

Profil aktywności cytochromu CYP 2D6 w grupie chorych na depresję

CYP 2D6 activity profile among patients with depression

Andrzej Bidziński¹, Iwona Koszewska², Danuta Turzyńska¹,
Antoni Kalinowski², Łukasz Święcicki², Marek Dąbrowski²,
Jarosław Torbiński², Elżbieta Burna-Drażkovic²,
Sławomir Fornal², Dorota Grądzka², Magdalena Namysłowska², Stanisław Pu-
żyński², Adam Płaźnik¹

¹ Z Zakładu Neurochemii IPiN w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. A. Płaźnik

² Z II Kliniki Psychiatrycznej IPiN w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. S. Pużyński

Summary

Aim: The aim of this work was to establish the profile of CYP 2D6 activity among patients with depressive disorders, and compare it with the literature data on this activity among healthy volunteers, recruited from the Polish population.

Method: The debrisoquine test was used to determine CYP 2D6 activity. Debrisoquine metabolic ratio (MR) was determined with the use of high performance liquid chromatography with spectrophotometric detection. Our results were compared with the results obtained with the use of an analogous method in the study performed at the Institute of Cardiology in Warsaw on 154 healthy controls.

Results: The percentage of “ultra-fast metabolizers” was 1.03% in the group of patients with depression, and 1.3% in the group of healthy volunteers. The percentages of the “slow metabolizers” in both groups were 5.1% and 5.6% respectively. Also, the percentages of persons considered to be at an increased risk of undesirable side effects from drugs metabolized by CYP 2D6, i.e. persons with debrisoquine metabolic ratio values above 4 were nearly identical in both groups (11.3 and 11.6%).

Conclusion: The results showed that CYP 2D6 activity profiles were practically identical in both groups. This indicates that there is no relationship between CYP 2D6 gene expression, as measured by the debrisoquine test, and affective disorders morbidity.

Słowa klucze: CYP 2D6, debrizochina, depresja

Key words: CYP 2D6, debrisoquine, depression

Wstęp

Genetycznie uwarunkowana i podlegająca polimorfizmowi genetycznemu aktywność cytochromu CYP 2D6 ma istotne znaczenie dla ustalania warunków terapii

wieloma lekami, w tym większością leków przeciwdepresyjnych i przeciwpsycho-
tycznych [1, 2, 3].

Podejmowano również próby powiązania niedoboru aktywności tego cytochromu z występowaniem niektórych schorzeń neurologicznych i psychicznych. Donoszono, na przykład, że genetycznie uwarunkowany niedobór CYP 2D6 może stanowić czynnik ryzyka w chorobie Parkinsona [4, 5], Alzheimer [6], a także schizofrenii [7]. Interesujące wydawało się więc rozstrzygnięcie, czy zależność taka ma miejsce w populacji osób z zaburzeniami afektywnymi. Zasadniczym warunkiem przeprowadzenia tego rodzaju porównania jest dysponowanie wynikami dla dostatecznie dużej grupy odniesienia, rekrutującej się z tej samej populacji co grupa badana, ponieważ różnice w profilach aktywności metabolicznej CYP 2D6 stwierdzano nawet w obrębie regionalnych subpopulacji europejskich [8]. Ponieważ w piśmiennictwie są dane na temat rozkładu aktywności metabolicznej CYP 2D6 ocenianej na podstawie testu debrizochinowego w polskiej populacji osób zdrowych [9], postanowiliśmy porównać te dane z wynikami przeprowadzonych przez nas zblizoną metodą oznaczeń współczynnika metabolicznego debrizochiny u osób chorych na depresję.

