maksimum		15,22	115,60	20,72
Percentyle	25	0,6000	2,4100	1,2553
	50	1,5400	9,6800	4,6346
	75	10,0100	24,3600	11,5485

W teście znaków rangowanych Wilcoxona stwierdzono istotnie statycznie wyższą wartość MR2 niż MR1. Statystyki testu przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Statystyki testu znaków rangowanych Wilcozona dla danych powiązanych w grupie pacjentów leczonych klomipraminą dla różnicy wartości MR2 – MR1

	MR 2 – MR 1
Z	-2,312
Istotność dokładna (dwustronna)	0,019
Istotność dokładna (jednostronna)	0,009

Z – wartość statystyki testowej testu Wilcozona

Omówienie wyników

Otrzymane wyniki potwierdzają hamujące właściwości klomipraminy wobec CYP2D6 i są zgodne z wynikami uzyskanymi wcześniej przez innych badaczy w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

Badania stopnia hamowania CYP2D6 *in vitro* przez nortryptylinę, dezypraminę, imipraminę i amitryptylinę, przeprowadzone przez Shina i wsp. [12], wskazują, że wszystkie ww. leki (w kolejności od najsilniejszego) mają potencjał hamujący. Obserwacje te są zgodne z wynikami innego badania *in vitro*, w których klomipramina, dezypramina i amitryptylina wykazały właściwości inhibicyjne w stosunku do CYP2D6 [13]. Duńskie badania wpływu klomipraminy na CYP2D6 *in vivo* potwierdzają, że hamuje ona szybkość oksydacji. Stopień inhibicji jest zależny od dawki, co zostało potwierdzone w badaniach z użyciem testu sparteinowego [14].

W badaniu własnym, podczas leczenia klomipraminą, w 3 przypadkach (tj. u 27,3% pacjentów) stwierdzono zmianę fenotypu oksydacji na fenotyp PM. Wartości MR2 (mediana 9,68) były statystycznie istotnie wyższe niż MR1 (mediana 1,54).

Powyższe wyniki potwierdzają dane z piśmiennictwa dotyczące hamujących właściwości klomipraminy [13,14]. W badaniu DUAG [14] w grupie osób stosujących dawki powyżej 75 mg stwierdzono zmiany fenotypu utleniania z EM na PM. Określono również zależność między stosowaną dawką a siłą hamowania CYP2D6; oszacowano, że wartość mediany relatywnego wzrostu MR (tj. wskaźnika MR2/MR1) dla dawek 25 mg, 50 mg, 75 mg, 125 mg i 200 mg kształtuje się odpowiednio 1,5, 2,2, 3,6, 6,1, 6,8. W związku z małą liczebnością badanej grupy oraz niejednorodnością stosowanych dawek przedstawione w badaniach własnych wyniki nie pozwalają na potwierdzenie zależności zaobserwowanej przez badaczy grupy DUAG. Wartość mediany relatywnego wzrostu MR wyniosła w badaniach własnych 4,63 dla całej grupy leczonej klomipraminą, niezależnie od wysokości dawki.

Znaczenie kliniczne uzyskanych wyników wiąże się z potencjalnymi skutkami interakcji podczas równoczesnego stosowania klomipraminy oraz innych leków, substratów CYP2D6, hamowanie CYP2D6 może prowadzić bowiem do wzrostu stężeń innych leków i wystąpienia objawów niepożądanych. Ryzyko takie jest szczególnie duże u osób stosujących polifarmakoterapię, zwłaszcza w wieku podeszłym. Możliwość zmiany fenotypu oksydacji podczas leczenia klomipraminą z szybkiego metabolizmu na wolny wskazuje na znaczącą siłę hamowania aktywności CYP2D6.

Fakt ten świadczy o potrzebie zachowania szczególnej ostrożności podczas leczenia skojarzonego klomipraminą oraz innymi lekami metabolizowanymi przez CYP2D6.

Wnioski

1. Klomipramina hamuje aktywność CYP2D6.
2. Klomipramina może zmieniać fenotyp oksydacji CYP2D6 z szybkiego (EM) na wolny (PM).

