شبكة المعلومات الجامعية

بسم اللّه الرحمن الرحيم

شبكة المعلومات الجامعية

التوثيق الالكتروني والميكروفيلم

شبكة المعلومات الجامعية

جامعة عين شمس

التوثيق الإلكتروني والميكروفيلم

قسم

نقسم باللّه العظيم أن المادة التي تم توثيقها وتسجيلها علي هذه الأقراص المدمجة قد أعدت دون أية تغيرات

يجب أن

تحفظ هذه الأقراص المدمجة بعيدا عن الغبار

شبكة المعلومات الجامعية

بعض الوثائق الأصلية تالفة

شبكة المعلومات الجامعية

بالرسالة صفحات لم ترد بالأصل

Cytochrome P450 2D6 genetic polymorphisms in relation to tramadol metabolism in Egyptian abusers

Thesis

Submitted for the award of Ph.D. degree in Biochemistry

By

Olfat Elsayed Mostafa

(M.Sc. in Biochemistry 2007)

Under supervision of

Prof.Dr. Nadia M.Abdallah
Professor of Biochemistry
Faculty of Science- Ain Shams University

Prof.Dr. Fatma F. Abdel Hamid
Professor of Biochemistry
Faculty of Science - Ain Shams University

Dr.Mohamed A.M.Ali
Assistant professor of Biochemistry
Faculty of Science- Ain Shams University

Prof.Dr.Mohy K. Elmasry
Professor of Toxicology &Forensic Medicine
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Dr. Ghada F.A.Abdallah
Forensic Toxicologist
General manger - Central chemical laboratory
Medicolegal administration

Faculty of Science
Ain Shams University
2020

سورة البقرة الآية: ٣٢

كلية العلوم

جامعة عين

شمس

رسالة دكتوراه الفلسفة فى العلوم فى الكيمياء الحيوية

اسم الطالبة: ألفت السيد مصطفى

عنوان الرسالة: العلاقة بين تعدد الأشكال الوراثية لجين السيوكروم **P4502D6** وأيض الترامادول فى المتعاطين المصريين

الدرجة العلمية: دكتوراه الفلسفة فى العلوم فى الكيمياء الحيوية.

لجنة الإشراف:

أ.د/ نادية محمد عبدالله: أستاذ الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.د/ فاطمة فرج عبدالحميد: أستاذ الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.م/ محمد أحمد محمد على: أستاذ مساعد الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.د/ محى قدرى المصرى: أستاذ السموم والطب الشرعى – كلية الطب – جامعة عين شمس

أ.د/ غادة فؤاد أحمد عبدالله: خبير سموم ومخدرات – مدير عام الإدارة العامة بالمعامل الكيميائية المركزية – مصلحة الطب الشرعى

لجنة التحكيم:

أ.د/ إبراهيم على عمارة: أستاذ باحث بالمعهد القومى لأمراض السكر والغدد الصماء

أ.د/ منحه محمود سويلم: أستاذ باحث بالمركز القومى للبحوث

أ.د/ نادية محمد عبدالله: أستاذ الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.د/ فاطمة فرج عبدالحميد: أستاذ الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

تاريخ البحث / /

الدراسات العليا

ختم الإجازة

أجيزت الرسالة بتاريخ / /

موافقة مجلس الكلية موافقة مجلس الجامعة

كلية العلوم
قسم الكيمياء
الحيوية

اسم الطالبة : ألفت السيد مصطفى

الدرجة العلمية : ماجستير فى الكيمياء الحيوية.

القسم التابع له : الكيمياء الحيوية.

اسم الكلية : كلية العلوم.

