

P r a c e p o g l ą d o w e

Wojciech Kostowski

Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego
Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

FARMAKOLOGICZNE I TOKSYKOLOGICZNE ASPEKTY INTERAKCJI ALKOHOLU ETYLOWEGO Z UKŁADEM CYTOCHROMU P-450

WPROWADZENIE

Metabolizm ksenobiotyków, czyli substancji obcych dla organizmu, składa się z dwóch faz – pierwszej, zachodzącej w wyniku działania enzymów z grupy cytochromu P-450 (CYP) oraz drugiej, polegającej głównie na sprzężeniu z kwasem glukoronowym przy udziale glukuronozylotransferaz.

Alkohol etylowy (etanol) jest w organizmie metabolizowany trzema drogami, przy czym największy udział ma dehydrogenaza alkoholowa (ADH), głównie klasy I. Tą drogą około 70-90% spożytego alkoholu ulega przemianom do aldehydu octowego, który następnie jest rozkładany przy udziale dehydrogenazy aldehydowej (ALDH) (1, 5, 6).

Drugi szlak metabolizmu alkoholu związany jest z wspomnianym układem cytochromu P-450, trzeci mający marginalne znaczenie, jest realizowany przy udziale katalazy. Metabolizm alkoholu przy udziale P-450 jest szczególnie interesujący, ze względu na dużą liczbę izoenzymów występujących w tym procesie oraz ze względu na silny indukcyjny wpływ długotrwanie spożywanego alkoholu, polegający na aktywacji enzymu, szczególnie jego izoformy CYP 2E1 (6, 9). Wpływ ten jest złożony i związany zarówno ze zwiększeniem syntezy odpowiedniego mRNA, procesem translacji, jak i działaniami na poziomie posttranslacyjnym (czyli na białko enzymu zsyntetyzowanego na rybosomach).

Oczyszczony ludzki enzym CYP 2E1 ma masę cząsteczkową 56 820, składa się z 493 aminokwasów i kodowany jest tylko przez jeden gen znajdujący się w chromo-

somie 10 (14). Najsilniejsza ekspresja CYP 2E1 ma miejsce w komórkach wątroby (hepatocytach), szczególnie w miejscach przylegających do żyły wątrobowej (7). Niezwykle interesujące i ważne z biologicznego punktu widzenia, są niedawno poznane olbrzymie różnice osobnicze w aktywności enzymu. Może on różnić się pomiędzy poszczególnymi osobami nawet kilkadziesiąt razy. Związane jest to m. in. z obecnością wielu genetycznych wariantów polimorficznych.

Substraty CYP 2E1 i indukcja cytochromu

Substratami cytochromu CYP 2E1 jest wiele różnych leków i związków chemicznych (5, 6, 9). Należą do nich paracetamol, środki stosowane do ogólnego znieczulenia (halotan, enfluran i in.), izoniazyd, kofeina, eter dietylowy, pirydyna i in. (Tabela 1). Oprócz alkoholu, właściwość indukowania cytochromu CYP 2E1 mają: izoniazyd, pochodne imidazolu oraz związki ketonowe (np. aceton).

TABELA 1
Substraty CYP 2E1 i związki indukujące

Związki i inne czynniki indukujące CYP 2E1	Substraty CYP 2E1	
	L e k i	Inne związki chemiczne
Alkohol etylowy	Chlor zoksazon	Alkohol etylowy i inne alkohole
Pochodne imidazolu	Paracetamol	Aldehyd octowy
Aceton i inne związki ketonowe	Halotan	Związki aromatyzowane (benzen, toluen)
Stany patologiczne:	Enfluran	Kwasy tłuszczowe (arachidonowy, linolenowy,
Cukrzyca	Serwofluran	Pirydyna
Otyłość	Izoniazyd	Anilina
	Kofeina	Eter dietylowy
	7-etoksykumaryna	

Jest oczywiste, że etanol wchodzi w interakcje z metabolizmem leków i środków chemicznych będących, podobnie jak on, substratami CYP 2E1 (6, 9). Etanol wpływa także, chociaż znacznie słabiej indukująco na inne izoformy cytochromu P-450 np. CYP 2C9 (izoenzym związany z metabolizmem fenytoiny, tolbutamidu i antypiryny) i prawdopodobnie także CYP 3A4 oraz CYP 1A2 (6, 9, 13). Przewlekłe spożywanie etanolu prowadzi do nasilonego i przyspieszonego metabolizowania leków będących substratami CYP 2E1 (5, 6). Szczególnie drastyczny jest wpływ na parametry farmakokinetyczne chlorzoksazonu (Escoflex, lek zwiotczający mięśnie szkieletowe, o rdzeniowym mechanizmie działania), którego eliminacja wzrasta u osób pijących długotrwale alkohol o ponad 70% (4). Zwiększenie eliminacji dotyczy zresztą także wielu leków podlegających działaniu innych izoform cytochromu. Na przykład okres biologicznego półtrwania znanego leku przeciwdrgawkowego, fenytoiny jest znacznie skrócony u

