

REVIEW: PENGARUH POLIMORFISME CYP2C9*2 DAN CYP2C9*3 TERHADAP RESIKO PENDARAHAN SALURAN GASTROINTESTINAL TERAPI NSAID

Febby Valentine Purwadi, Tina Rostinawati
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang km.21 Jatinangor 45363
febbyvp@gmail.com, tinarostinawati@gmail.com

ABSTRAK

Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug (NSAID) adalah golongan obat pereda nyeri yang paling banyak diresepkan dan digunakan di dunia. Meskipun banyak digunakan tetapi NSAID tidak lepas dari efek samping. Efek samping serius yang paling sering terjadi adalah pendarahan pada saluran gastrointestinal. Berbagai faktor resiko telah diketahui dapat meningkatkan resiko pendarahan, seperti umur, penggunaan NSAID dosis tinggi, penggunaan bersamaan beberapa obat golongan NSAID dan juga polimorfisme gen. Polimorfisme pada gen pengkode enzim CYP2C9, enzim yang memetabolisme NSAID, diketahui memiliki peran yang cukup penting terhadap peningkatan resiko pendarahan. Variasi *2 dan *3 dari CYP2C9 akan menurunkan aktivitas CYP2C9 sehingga metabolisme NSAID berjalan lebih lama. Hal ini dapat berujung pada tingginya konsentrasi NSAID dalam plasma darah sehingga berakibat meningkatnya kemungkinan efek samping pendarahan. Penentuan polimorfisme CYP2C9, digunakan untuk penyesuaian dosis sehingga diharapkan dapat mengurangi resiko pendarahan saluran gastrointestinal.

Kata Kunci: NSAID, CYP2C9, Polimorfisme, Pendarahan saluran Gastrointesinal

ABSTRACT

Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug (NSAID) are drugs used worldwide to relieve pain as it has analgesic and anti-inflammatory effect. However, NSAID also give side effect with gastrointestinal bleeding as the most common severe side effect happened in patients using NSAID. Many factors are known to increase the risk of gastrointestinal bleeding, such as age, high-dose NSAID usage, concomitant use of two NSAID and gene polymorphism. Polymorphism on gene encoding CYP2C9 enzyme, enzyme which metabolize NSAID, will increase the risk of bleeding because variants *2 and *3 decrease the activity of the enzyme. Thus, NSAID will be metabolized longer while the concentration of NSAID in plasma will be high, increasing the probability of side effect. Through determination of CYP2C9 polymorphism, NSAID dose adjustment could be done and hopefully will reduce the risk of gastrointestinal bleeding.

Keywords: NSAID, CYP2C9, Polymorphism, Gastrointestinal bleeding

PENDAHULUAN

NSAID atau *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug* merupakan obat pereda nyeri dan inflamasi yang bekerja dengan cara menghambat produksi prostaglandin.

Kemampuannya untuk menghambat produksi prostaglandin, menjadikan NSAID sebagai pilihan utama untuk banyak penyakit. Pada tahun 2010 di Amerika serikat, sekitar 29 juta orang

dewasa menjadi pengkonsumsi rutin NSAID [1]. Penelitian lain juga membuktikan bahwa NSAID dikonsumsi oleh 9.8% laki-laki dan 12.6% wanita dewasa di Australia dan penggunaannya meningkat pada orang berusia diatas 75 tahun [2]. Di Asia (Jepang, China, Korea, Filipina, Thailand dan Indonesia), 91% dokter meresepkan NSAID pada lebih dari 5 pasien per minggu, ~~dimana~~ di Indonesia jumlah NSAID yang diresepkan setiap minggunya mencapai angka 20 preskripsi [3]. Meskipun penggunaannya sangat luas di masyarakat, namun NSAID telah dikenal memiliki beberapa efek samping. Efek samping utama dari NSAID adalah luka pada saluran gastrointestinal. NSAID bersifat tidak selektif, yang tidak hanya menghambat enzim COX-2, tapi juga menghambat enzim COX-1 yang berperan penting dalam pembentukan mukosa gastrointestinal [4].