Material i metoda

Badana grupa

Oznaczenie MR debrizochiny wykonano u 97 chorych, hospitalizowanych z powodu depresji na Oddziale Chorób Afektywnych II Kliniki Psychiatrycznej IPiN. Badanie wykonywane było za pisemną zgodą pacjenta przed podjęciem kuracji lekiem przeciwdepresyjnym, po co najmniej 3 dniach wolnych od leków przeciwdepresyjnych (jeśli były one wcześniej stosowane). Chorzy, którzy leczeni byli uprzednio lekami długotrwale hamującymi aktywność CYP 2D6 (fluoksetyna, paroksetyna) w toku bieżącego lub poprzedniego epizodu depresji, nie byli kwalifikowani do badań. Protokół badania zatwierdzony został przez Komisję Bioetyki IPiN. Podstawowe dane demograficzne i kliniczne badanej grupy zawarte są w tabeli 1.

Tabela 1

Podstawowe dane kliniczne badanych chorych

Cecha kliniczna	Liczba badanych N= 97
Płeć	65 kobiet i 32 mężczyźni
Wiek badanych (średnia \pm SD)	52,7 \pm 12,9 roku
Czas trwania choroby (średnia \pm SD)	11,6 \pm 12,2 roku
Rozpoznanie	Pierwszy epizod depresyjny – 29 osób Zaburzenia afektywne dwubiegunowe – 45 osób Recydywy zaburzenia depresyjnego – 23 osoby
Czas trwania epizodu depresyjnego (średnia \pm SD)	12,3 \pm 15,6 m-cia
Średnio odczyt epizodu depresyjnego w skali Hamiltona (średnia \pm SD)	24,5 \pm 6,6 pktów HAM-D
Nasilenie depresji w skali globalnej oceny klinicznej (CGI)	73 osoby – poważnie/very/middle 24 osoby – umiarkowanie/lekkie

Wyznaczanie współczynnika metabolicznego (MR) debrizochiny

MR dla debrizochiny wyznaczano ze stosunku stężenia związku macierzystego do jego metabolitu (4-OH debrizochiny) w ośmiogodzinnej zbiórce moczu po podaniu doustnym 10 mg debrizochiny. Około 100 ml z dobrze wymieszanej, ośmiogodzinnej zbiórki moczu zamrażano i przechowywano w temperaturze -71°C przez czas nie dłuższy niż 3 tygodnie (stwierdzono, że oznaczenia badanych związków w zamrożonych próbkach moczu są stabilne przez 6 tygodni). Po rozmrożeniu regulowano pH moczu do pH 7,4 i następnie наносzono 4 ml próbkę na 0,5 ml kolumnę Amberlitu CG-50 (200–400 mesh) w formie NH_4^+ . Kolumnę przemywano 20 ml 0,001N HCl. Badaną frakcję wymywano 3 ml mieszaniny 1N HCl i metanolu w stosunku 7:3. Próbkę eluatu z kolumny amberlitowej wstrzykiwano do aparatury HPLC firmy Shimadzu Class VP z detektorem spektrofotometrycznym, zaopatrzonej w zawór wstrzykujący Rheodyne z pętlą 20 μl . Faza ruchoma to 0,025 M kwas cytrynowy, 0,055 M fosforan dwusodowy, 30% wobec metanolu. Kolumna: Luna C-18, 5 μ , 250 x 4,60 mm, termostatowana w $32,5^{\circ}\text{C}$. Przepływ 0,75 ml/min. Długość fali detektora 261 nm (w tym miejscu znajduje się maksimum absorpcji badanych związków).

Czasy retencji dla debrizochiny i hydroksydebrizochiny wynosiły odpowiednio 15,2 i 7,2 min. Stężenie badanych substancji wyznaczano ze wzorca zewnętrznego. Absorpcja obu substancji była liniowa w badanym zakresie stężeń – od 0,2 do 150 μM (współczynnik liniowej regresji $r=0,9975$).

Wydajność ekstrakcji na kolumnie amberlitowej wynosiła $93,2\pm 1,20\%$ dla debrizochiny i $91,1\pm 0,89\%$ dla hydroksydebrizochiny ($n=9$). Współczynnik zmienności (CV) spektrofotometrycznego oznaczenia obu związków w zakresie stężeń 0,2 do 5,0 μM wynosił poniżej 9%, a w zakresie stężeń 5,0 do 150,0 μM nie przekraczał 4% dla czterech powtórzeń.