alkoholików w wyniku zwiększenia wątrobowego klirensu leku. Fenytoina jest metabolizowana przy udziale CYP 2C9/10. Podobnie może wyglądać interakcja z innym znanym lekiem przeciwdrgawkowym, karbamazepiną (13, 15). Wspomniane zjawiska mogą mieć istotne znaczenie praktyczne, tłumaczyć w pewnym stopniu ograniczoną skuteczność niektórych leków przeciwpadaczkowych w tłumieniu drgawek występujących w alkoholowym zespole abstynencyjnym.

Znaczenie toksykologiczno-kliniczne interakcji

Ważna jest również z klinicznego punktu widzenia interakcja etanolu z lekami przeciwwkrzepowymi i doustnymi środkami przeciwcukrzycowymi. U alkoholików okres biologicznego półtrwania ($t_{1/2}$) tolbutamidu i warfaryny, metabolizowanych przez CYP 2C9/10, skraca się niemal dwukrotnie (wg 6), co pociąga za sobą redukcję skuteczności farmakologicznej. Warto dodać, że skróceniu (o ok. 50%) ulega także $t_{1/2}$ doksycykliny, silnego antybiotyku z grupy tetracyklin, charakteryzującego się długotrwałym działaniem.

Leki anksjolityczne (przeciwłękowe) z grupy pochodnych benzodiazepiny metabolizowane są głównie przez CYP 3A4 i CYP 2C19. Dotychczasowe informacje wskazują na brak wyraźnych interakcji etanolu z metabolizmem tych leków, co także ma istotne znaczenie kliniczne.

Interakcja z wziewnymi środkami anestetycznymi (enfluran, metoksyfluran) ma mniejsze znaczenie praktyczne, są one bowiem intensywnie eliminowane przez płuca. Może mieć jednak pewne konsekwencje toksykologiczne (patrz dalej).

Należy zastrzec się, że wpływ etanolu na metabolizm i parametry farmakokinetyczne różnych leków jest często bardziej złożony i nie tak jednoznaczny, jak by to mogły sugerować powyżej przedstawione informacje. Wpływ na te procesy ma także wiele innych czynników, które mogą istnieć i oddziaływać równolegle. Należą do nich np. palenie tytoniu (które jest przyczyną indukcji CYP 1A1), nawyki dietetyczne, wiek oraz stan czynnościowy wątroby. Trzeba też pamiętać, że o ile przewlekłe spożywanie alkoholu indukuje aktywność CYP 2E1, to dawki pojedyncze (ostre) mogą wpływać hamująco. Ponadto, przy znacznych uszkodzeniach wątroby, co jest częste w chronicznym alkoholizmie, aktywność enzymów wątroby, w tym CYP 2E1 jest niska, trudno zatem mówić o indukcji.

W sumie, liczba leków metabolizowanych przez CYP 2E1 nie jest imponująca i tylko niektóre wspomniane poprzednio mają poważne znaczenie farmakologiczno-kliniczne. Praktycznie, najsilniejsza jest interakcja z chlorzoksazonem, którego dawkowanie musi być u alkoholików znacznie podwyższone. Interakcja z paracetamolem i niektórymi innymi lekami może mieć natomiast poważny aspekt toksykologiczny. Paracetamol jest hepatotoksyczny tylko w sytuacji przedawkowania leku, przyczyną jest głównie akumulacja toksycznego metabolitu – N-acetylo-p-benzochinoiminy, w czym uczestniczy właśnie CYP 2E1 (12). Jest więc zrozumiałe, że hepatotoksyczność paracetamolu wzrasta u osób regularnie pijących alkohol (15).

W wyniku działania CYP 2E1 na fluorowane anestetyki wziewne (metoksyfluran, w mniejszym stopniu izofluran i enfluran) tworzą się nieorganiczne fluorki, co może być powodem uszkodzenia nerek (11).

