

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

محمد رضا شیران (PhD)^۱، سعید قارویی آهنگر (MD)^۲، شهاب رستمکلائی (MD)^۳، سیدعلی اصغر سفیدگر (PhD)^۴،

محمود برادران (PhD)^۱، ماریا هاشمی (BSc)^۲، مهرانگیز بالئی (BSc)^۳، 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 به وسیله آن متابولیزه و از بدن حذف می شوند. فعالیت متابولیکی این آنزیم به فاکتورهای متعددی بستگی دارد. از آنجائیکه تا کنون مطالعه ای سیستماتیک از فعالیت آنزیم سیتوکروم پی 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 گرم شربت میدازولام تجویز شد، سپس غلظت پلاسمایی میدازولام در نمونه های خونی جمع آوری شده در زمانهای ۰/۵، ۲ و ۶ ساعت بعد از تجویز، با استفاده از دستگاه 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 ۲۴/۵±۶/۹ 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 ۷۷/۲۲±۲۰/۹۸ لیتر بر ساعت بود که در خانمها (۸۳/۷۹±۱۵/۱۹ لیتر بر ساعت) بیشتر از آقایان (۷۵/۶۸±۲۱/۸۵ لیتر بر ساعت) بود ($p < 0.001$). حجم ظاهری انتشار کلی ۵۰/۴۴±۳۱۲/۶۵ لیتر و نیمه عمر حذف ۲/۹۶±۰/۶۸ 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: فوتیپ CYP3A، میدازولام، کلیرانس، متابولیسم کبدی.

مقدمه

تفاوتهای بین فردی زیادی در پاسخ به داروها و عوامل فارماکولوژیک وجود دارند (۱). وقتی دارویی با دوز یکسان به دو فرد با وزن تقریباً یکسان تجویز می شود، تفاوت غلظت پلاسمایی می تواند تا بیش از هزار برابر متغیر باشد (۲). تداخلات بین دارو- دارو، دارو- غذا، جنس، سن، تغییرات در فعالیت متابولیکی آنزیمهای کبدی و روده ای خصوصاً سیتوکرومهای کبدی، همگی می توانند بر تفاوتهای بین فردی در پاسخ به اثر داروها تأثیر گذار باشند. هر چند پاسخ بین فردی به عوامل دارویی، می تواند کاملاً تکرارپذیر باشد ولی ممکن است تفاوت های ژنتیکی نیز در بروز پاسخ به داروها دخیل باشند (۳). عامل ژنتیک مسئول ۲۰ تا ۹۵ درصد تنوع در متابولیسم و بروز اثرات بیولوژیک داروها می باشد (۴). گرچه خانواده آنزیمهای موسوم به سیتوکروم ها (CYP) گستردگی زیادی

تفاوتهای بین فردی زیادی در پاسخ به داروها و عوامل فارماکولوژیک وجود دارند (۱). وقتی دارویی با دوز یکسان به دو فرد با وزن تقریباً یکسان تجویز می شود، تفاوت غلظت پلاسمایی می تواند تا بیش از هزار برابر متغیر باشد (۲). تداخلات بین دارو- دارو، دارو- غذا، جنس، سن، تغییرات در فعالیت متابولیکی آنزیمهای کبدی و روده ای خصوصاً سیتوکرومهای کبدی، همگی می توانند بر تفاوتهای بین فردی در پاسخ به اثر داروها تأثیر گذار باشند. هر چند پاسخ بین فردی به عوامل دارویی، می تواند کاملاً تکرارپذیر باشد ولی ممکن است تفاوت های ژنتیکی نیز در بروز پاسخ به داروها دخیل باشند (۳). عامل ژنتیک مسئول ۲۰ تا ۹۵ درصد تنوع در متابولیسم و بروز اثرات بیولوژیک داروها می باشد (۴). گرچه خانواده آنزیمهای موسوم به سیتوکروم ها (CYP) گستردگی زیادی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجوی سعید قارویی آهنگر دانشجوی پزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۲۰۱۱۹۱۰۱۵ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.
* مسئول مقاله:

e-mail: moghadamnia@yahoo.com

آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فارماکولوژی - فیزیولوژی، تلفن: ۰۱۱۱-۲۱۹۹۵۹۱-۴