Влияние кломипромина на активность CYP2D 6 – предварительное сообщение

Содержание

Задание. Генетически обусловлена активность CYP2D 6 может быть модифицирована при применении лекарств путем ингибиции. Тормозящие особенности TL PD подтверждены, г.о., при исследованиях in vitro. Задание работы было исследование влияния кломипромина на активность CYP 2D6 in vivo.

Метод. В исследование вошло 11 пациентов, госпитализированных в психиатрических отделениях, у которых диагностированы депрессивные расстройства, согласно с критериями Классификаций ICD-10 и DSM-IV большой депрессии, при которых было применено лечение кломипрамином.

Активность CYP2 D6 была определена методом фенотипичности с применением спартеина. После внутреннего применения спартеина проводилось шестичасовое собирание мочи. На основании величины метаболического показателя (MR) спартеина фенотип оксидации обозначался два раза – после времени введения и после 14 дней применения установленной дозы кломипрамина (MR 2).

Результаты. При статистическом анализе всей группы TLPD в тесте ранговых знаков Вилькоксона (Wilcoxon) обнаружены статистически существенные различия между показателями MR 2 и MR 1 при применении кломипрамина. Во время такого лечения в 3 случаях (у 27,3% пациентов) обнаружено изменение фенотипа оксидации с EM на PM.

Der Einfluss von Clomipramin auf die Aktivität von CYP2D6 - Leitartikel

Zusammenfassung

Ziel. Genetisch bedingte Aktivität von CYP2D6 kann durch angewandte Medikamente auf dem Wege der Inhibition modifiziert werden. Die hemmenden Eigenschaften von TLPD wurden hauptsächlich in den in vitro - Untersuchungen bestätigt. Das Ziel der Arbeit war, den Einfluss von Clomipramin auf die Aktivität von CYP2D6 in vivo zu untersuchen.

Methode. Zur Studie wurden 11 Patienten qualifiziert, die psychiatrisch hospitalisiert wurden, bei denen depressive Störungen nach den ICD - 10 und DSM - IV - Kriterien diagnostiziert wurden. Es wurde bei den Patienten eine große Depression diagnostiziert und deswegen gab es Indikationen zur Anwendung von Clomipramin.

Die Aktivität von CYP2D6 wurde mit Hilfe von Phänotypisierung mit der Anwendung von Spartein bestimmt. Nach der peroralen Einnahme von Spartein wurde eine 6 Stunden lang andauernde Harnsammlung durchgeführt. Aufgrund der Werte des metabolischen Indexes (MR) von Spartein wurde der Phenotyp der Oxidation zweimal markiert: nach der Wash-out -Zeit (MR1) und nach 14 Tagen der Anwendung einer bestimmten Dosis vom Clomipramin (MR2).

Ergebnisse. In der statistischen Analyse für die ganze TLPD-Gruppe wurde im Vorzeichen - Rang - Test von Wilcoxon einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den MR2 und MR1 Werten während der Anwendung von Clomipramin festgestellt. Während der Behandlung

mit Clomipramin wurde in 3 Fällen (dh. bei 27,3% Patienten) die Veränderung des Phenotyps der Oxidation in PM - Phenotyp festgestellt.

Schlussfolgerungen. Clomipramin ist Inhibitor von CYP2D6, es kann auch den Phenotyp der Oxydation von EM auf PM verändern.

L'influence de clomipramine sur l'activité de CYP2D6

Résumé

Objectif. L'activité de CYP2D6, déterminée génétiquement, peut être modifiée par le processus d'inhibition de certains médicaments. Les propriétés d'inhibition de TCAs sont confirmées avant tout dans les recherches in vitro. Ce travail vise à examiner l'influence de clomipramine sur l'activité de CYP2D6 in vivo.

Méthode. On examine les patients hospitalisés (11 personnes), diagnostiqués d'après les critères ICD-10 et DSM-IV (troubles dépressifs et dépression), avec l'indication thérapeutique d'application de clomipramine.

L'activité de CYP2D6 est déterminée avec la méthode phénotypique – on use la spartéine – dose de 100mg. Ensuite on analyse l'urine des patients durant 6 heures. Basant sur l'indice métabolique (MR) de spartéine on définit le phénotype deux fois : après la période wash-out (MR1) et après 14 jours de la thérapie de clomipramine (MR2).