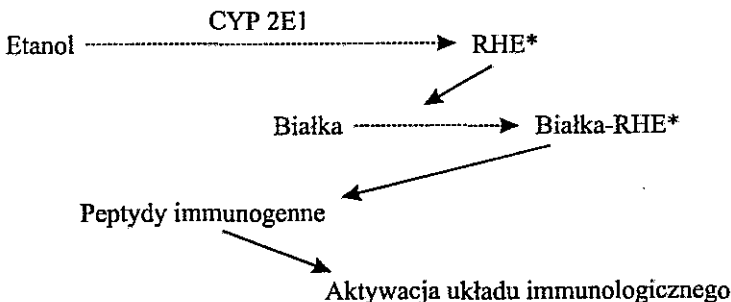
Również toksyczny wpływ halotanu na komórki wątroby wiąże się z rolą CYP 2E1, picie alkoholu może więc przyczynić się do nasilenia toksycznych działań wziewnych anestetyków na narządy mięsaszowe. Alkohol potęguje także nefrotoksyczne i hepatotoksyczne działanie czterochlorku węgla (8).

Interakcję alkoholu z innymi lekami związane z układem cytochromu P-450 mają jednak zakres ograniczony. Aktywność poszczególnych izoform enzymu, w tym CYP 2E1 jest, jak wspomniano, indywidualnie bardzo różna i o znaczącej roli enzymu w procesach metabolicznych można mówić właściwie tylko w wypadku osób z genetycznie uwarunkowaną znaczącą aktywnością enzymu. Generalnie bowiem udział CYP 2E1 w metabolizmie etanolu *in vivo* jest niewielki, o czym świadczy fakt, że nawet całkowite jego zablokowanie nie wpływa znacząco na stopień eliminacji etanolu z krwi (2).

Mechanizmy immunologiczne a hepatotoksyczne działanie alkoholu

Ostatnio wykryto ważny mechanizm hepatotoksyczności etanolu związany z CYP 2E1, nie wynikający jednak z interakcji i innymi lekami. Utlenienie etanolu przez ten układ enzymatyczny prowadzi do powstania rodników alfa-hydroksyetylowych, które tworzą kowalentne wiązania z białkami. W wyniku łańcucha reakcji powstają złożone addukty indukujące tworzenie się cytotoksycznych przeciwciał uszkadzających hepatocyty. Przeciwciała IgG i IgA „rozpoznające” białka zmodyfikowane przez rodniki hydroksyetylowe zostały niedawno wyodrębnione z surowicy osób, cierpiących na poalkoholowe uszkodzenie wątroby, a także z krwi szczurów przewlekle otrzymujących etanol (3).

Tak więc przyjmuje się, że CYP 2E1 odgrywa istotną rolę w indukowaniu zmian prowadzących do poalkoholowego uszkodzenia wątroby, w tym też procesów o typie autoimmunizacji (10). (Ryc. 1).



Ryc. 1. Powstanie rodnika alfa hydroksyetylowego RHE czyli (CH_3CHOH^*), który wiążąc się kowalentnie z białkami, prowadzi do aktywacji układu immunologicznego.

Na zakończenie warto dodać, że u alkoholików wykryto obecność przeciwciał IgG skierowanych przeciw natywnemu układowi cytochromu P-450, w tym przeciw CYP 2E1 oraz CYP 3A1. Przeciwciała przeciw CYP 2E1 stwierdzono u ponad 80% alkoholików w porównaniu z 40% osób zdrowych. Wyniki te sprawiają, że obraz interakcji alkoholu z układem cytochromu P-450 staje się jeszcze bardziej złożony. Nie ulega jednak wątpliwości, że interakcja ta ma bardzo poważne znaczenie farmakologiczne i toksykologiczne i powinno się o niej pamiętać w bardzo wielu sytuacjach klinicznych.

STRESZCZENIE

Alkohol etylowy jest metabolizowany przez kilka układów enzymatycznych, w tym przez cytochrom P-450 2E1 (CYP 2E1). Jakkolwiek droga ta nie odgrywa tak znacznej roli jak układ dehydrogenaz (alkoholowej i aldehydowej) i dotyczy osób z wyraźną ekspresją enzymu to interakcja z CYP 2E1 i indukcja jego aktywności mogą mieć istotne znaczenie farmakologiczne i toksykologiczne. Indukcja enzymu przez alkohol wpływa na metabolizm leków będących substratami tego cytochromu (chlorzoksazon, paracetamol i in.) oraz, w pewnym stopniu, leków będących substratami innych izoenzymów cytochromu (np. fenytoina). Na przykład czynna dawka chlorzoksazonu u osób regularnie pijących alkohol musi być znacznie podwyższona. Wzmoczony metabolizm paracetamolu prowadzi z kolei do akumulacji toksycznych metabolitów o działaniu hepatotoksycznym. Interakcja alkoholu z CYP 2E1 prowadzi ponadto do powstania rodników alfa-hydroksyetylowych, które tworzą kowalentne wiązania z białkami komórek wątroby. Na powstałe w ten sposób addukty wytwarzają się przeciwciała skierowane przeciw hepatocytom. Prowadzi to do uszkodzenia wątroby.