Derajat keparahan efek samping NSAID dapat berbeda pada satu individu dengan individu lainnya, hal ini dikarenakan ~~oleh~~ adanya polimorfisme pada setiap individu. Polimorfisme dapat

terjadi pada gen pengkode protein, salah satu nya adalah gen pengkode enzim yang memetabolisme obat. Enzim yang memetabolisme NSAID adalah isoform sitokrom P450 (CYP450), yaitu CYP2C9 [5]. Polimorfisme CYP2C9 *2 dan *3 paling banyak ditemukan dan diteliti [6]. Beberapa studi menunjukkan bahwa varian *3 lebih menurunkan metabolisme NSAID dibandingkan dengan varian *2 dan *1 [6, 7]. Untuk mengetahui polimorfisme tersebut salah satu langkah yang perlu dilakukan adalah genotyping. Dengan mengetahui polimorfisme CYP2C9 diharapkan insiden akibat meningkatnya resiko efek samping dari terapi NSAID dapat berkurang.

METODE

Metode yang digunakan adalah studi literatur. Studi literatur dilakukan menggunakan browser dan situs pencarian dengan kata kunci “NSAID”, “*Polymorphism*”, “CYP2C9”, “*Gastrointestinal Bleeding*”, “*Metabolizer enzyme*”. Pencarian dengan kata kunci ini dilakukan dalam Bahasa Inggris. Kriteria inklusi yang digunakan meliputi (a)

Pustaka primer harus mengandung bahasan dari kata kunci yang dicari serta (b) Pustaka primer maksimal 10 tahun terakhir untuk sumber primer. Kriteria eksklusi meliputi tahun penerbitan pustaka primer tidak boleh lebih dari 10 tahun untuk sumber primer. Dari pencarian tersebut, diperoleh 25 pustaka yang kemudian dikerucutkan menjadi 21 pustaka. Selain itu, terdapat beberapa literatur yang lebih dari 10 tahun dan digunakan hanya sebagai informasi penunjang dengan menggunakan metode trace back yakni studi literatur dari salah satu pustaka hingga ke pustaka yang paling awal.

HASIL

Tidak semua orang memberikan reaksi yang sama terhadap suatu pengobatan. Begitu pula reaksi individu terhadap terapi NSAID. NSAID dapat memberikan efek samping yang lebih kuat pada satu individu tetapi NSAID juga dapat memperlihatkan efek samping yang lebih lemah pada individu lain. Ini disebabkan oleh adanya variasi gen pengkode enzim CYP2C9. Prevalensi variasi ini berbeda-beda bergantung pada etnis nya, sepertinya yang ditunjukkan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Prevalensi Varian CYP2C9 interetnik

Populasi Etnik	CYP2C9*2	CYP2C9*3	Referensi
Afrika-Amerika	2.9%	2 %	[8]
Afrika	0 – 4.3%	0 – 2.3%	[8]
Kaukasia	14%	8%	[9]
Hispanik	4.73%	3.55%	[7]
Asia	1 – 0.1%	1.1 - 3.6%	[8]

Gangguan yang terjadi akibat adanya polimorfisme pada CYP2C9 adalah perubahan pada kecepatan metabolisme beberapa obat oleh enzim tersebut. CYP2C9*2 dan CYP2C9*3 diketahui

menurunkan kecepatan metabolisme NSAID atau disebut *Poor Metabolizer* [10, 11, 12]. Selain mengganggu kecepatan metabolisme obat menjadi metabolit yang kurang aktif, *clearance* obat hasil

metabolisme juga berkurang karena terhambatnya fungsi CYP2C9, yang diperkirakan memberikan kontribusi sekitar 15-20% pada *clearance* obat yang

telah melewati metabolisme fase 1 [5]. Tabel 4 memperlihatkan reduksi *clearance* berbagai macam obat golongan NSAID oleh varian *2 dan *3 CYP2C9 [13].

Tabel 4. Reduksi *Clearance* NSAID oleh varian CYP2C9

Nama Obat	CYP2C9*2	CYP2C9*3
Celecoxib	Sedikit Reduksi	Reduksi ~20%
Diklofenak	Tidak berpengaruh	Terbatas
Ibuprofen	Tidak berpengaruh	Reduksi 50%

PEMBAHASAN

Pendarahan pada saluran gastrointestinal merupakan efek samping dari terapi NSAID yang paling banyak terjadi. Beberapa faktor resiko yang dapat meningkatkan keparahan pendarahan saluran gastrointestinal telah diketahui, seperti umur, riwayat tukak lambung, penggunaan NSAID dosis tinggi, penggunaan bersamaan dua NSAID atau lebih. Berdasarkan ilmu farmakogenetik dikatakan pula bahwa polimorfisme gen, terutama gen yang mengkode enzim CYP2C9, memiliki peran yang signifikan dalam meningkatkan resiko pendarahan. CYP2C9 adalah satu dari kluster gen CYP2C yang berada pada kromosom

10q24 [14]. CYP2C9 paling banyak diekspresikan di hati dengan tingkat ekspresi kedua tertinggi diantara isoform CYP lainnya. CYP2C9 berperan penting dalam proses metabolisme obat, terutama warfarin, dan obat-obat lain seperti losartan, tolbutamid, fenitoin dan NSAID [15].