Wyniki

Rozkład wyników oznaczeń współczynnika metabolicznego debrizochiny w badanej grupie chorych odbiegał w sposób istotny ($p<0,0001$; test Kołmogorowa–Smirnowa) od rozkładu normalnego. Mediana wynosiła 0,980, a 50% przedział wartości zamykał się w granicach 0,483–2,710. W całej badanej grupie znalazła się jedna osoba z kategorii „ultraszybko metabolizujących” ($\text{MR}=0,08$) oraz 5 osób o fenotypie wolno metabolizującym ($\text{MR}>12,6$). W przedziale wartości MR między 4 a 12,6, przypisywanym przez niektórych [8] osobom z grupy „podwyższonego ryzyka” ewentualnego wystąpienia niepożądanych działań leków, będących substratami CYP 2D6, znalazło się 11 badanych.

Porównanie wyników badanej grupy chorych z wynikami z piśmiennictwa odnośnie do rozkładu wartości współczynnika MR dla populacji osób zdrowych w Polsce

Zestawienie naszych wyników z wynikami grupy zdrowych ochotników [9] znajduje się w tabeli 2.

Tabela 2

Porównanie rozkładów wartości współczynnika metabolicznego (MR) debrizochiny w grupie chorych z depresją i w grupie osób zdrowych

	Chorzy na depresję	Zdrowi
Liczba badanych	97	54
Wiek	52,7 ± 12,9	41,7 ± 14,8
MR – mediana	0,980	0,875
MR – rozpiętość międzykwartylowa	0,483 – 2,71	0,615 – 1,72
Fenotyp ultracyflicki MR < 0,1	1,03 %	1,3 %
Fenotyp wolny MR = 12,6	5,1 %	5,6 %
Fenotyp powolny ^a 4 < MR < 12,6	11,3 %	11,6 %

* Dane dotyczące osób zdrowych zaczerpnięto z pracy: Kunicki P.K. i wsp. *Debrisoquine hydroxylation in a Polish population*. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1995; 47: 503–505.

Nasza grupa badana jest znamienne (p<0,001; test t-Studenta) starsza od grupy kontrolnej, nie stwierdzono w niej jednak znamiennej zależności między wiekiem a wartością MR. Porównanie międzygrupowe wartości MR nie wykazało znamiennej różnicy między grupą badanych chorych a grupą zdrowych (test rankingowy Manna-Whitneya; p=0,846).