Résultats. L'analyse statistique du groupe de TCAs avec le teste de Wilcoxon note l'existence d'une différence valable statistiquement des valeurs MR2 et MR1 durant la thérapie de clomipramine. Chez 3 patients (27,3%) on observe le changement du phénotype EM en PM.

Conclusions. La clomipramine est un inhibiteur de CYP2D6, elle peut aussi changer le phénotype EM en PM.

Piśmiennictwo

1. Bernal ML, Sinues B, Johansson I, McLellan RA, Wennerholm A, Dahl ML, Ingelman-Sundberg M, Bertilsson L. *Ten percent of North Spanish individuals carry duplicated or triplicated CYP2D6 genes associated with ultrarapid metabolism of debrisoquine.* Pharmacogen. 1999; 9: 657–660.
2. Linder MW, Prough RA, Valdes R Jr. *Pharmacogenetics: a laboratory tool for optimizing therapeutic efficiency.* Clin. Chem. 1997; 43: 254–266.
3. Orzechowska-Juzwenko K, Pawlik J, Niewinski P, Milejski P, Dembowski J, Turek J, Gozdzik A, Swiebodzki L, Hora Z. *Genetically determined sparteine oxidation polymorphism in a Polish population.* Eur. J. Clin. Pharmacol. 1994; 46 (5): 481–483.
4. Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, Griese EU, Schwab M, Zanger UM. *Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metabolizer' phenotype for drug oxidation by CYP2D6.* Pharmacogenetics. 2000; 10: 577–581.
5. Kinirons MT, Crome P. *Clinical pharmacokinetic considerations in the elderly. An update.* Clin Pharmacokinet. 1997; 33: 302–312.
6. Aklillu E, Herrlin K, Gustafsson LL, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. *Evidence for environmental influence on CYP2D6-catalysed debrisoquine hydroxylation as demonstrated by phenotyping and genotyping of Ethiopians living in Ethiopia or in Sweden.* Pharmacogen. 2002; 12: 375–383.
7. Ching MS, Blake CL, Ghabrial H, Ellis SW, Lennard MS, Tucker GT, Smallwood RA. *Potent inhibition of yeast-expressed CYP2D6 by dihydroquinidine, quinidine, and its metabolites.* Biochem. Pharmacol. 1995; 7; 50:833–837.
8. Murray M. *P450 enzymes. Inhibition mechanisms, genetic regulation and effects of liver disease.* Clin. Pharmacokin. 1992; 23 (2): 132–146.

9. Lin JH, Lu AY. *Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications*. Clin. Pharmacokin. 1998; 35 (5): 361–390.
10. Szewczuk-Bogusławska M, Kiejna A, Beszlej J.A, Orzechowska-Juzwenko K, Milejski P. *Doxepin inhibits CYP2D6 activity in vivo*. Pol. J. Pharmacol. 2004; 56 (4): 491–494.
11. Brockmoller J, Roots I. *Assessment of liver metabolic function. Clinical implications*. Clin. Pharmacokin. 1994; 27 (3): 216–248.
12. Shin JG, Park JY, Kim MJ, Shon JH, Yoon YR, Cha IJ, Lee SS, Oh SW, Kim SW, Flockhart DA. *Inhibitory effects of tricyclic antidepressants (TCAs) on human cytochrome P450 enzymes in vitro: mechanism of drug interaction between TCAs and phenytoin*. Drug Metab. Dispos. 2002; 30 (10): 1102–1107.
13. Crewe HK, Lennard MS, Tucker GT, Woods FR, Haddock RE. *The effect of selective serotonin re-uptake inhibitors on cytochrome P4502D6 (CYP2D6) activity in human liver microsomes*. Brit. J. Clin. Pharmacol. 1992; 34: 262–265.
14. Danish University Antidepressant Group (DUAG). *Clomipramine dose-effect study in patients with depression: clinical end points and pharmacokinetics*. Clin. Pharmacol. Ther. 1999; 66 (2): 152–165.

Adres: Monika Szewczuk-Bogusławska
Katedra i Klinika Psychiatrii AM
50-367 Wrocław, ul. Pasteura 10

Otrzymano: 14.11.2005
Zrecenzowano: 7.09.2006
Przyjęto do druku: 28.09.2006