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 تترا استیک اسید (EDTA= Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid)؛ Isoamylalcohol؛ Methanol؛ hexan؛ 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 تجویز گرفته شد. سپس خونها در لوله های حاوی مقدار کمی EDTA ریخته شد و لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه و با دور $3500 \times$ سانتریفیوژ شدند. پلاسما به دست آمده به لوله دیگری منتقل گردیده و تا موقع اندازه گیری غلظت میدازولام در فریزر -70°C 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 Eurospheer C18 analytical column (5- μm particle size، $100 \times 4.6 \text{ mm i.d.}$ 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 در پیچ دار حاوی ۲۵ میکرولیتر از محلول ۲۵ نانوگرم در میلی لیتر دیازپام به عنوان استاندارد داخلی، ۲۰۰ میکرولیتر سود ۱ مولار 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 $3000 \times$ سانتریفیوژ شدند و لایه آلی (بالایی) برداشته و به یک لوله پلاستیکی تمیز حاوی ۲۰۰ میکرولیتر اسید کلریدریک ۰/۰۵ مولار منتقل گردید و بعد به مدت ۱ دقیقه تکان داده شد و مجدداً به مدت ۵ دقیقه و با دور $3000 \times$ 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= Coefficient 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 کینتیک P-Pharm محاسبه گردیده و به عنوان معیاری از فعالیت آنزیم CYP3A در نظر گرفته شد (۲۶).

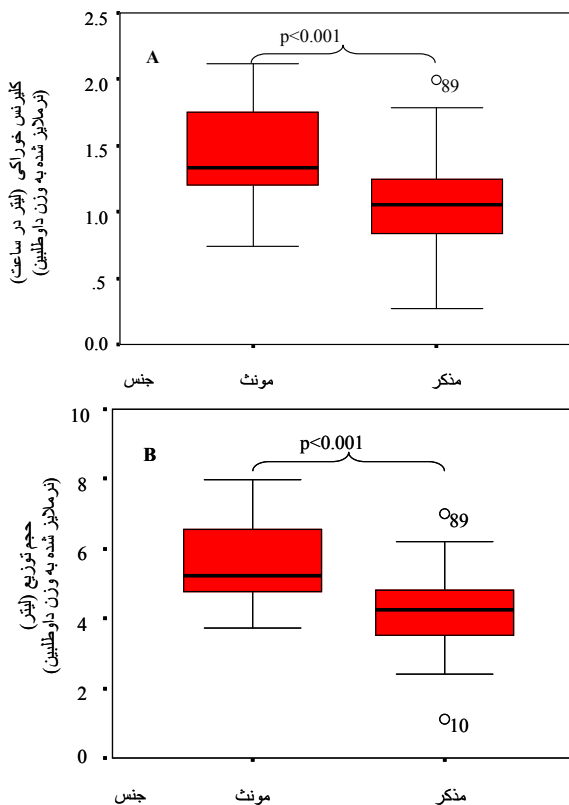
دارند (۵) ولی سه خانواده CYP 1, CYP 2, CYP 3 برای متابولیسم کبدی داروها و سموم مهمتر از بقیه هستند (۸-۶). سایر اعضای این خانواده برای ترکیبات اندوژن حاصل از متابولیسم، بسیار اختصاصی عمل می کنند و معمولاً توسط ترکیبات آگروژن القاء نمی شوند (۹و۵). مهمترین آنزیم متابولیزه کننده داروها در این گروه آنزیم 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 سبستر برای این آنزیم هستند مشکل باشد (۱۲).