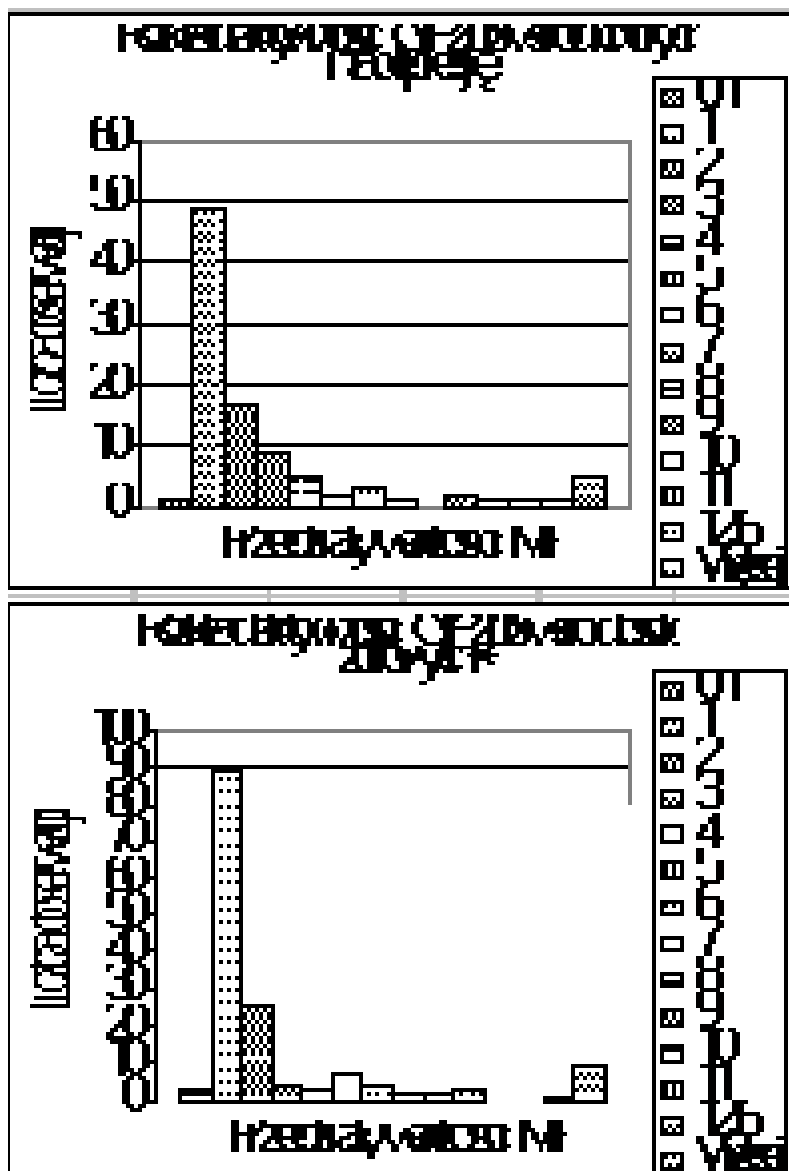
Histogramy rozkładu wartości MR debrizochiny w obu grupach przedstawiono na rysunku 1.

Omówienie wyników i wnioski

Poważnym mankamentem tej pracy jest to, że badania grup osób zdrowych i osób chorych wykonano w dwóch różnych ośrodkach. Trudno było jednak zrezygnować z niezwykle rzadko nadarzającej się okazji do porównania dwóch tak dużych liczebnie grup rekrutowanych z tej samej populacji etnicznej. Zasadność dokonania tego porównania oparliśmy na stwierdzeniu, że test debrizochinowy przeprowadzono w obu ośrodkach według tego samego protokołu, a metody analityczne oznaczania debrizochiny i hydroksydebrizochiny w moczu oparte były na tej samej zasadzie (HPLC z detekcją spektrofotometryczną). Wprawdzie metody te różniły się nieco w pewnych szczegółach technicznych, ale zarówno odzysk, jak i współczynnik zmienności w obu metodach nie odbiegały od siebie.

Samo porównanie wyników prowadzi do wniosku, że rozkład wartości współczynnika metabolicznego debrizochiny w grupie chorych na depresję nie tylko nie różni się znamienne od rozkładu obserwowanego w populacji ludzi zdrowych, lecz jest praktycznie taki sam. Oznacza to, że nie ma związku między, mierzoną za pomocą testu debrizochinowego, ekspresją genu kodującego CYP 2D6 a występowaniem zaburzeń afektywnych.

Fakt, że w grupie chorych na depresję odsetek osób o fenotypie „wolnym”



Rys. 1. Histogramy rozkładu wartości MR debrizochiny wśród osób zdrowych i chorych na depresję

* Dane dotyczące osób zdrowych zaczerpnięto z pracy: Kunicki P.K. i wsp. *Debrisoquine hydroxylation in a Polish population*. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1995; 47: 503–505.

im Hinblick auf die Möglichkeit der unerwünschten Behandlungseffekte mit durch CYP 2D6 metabolisierten Mitteln, dh. diesen mit dem metabolischen Index von Debrizochin über 4, in beiden Gruppen ähnlich und betrug entsprechend 11,3% und 11,6%.