الجامعة : جامعة عين شمس

سنة التخرج : ١٩٩٥

سنة المنح : ٢٠٠٧

كلية العلوم
قسم الكيمياء
الحيوية

شكر

أشكر السادة الأساتذة الذين قاموا بالإشراف وهم:

أ.د/ نادية محمد عبدالله
أستاذ الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.د/ فاطمة فرج عبدالحميد
أستاذ الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.م/ محمد أحمد محمد على
أستاذ مساعد الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

أ.د/ محى قدرى المصرى
أستاذ السموم والطب الشرعى – كلية الطب – جامعة عين شمس

أ.د/ غادة فؤاد أحمد عبدالله
خبير سموم ومخدرات – مدير عام الإدارة العامة بالمعامل الكيميائية المركزية – مصلحة الطب الشرعى

كما أشكر قسم الكيمياء الحيوية – كلية العلوم – جامعة عين شمس

ABSTRACT

Objective: There is substantial evidence for a causal relationship between genetic variability of the cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene and changes in the pharmacokinetics of drugs. Polymorphic CYP2D6 activity has been shown to be a determinant of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tramadol via hepatic phase I O-demethylation of (+)-tramadol to (+)-O-desmethyltramadol. Several studies have demonstrated the impact of CYP2D6 polymorphism on the pharmacokinetics of tramadol. Hence, the aim of this study was to determine if the well documented pharmacokinetics of tramadol regarding CYP2D6 could be verified in a group of Egyptian abusers. The genotype-phenotype relationships were also assessed.

Subjects and Methods: A total of 83 tramadol abusers who were referred to the Poison Control Center (PCC), Ain Shams University Hospitals, were enrolled in the present study. Urinary concentrations of tramadol (TMD), and its metabolites, O-desmethyltramadol M1 (ODT) and N-desmethyltramadol M2 (NDT) were determined using the Trace GC-TSQ mass spectrometer. CYP2D6 genotyping was performed using PGX-CYP2D6 Strip Assay.

Results: With use of CYP2D6 phenotyping, 10 abusers (12.1%) were classified as CYP2D6 poor metabolizers (PMs), and 73 (87.9%) were genotyped as CYP2D6 extensive metabolizers (EMs), including 57 (68.7%) homozygous EMs and 16 (19.2%) heterozygous EMs. Median TMD level didn't differ significantly between PMs and EMs (p=0.356). Median M1 level was significantly higher in EMs than that in PMs (p=0.001), while median M2 level didn't differ significantly between PMs and EMs (p=0.597). There were statistically significant differences in TDM/M1, TDM/M2 and M1/M2 ratios between PMs and EMs (p=0.001). M1/M2, with an area under the ROC curve of 0.976, performed better than TDM/M1 (AUC=0.724) and TDM/M2 (AUC=0.656), in differentiating between EMs and PMs.

Conclusion: The impact of the CYP2D6 polymorphism on the pharmacokinetics of tramadol was clearly demonstrated in a group of tramadol-intoxicated abusers□

First and foremost thanks to **ALLAH**, the most merciful

I would like to express my deepest appreciation and gratitude to ***Prof. Dr. Nadia Mohamed Abdallah*** *for helpin me choose this important and up-to-date subject, and for her continuous and unconditioned guidance and support.*

I would also like to thank ***Prof. Dr. Fatma F. Abdel Hamid*** *for her patience and meticulous remarks which have helped me keep this essay structured, organized and concise.*

I want to express my profound thanks to ***Prof.Dr.Mohy K. Elmasry*** *for his great efforts with me, and for providing me with valuable advice and kind supervision.*

I would like to express my deepest thanks ***Dr.Mohamed A.M.Ali*** *for his kind supervision, moral support, instructive guidance and kind advice.*

Special thanks are extended to ***Dr. Ghada F.A.Abdallah,*** *for her encouragement and great support.*

Thanks to my friends and colleagues in the Toxicology department of Ain Shams University for helping me in many ways throughout my residency and in writing this essay.

Last but not least, I thank my family, for being there for me along the road, and for whom I owe everything I am, and will ever be.

List of Contents

Title Page No.