Polimorfisme CYP2C9 yang paling berkaitan dengan resiko pendarahan saluran gastrointestinal adalah *2 dan *3. Polimorfisme varian *2 terjadi pada gen CYP2C9 dengan adanya alel T pada posisi ekson 3 sementara variasi *3 terjadi dengan adanya alel C pada posisi ekson 7. CYP2C9*2 ditandai dengan alel Cys¹⁴⁴/Ile³⁵⁹, sedangkan CYP2C9*3

ditandai dengan alel Cys¹⁴⁴/Leu³⁵⁹ [16]. Prevalensi polimorfisme CYP2C9*2 tertinggi ditemukan pada populasi orang putih, yaitu sekitar 8-19%, diikuti oleh populasi afrika-amerika, afrika, dan asia [8]. Varian *2 dan *3 diketahui sebagai *poor metabolizer* yang menurunkan metabolisme substrat CYP2C9 [10, 11]. Hal ini juga telah dibuktikan oleh beberapa studi yang menunjukkan bahwa varian *3 lebih menurunkan metabolisme dibandingkan dengan varian *2 dan *1 [6, 7]. Penurunan metabolisme akan meningkatkan konsentrasi obat dalam tubuh yang beresiko meningkatkan efek samping dari obat. Telah terbukti bahwa varian CYP2C9*3 lebih meningkatkan resiko pendarahan pada saluran gastrointestinal dibandingkan varian *2 dan *wild-type* [9, 17].

Varian *2 dan *3 memiliki aktivitas metabolisme NSAID yang lebih rendah dibandingkan dengan *wild-type*, menyebabkan *clearance* NSAID dari dalam tubuh berkurang. Namun, efek dari alel *2 lebih kecil dibandingkan dengan alel *3 [18]. Salah satu penelitian juga

menunjukkan bahwa pasien dengan varian *3/*3 mengalami penurunan *clearance* NSAID sebesar 7 sampai 10 kali dibandingkan dengan *wild-type* [8], akibatnya resiko dari efek samping NSAID meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi NSAID dalam plasma darah.

Terbukti pula oleh hasil penelitian yang dilakukan Figueras dkk (2016), yang menunjukkan bahwa konsumen NSAID dengan varian *3 memiliki lesi lebih banyak dibandingkan dengan pasien yang tidak membawa varian tersebut dan tidak mengkonsumsi NSAID [9]. Ini memperlihatkan bahwa polimorfisme pada CYP2C9 memiliki peranan yang penting pada resiko efek samping NSAID, terutama resiko pendarahan saluran gastrointestinal.

Pengaruh polimorfisme pada pendarahan di saluran gastrointestinal juga berkaitan dengan banyaknya konsumsi NSAID. Kejadian pendarahan terlihat pada pasien yang membawa alel *3 dan mengkonsumsi NSAID lebih dari dosis perawatan pada rata-rata pasien dewasa dengan resiko dua kali lipat lebih besar

dibandingkan dengan pasien yang mengkonsumsi dalam dosis yang sama namun tidak membawa alel *3. Data-data ini dapat digunakan sebagai landasan baru terapi NSAID dengan ditentukannya polimorfisme pada CYP2C9.

Penentuan polimorfisme tersebut dapat dilakukan dengan metode *genotyping*. Genotyping dapat dilakukan dengan metode PCR-RFLP. Pada setiap reaksi DNA di amplifikasi menggunakan primer spesifik untuk ekson 3 dan ekson 7

dari gen CYP2C9. Primer dan kondisi PCR dapat dilihat pada tabel 1. Sementara siklus PCR dapat dilihat pada tabel 2. Produk PCR kemudian ditambahkan enzim restriksi *Ava* II untuk CYP2C9*2 dan *Kpn* I untuk CYP2C9*3 pada suhu 37°C selama semalam. Selanjutnya fragmen DNA di elektroforesis pada gel agarose 2.5% yang dicelupkan dalam etidium bromida (EtBr). Pita yang terbentuk dianalisis diatas transluminator sinar UV [19].