Schlussfolgerungen: Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Aktivitätsprofile von CYP 2D6 praktisch gleich in der Gruppe der Kranken und Gesunden sind. Es gibt also keinen Zusammenhang zwischen der mit dem Debrizochintest gemessenen Genexpression von CYP 2D6, und dem Auftreten der affektiven Störungen.

L'activité de CYP 2D6 des patients souffrant de la dépression

Résumé

Objectif: Examiner l'activité de CYP 2D6 des patients souffrant de la dépression et comparer cette activité avec les données de la littérature en question concernant cette activité de sains volontaires de la Pologne.

Méthode: On utilise le teste de debrisoquine pour mesurer l'activité de CYP 2D6 chez 97 patients souffrant de la dépression. Le coefficient MR de debrisoquine est déterminé à l'aide de la méthode de la chromatographie liquide avec la détection spectrophotométrique. Les résultats obtenus sont comparés avec ceux de 157 personnes saines examinées de la même méthode à l'Institut de la Cardiologie de Varsovie.

Résultats: Le pourcentage de «ultra-vites-métaboliseurs» dans le groupe des malades – 1,03%, dans le groupe de contrôle – 1,3%. Le pourcentage de «lents métaboliseurs» – 5,1% (malades), 5,6% – sains. Le pourcentage des personnes du «groupe de plus grand risque» des effets défavorables des médicaments métabolisés par CYP 2D6 (le coefficient de debrisoquine plus grand que 4) est presque le même dans les deux groupes (11,3% et 11,6%).

Conclusions: Ces résultats indiquent que les profils de l'activité de CYP 2D6 sont presque les mêmes dans le groupe de malades et dans le groupe de personnes saines. Il n'existe pas donc la relation de l'expression du gène CYP 2D6, mesurée par le teste de debrisoquine, et la morbidité des troubles affectifs.

Piśmiennictwo

1. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA. *Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment.* *TIPS* 1999; 20: 342–349.
2. Kalow W. *Pharmacogenetics: Heredity and the response to drugs.* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1962.
3. Kirchheiner J, Bräsen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjöquist F, Spina E, Brockmöller J. *CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages.* *Acta Psychiatr. Scand.* 2001; 104: 173–192.
4. Armstrong M, Daly AK, Cholerton S, Batemen DN, Idle JR. *Mutant debrisoquine hydroxylation genes in Parkinson's disease.* *Lancet* 1992; 339: 1017–1018.
5. Smith CAD, Gough AC, Leigh PN. *Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease.* *Lancet* 1992; 339: 1375–1377.
6. Cervilla A, Russ C, Holmes C, Aitchison K, Smith CAD, Powell J, Lovestone S. *CYP 2D6 polymorphism in Alzheimer's disease, with and without extrapyramidal signs, showing no apolipoprotein E 4 effect modification.* *Biol. Psychiatry* 1999; 45: 426–429.
7. Coutts TR, Urchuk LJ. *Polymorphic cytochromes P 450 and drugs used in psychiatry.* *Cell. Molec. Neurobiol.* 1999; 3: 325–354.
8. Alvan G, Bechtel P, Iselius L, Gundret-Remy U. *Hydroxylation polymorphism of debrisoquine and mephenytoin in European populations.* *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1990; 39: 533–537.
9. Kunicki PK, Sitkiewicz D, Pawlik A, Bielicka-Sulżyc V, Borowiecka E, Gawrońska-Szklarz B, Sterna R, Matsumoto H, Radziwoń-Zaleska M. *Debrisoquine hydroxylation in a Polish popu-*

lation. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1995; 47: 503–505.

Otrzymano: 18.08.2003

Zrecenzowano: 15.10.2003

Przyjęto do druku: 25.06.2004

Adres: Andrzej Bidziński
Instytut Psychiatrii i Neurologii
Zakład Neurochemii
02-957 Warszawa, al. Sobieskiego 9