List of Tables ..... **i**
List of Figures **13**
List of Abbreviations ..... **iv**
1. Introduction **1**
Aim of The Work **5**
Chapter I: Review of literature **6**
1.1. WHO Review History 8
1.2. Physical properties 8
1.3. Chemistry 9
1.3.1. Chemical Name 9
1.3.2. Chemical Structure 9
1.3.3. Stereoisomers 10
1.3.4. Chemical Properties 11
1.3.5. Synthesis 11
1.3.6. Chemical description 12
1.3.7. Chemical identification 13
1.4. General Pharmacology 14
1.4.1. Routes of administration and dosage 14
1.4.2. Pharmacokinetics 14
1.4.2.1. Distribution 15
1.4.2.2. Absorption 16
1.4.2.3. Metabolism and Elimination 17
1.4.2.4. Mechanism of Action 20
1.4.2.5. Analgesia 21
1.5. Toxicology 24
1.5.1. Respiratory depression 24
1.5.2. Cardiac Effects 25
1.5.3. Hepatic system 25
1.5.4. Seizures 26
1.5.5. Antidepressant effects 27
1.5.6. Serotonin syndrome 28
1.5.7. Haemodynamic Effects 29
1.5.8. Gastrointestinal Effects 29
1.5.9. Effects on Immune System 29
1.5.10. Central nervous system (CNS) effects 30
1.5.11. Carcinogenicity 31
1.5.12. Fatalities 31

List of Contents (Cont...)

Title Page No.

1.5.13. Food Effects *31*
1.6. Pharmacodynamics 32
1.7. Cytochrome P450 36
1.7.1. Nomenclature of CYPS 37
1.7.2. Classification of CYPs 39
1.7.3. Structure of CYPs 41
1.7.4. Occurrence and functions 42
1.7.5. Catalytic cycle of cyp enzymes 47
1.7.6. Factors influencing CYP function 48
1.8. CYP2D6 ..... *49*
1.8.1. Human CYP2D6; structure and function 50
1.8.2. Substrates of CYP2D6 53
1.8.3. Inhibitors of CYP2D6 55
1.8.4. Regulators of CYP2D6 55
Chapter II: Tramadol Abusers and Methods 59
2.1. Exclusion criteria 59
2.2. Tramadol abusers 60
2.3. General examination 61
2.3.1. Vital data 61
2.3.2. Skin examination 62
2.3.3. Eye examination 62
2.4. Systemic examination 63
2.4.1. Respiratory system examination 63
2.4.2. Gastrointestinal tract examination 64
2.4.3. Neurological examination 64
2.5. CYP2D6 Genotyping 66
2.5.1. DNA Isolation 66
2.5.2. *In Vitro* Amplification (PCR) 68
2.5.3. Hybridization (45°C; shaking waterbath) 69
2.5.4. Stringent Wash (45°C; shaking waterbath) 70
2.5.5. Color development (room temperature) 70
2.5.6. Interpretation of the results 71
2.6. Determination of tramadol and its metabolites O-desmethyltramadol and nortramadol (N-desmethyl-tramadol) 73
2.7. Laboratory investigations 74
2.7.1. Arterial Blood Gas Analysis (ABG) 75

List of Contents (Cont...)

Title Page No.

2.7.2. Serum random glucose level....76
2.7.3. Serum sodium and potassium levels....77
2.7.4. Liver enzymes (AST and ALT)....77
2.7.5. Kidney function tests....80
2.7.5.1. Blood urea....80
2.7.5.2. Serum creatinine....81
2.7.6. Serum Creatine kinase total (CPK)....82
2.8. Calculation of the emergency scores....84
2.8.1. The Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) score....84
2.8.2. Glasgow Coma Score (GCS)....85
2.9. Statistical analysis....88
Chapter III: Results....94
Chapter IV: Discussion....135
Summary & Conclusion....148
References....151
Arabic Summary
Arabic Abstract