Tabel 1. Sekuen primer dan lokasi target primer

		Lokasi	Ukuran	
Allele Target	Sekuen Primer	Target Primer	Amplicon (bp)	Komposisi
CYP2C9*2	cac tgg ctg aaa gag cta	Ekson 2	375	2.0 mM MgCl2, 1X PCR Buffer, 200 μM dNTP mix, 0.4 μM CYP2C9 primer, 1 U of Taq polymerase, 90 ng <i>genomic DNA</i> dan air destilasi dalam total volume 20 μl
	aca gag (F)			
	gtg ata tgg agt agg gtc	Intron 3		
	acc cac (R)			
CYP2C9*3	tgc acg agg tcc aga ggt	Ekson 7	105	
	ac (F)			
	aca aac tta cct tgg gaa	Intron 7		
	tga ga (R)			
F : Primer <i>forward</i> R : Primer <i>reverse</i>		Bp : Base Pair (pasangan basa)		

Tabel 2. Siklus PCR

Kondisi Siklus	CYP2C9*2	CYP2C9*3
Denaturasi awal	95°C, 10 menit	94°C, 5 menit

Siklus	45	30
Denaturasi	95°C, 5 detik	94°C, 45 detik
Penempelan (<i>Annealing</i>)	67°C, 10 detik	64°C, 45 detik
Pemanjangan (<i>Extension</i>)	72°C, 15 detik	72°C, 60 detik
Pemanjangan akhir	72°C, 5 menit	72°C, 5 menit

Pada allele CYP2C9*1 atau CYP2C9*3, produk berukuran 375 bp tersebut akan terpotong oleh enzim *Ava* II menjadi 2 fragmen 296 bp dan 79 bp secara berurutan. Untuk allele CYP2C9*2 tidak akan terpotong oleh *Ava* II, namun akan terjadi pemotongan pada produk berukuran 105 bp oleh enzim *Kpn* I.

Selain menggunakan PCR-RLFP, sekarang banyak digunakan metode taq-man. Metode ini lebih disukai karena hasilnya yang akurat, tepat, efisien dalam waktu dan biaya [20]. Pada setiap sampel DNA ditambahkan dua primer dan dua probe yang dibuat untuk berhibridisasi secara spesifik ke dua alel untuk setiap SNP (CYP2C9*2, Assay ID: C__25625805_10; CYP2C9*3, Assay ID: C__27104892_10). Setelah 40 siklus PCR, fluoresensi setiap alel diplotkan untuk menentukan polimorfisme [21].

Dengan dilakukannya penentuan polimorfisme dan varian pada CYP2C9 diharapkan terapi NSAID dapat memberikan efektivitas lebih dan efek samping yang ditimbulkan pada saluran pencernaan dapat berkurang. Penyesuaian dosis patut dipertimbangkan bila terdapat polimorfisme, terutama varian *3, karena pada varian *3, aktivitas metabolisme menurun sehingga dosis NSAID harus diturunkan agar resiko pendarahan dapat menurun.

KESIMPULAN

Penggunaan NSAID dapat menyebabkan pendarahan di saluran gastrointestinal dan risikonya meningkat dengan adanya polimorfisme pada enzim CYP2C9. Varian *3 memiliki resiko yang lebih besar dibandingkan varian *2 meskipun keduanya sama-sama menurunkan aktivitas metabolisme NSAID

oleh CYP2C9. Penentuan polimorfisme CYP2C9*3 dan penyesuaian dosis NSAID dapat dilakukan untuk menurunkan resiko terjadinya pendarahan pada saluran gastrointestinal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penyelesaian review jurnal ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan dan bantuan baik waktu, pikiran dan usaha. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Ibu Ibu Dr. Tina Rostinawati, M.Si, Apt., selaku dosen pembimbing penulis yang telah membimbing dan memberikan arahan jelas dalam pembuatan review artikel ini. Semoga dihasilkan review yang dapat membantu dalam memberikan informasi terkait polimorfisme CYP2C9 dengan resiko efek samping pendarahan saluran gastrointestinal akibat terapi NSAID.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini

DAFTAR PUSTAKA

1. Zhou Y, Boudreau DM, Freedman AN. Trends in the use of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the general US population. *Pharmacoepidemiology and drug safety*. 2014 Jan 1;23(1):43-50.
2. Adams RJ, Appleton SL, Gill TK, Taylor AW, Wilson DH, Hill CL. Cause for concern in the use of non-steroidal anti-inflammatory medications in the community-a population-based study. *BMC family practice*. 2011 Jul 7;12(1):1.
3. Arakawa T, Fujiwara Y, Sollano JD, Zhu Q, Kachintorn U, Rani AA, Hahm KB, Takahashi SI, Joh T, Kinoshita Y, Matsumoto T. A questionnaire-based survey on the prescription of non-steroidal anti-inflammatory drugs by physicians in East Asian countries in 2007. *Digestion*. 2009 Apr 3;79(3):177-85.
4. Ong CK, Lirk P, Tan CH, Seymour RA. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical medicine & research*. 2007 Mar 1;5(1):19-34.
5. Van Booven D, Marsh S, McLeod H, Carrillo MW, Sangkuhl K, Klein TE, Altman RB. Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenetics and genomics*. 2010 Apr;20(4):277.
6. Li J, Bluth MH. Pharmacogenomics of drug metabolizing enzymes and transporters: implications for cancer therapy. *Pharmacogenomics Personalized Med*. 2011;4:11-33.
7. Rosemary J, Adithan C. The pharmacogenetics of CYP2C9 and CYP2C19: ethnic variation and clinical significance. *Current clinical pharmacology*. 2007 Jan 1;2(1):93-109.
8. Ting S, Schug S. The pharmacogenomics of pain management: prospects for personalized medicine. *Journal of pain research*. 2016;9:49.
9. Figueiras A, Estany-Gestal A, Aguirre C, Ruiz B, Vidal X, Carvajal A, Salado I, Salgado-Barreira A, Rodella L, Moretti U, Ibáñez L. CYP2C9 variants as a risk modifier of NSAID-related gastrointestinal bleeding: a case-

- control study. *Pharmacogenetics and genomics*. 2016 Feb;26(2):66.
10. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2002 Apr 1;12(3):251-63.
11. Hatta FH, Lundblad M, Ramsjö M, Kang JH, Roh HK, Bertilsson L, Eliasson E, Aklillu E. Differences in CYP2C9 genotype and enzyme activity between Swedes and Koreans of relevance for personalized medicine: Role of ethnicity, genotype, smoking, age, and sex. *Omics: a journal of integrative biology*. 2015 Jun 1;19(6):346-53.
12. Yasuda SU, Zhang L, Huang SM. The role of ethnicity in variability in response to drugs: focus on clinical pharmacology studies. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2008 Sep 1;84(3):417-23.
13. Agúndez JA, García-Martín E, Martínez C. Genetically based impairment in CYP2C8-and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine?. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2009 Jun 1;5(6):607-20.
14. Gray IC, Nobile C, Muresu R, Ford S, Spurr NK. A 2.4-megabase physical map spanning the CYP2C gene cluster on chromosome 10q24. *Genomics*. 1995 Jul 20;28(2):328-32.
15. Bibi Z. Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutrition & metabolism*. 2008 Oct 18;5(1):1.
16. Hirota T, Eguchi S, Ieiri I. Impact of genetic polymorphisms in CYP2C9 and CYP2C19 on the pharmacokinetics of clinically used drugs. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2013 Dec 31;28(1):28-37.
17. Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, Scarcelli C, Colaizzo D, Grandone E, Niro V, Andriulli A, Leandro G, Di Mario F, Dallapiccola B. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology*. 2007 Aug 31;133(2):465-71.
18. Carbonell N, Verstuyft C, Massard J, Letierce A, Cellier C, Deforges L, Saliba F, Delchier JC, Becquemont L. CYP2C9* 3 Loss-of-Function Allele Is Associated With Acute Upper Gastrointestinal Bleeding Related to the Use of NSAIDs Other Than Aspirin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2010 Jun 1;87(6):693-8.
19. Seng KC, Gin GG, Sangkar JV, Phipps ME. Frequency of cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) alleles in three ethnic groups in Malaysia. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 2003;11(2):83-91.
20. Shen GQ, Abdullah KG, Wang QK. The TaqMan method for SNP genotyping. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*. 2009:293-306.
21. Lefferts JA, Schwab MC, Dandamudi UB, Lee HK, Lewis LD, Tsongalis GJ. Warfarin genotyping using three different platforms. *Am J Transl Res*. 2010 Jul 25;2(4):441-6.