فاکتورهای متعددی از جمله تغذیه (۱۳و۵)، سن (۱۴و۱۵)، 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 اریترومايسين 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 (۲۳و۲۴). 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 مازندران عمده‌تاً ساکن مازندران، بر اساس کلیرانس خوراکی میدازولام پرداخته شد.

مواد و روشها

مشخصات افراد شرکت کننده: این مطالعه مقطعی پس از تأیید 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 (۲۴/۵±۶/۹) سال و میانگین وزن 72.4 ± 10.1 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



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

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 $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین سنی افراد تحت مطالعه $24/5 \pm 6/9$ 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 میدازولام بطور میانگین ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر بود. تنها یک نفر غلظت تقریباً بالای ۱۰۰ نانوگرم در میلی لیتر خون نشان داد. میانگین کلیرانس خوراکی میدازولام $77/22 \pm 20/98$ لیتر بر ساعت بود (جدول ۱). ($p < 0.001$)

حجم ظاهری انتشار کلی $312/65 \pm 50/44$ لیتر و نیمه عمر حذف $2/96 \pm 0/68$ به دست آمد. تفاوت بین حداکثر و حداقل داده ها $6/3$ 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 داری در زنان ($83/79 \pm 15/19$ لیتر بر ساعت) بیشتر از مردان ($75/68 \pm 21/85$ لیتر بر ساعت) بود ($p < 0.001$) (نمودار شماره ۱).

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

پارامترهای کینتیکی	جنس	تعداد افراد	میانگین داده ها		%۹۵ محدوده اطمینان بر میانگین داده ها	
			بالایی	پایینی	حداکثر	حداقل
کلیرانس خوراکی (لیتر بر ساعت)	مونث	۱۸	$83/79 \pm 15/19$	$74/96$	$92/62$	$112/02$
	مذکر	۸۲	$75/68 \pm 21/85$	$63/32$	$88/04$	$115/95$
$CL/F (Lh^{-1})$ *	همه افراد	۱۰۰	$77/22 \pm 20/98$	$65/35$	$89/09$	$115/95$
حجم توزیع خوراکی (لیتر)	مونث	۱۸	$328/08 \pm 33/57$	$308/57$	$347/59$	$392/01$
	مذکر	۸۲	$309/03 \pm 52/02$	$279/03$	$339/03$	$401/31$
$Vd/F(L)$ **	همه افراد	۱۰۰	$312/65 \pm 50/44$	$284/11$	$341/19$	$401/31$
نیمه عمر فاز حذف (ساعت)	مونث	۱۸	$2/76 \pm 0/25$	$2/61$	$2/9$	$3/49$
	مذکر	۸۲	$3 \pm 0/74$	$2/58$	$3/42$	$6/54$
$t_{1/2} (h)$	همه افراد	۱۰۰	$2/96 \pm 0/68$	$2/57$	$3/34$	$6/54$

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

** Vd = Volum Of distribution

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

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

بحث و نتیجه گیری

است هورمونهای استروئیدی تنظیم کننده فعالیت CYP3A در سطح بیان ژنها دخیل باشند (۴۰). سیکل فائدگی فاکتور قدرتمندی در تنوع متابولیسم داروها در خانمهای جوان می باشد (۳۹ و ۴۱) 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 تفاوتی 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.

میانگین کلیرانس خوراکی میدازولام افراد شرکت کننده در این مطالعه ۷۷/۲۲±۲۰/۹۸ 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 (۳۶-۳۴ و ۲۹ و ۲۳). 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 نتایج 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 داروهای 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

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

M.R. Shiran (PhD)¹, S. Gharooee Ahangar (MD)², Sh. Rostamkolaei (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 ± 21.85 l/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

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 intrainestinal 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.

23. Belle DJ, Challaghan JT, Gorski JC, et al. The effects of an oral contraceptive containing ethinylloestradiol 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, Lindqvist 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.