Słowa kluczowe: alkohol etylowy, cytochrom P-450, CYP 2E1, indukcja cytochromu

Wojciech Kostowski

Pharmacological and toxicological consequences of ethanol-cytochrome P-450 interactions

SUMMARY

Ethanol is metabolized by several enzymatic systems, including that of the cytochrome P450 2E1 (CYP 2E1). Although this pathway, being limited to individuals with a marked expression of the enzyme, is not as important as the ethanol and aldehyde dehydrogenase systems, nevertheless the ethanol-CYP 2E1 interaction and induction of CYP 2E1 activity may have significant pharmacological and toxicological consequences. Induction of the enzyme by ethanol is able to stimulate drug metabolism, especially as regards drugs being the CYP 2E1 substrates (such as chlorzoxazone and paracetamol), and to some degree, also drugs with affinity to other isoenzymes of the cytochrome (e.g. phenytoin). E.g. an active dose of chlorzoxazone must be considerably increased in regu-

lar alcohol users. On the other hand, enhanced metabolism of paracetamol leads to accumulation of hepatotoxic intermediate metabolites. Moreover, the alcohol-CYP 2E1 interaction results in the appearance of alpha-hydroxyethyl radicals forming co-valent bonds with liver cell proteins. In response to thus produced adducts antibodies are formed with a possible cytotoxic action that may lead to hepatic injury.

Key words: ethanol, cytochrome P-450, CYP 2E1, cytochrome induction

PIŚMIENNICTWO

1. Agarwal D., Goedde H. (1990): *Alcohol metabolism, alcohol intolerance and alcoholism*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, str 120-149.
2. Badger T. M., Ronis M. J. i wsp. (1995): *Inhibition of CYP 2E1 activity does not abolish pulsatile urine alcohol concentration during chronic alcohol infusion*. Eur. J. Biochem. 230: 914-919.
3. Clot P., Parola M., Bellomo G. i wsp. (1997): *Plasma membrane hydroxyethyl radical adducts cause antibody-dependent cytotoxicity in rat hepatocytes exposed to alcohol*. Gastroenterology 113: 265-276.
4. Girre C., Lucas D., Hispard E. (1994): *Assessment of cytochrome P-4502E1 induction in alcoholic patients by chlorzoxazone pharmacokinetics*. Biochem. Pharmacol. 47: 1503-1508.
5. Holford N.H. (1987): *Clinical pharmacokinetics of ethanol*. Clin. Pharmacokinetics. 13: 273-292.
6. Klotz U., Ammon E. (1998): *Clinical and toxicological consequences of the inductive potential of ethanol*. Eur. J. Clin. Pharmacol. 54: 7-12.
7. Lindros K.O. (1997): *Zonation of cytochrome P-450 expression, drug metabolism and toxicity in liver*. Gen. Pharmacol. 28: 191-196.
8. Manno M., Rezzadore M., Grossi M., Sbrana C. (1996): *Potential of occupational carbon tetrachloride toxicity by ethanol abuse*. Numan Exp. Toxicol. 15: 294-300.
9. Misra P.S., Lefevre A., Ishii H. i wsp. (1971): *Increase of alcohol, meprobamate and pentobarbital metabolism after chronic ethanol administration in man and rats*. Am. J. Med. 51: 345-351.
10. Morimoto M., Hagbjork A.L., Yvonne Y-J Fu i wsp. (1995): *Modulation of experimental alcohol-induced liver disease by cytochrome P-4502E1 inhibitors*. Hepatology 21: 1610-1617.
11. Park B.K., Kitteringham N.R. (1994): *Effects of fluorine substitution on drug metabolism-pharmacological and toxicological implications*. Drug. Metab. Rev. 26: 605-643.
12. Raucy J.L., Lasker J.M., Lieber C.S., Black M. (1989): *Acetaminophen activation by human liver cytochromes P-450 2E1 and P-4501A2*. Biochem. Biophys. 271: 270-283.
13. Sandor P., Sellers E. M., Dumbrell M., Khouw V. (1981): *Effect of short- and long-term alcohol use on phenytoin kinetics in chronic alcoholics*. Clin. Pharmacol. Ther. 30: 390-397.
14. Song B.J., Cederbaum A.I. (1996): *Ethanol-inducible cytochrome P-450 (CYP 2E1): biochemistry, molecular biology and clinical update*. Alcohol Clin. Exp. Res. 20: 138A-146A.
15. Sternebring B., Linden A., Anderson K., Melander A. (1992): *Carbamazepine kinetics and adverse effects during and after ethanol exposure in healthy volunteers*. Eur. J. Clin. Pharmacol. 43: 393-397.
16. Zimmermann H. J., Maddrey W.C. (1995): *Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol*. Hepatology 22: 767-773.