



Општи подаци и протокол истраживања

Назив Пројекта :

ПОПУЛАЦИОНА ФАРМАКОКИНЕТИКА АНТИЕПИЛЕПТИКА У РАЗЛИЧИТИМ СТАРОСНИМ ГРУПАМА

Кључне речи :

Популациона фармакокинетика, НОНМЕМ, Карбамазепин, Валпроат, Ламотригин

Предмет, садржај и циљ истраживања

Сажетак

Данас су у стручној литератури описане фармакокинетичке студије ламотригина, карбамазепина и валпроата изведене у многим популацијама широм света. Међутим, како су разлике између популација присутне услед генетичких фактора, фактора средине као и навика у исхрани и квалитету живота појединих популација то добијени резултати немају конкретну употребу код нас. Резултати серумских концентрација ламотригина, карбамазепина и валпроата добијени током рутинског мониторинга ових лекова у нашој клиничкој пракси као и демографски и медикациони подаци прикупљени од пацијената са епилепсијом ће бити употребљени за развој фармакокинетичких модела ових лекова у нашој популацији (у општој и специфичним популацијама). Употребом једног од најчешће коришћеног софтвера у свету за ову анализу – НОНМЕМ подаци ће бити анализирани како би се одредиле средње популационе вредности клиренса и волумена дистрибуције наведених лекова, величине интер- и интраиндивидуалне варијабилности као и дефинисали фактори који описују клиренс ових лекова и одредила величина њиховог утицаја. Добијени популациони фармакокинетички модели три најчешће коришћена антиепилептичка лека у нашој клиничкој пракси могу бити употребљени као препорука у оптимизацији њиховог индивидуалног дозирања код пацијената са епилепсијом у нашој популацији.

Ово би била прва студија ламотригина у нашој популацији као и прве студије карбамазепина и валпроата изведене у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом у нашој земљи.

Циљ истраживања

1. Одређивање средњих, популационих вредности фармакокинетичких параметара (клиренса и волумена дистрибуције) антиепилептичких лекова који се најчешће користе у нашој клиничкој пракси – карбамазепина и валпроата у специфичним популацијама (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом.



2. Развијање популационог фармакокинетичког модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс карбамазепина у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) у српској популацији.
3. Развијање популационог фармакокинетичког модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс валпроата у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) у српској популацији.
4. Развијање популационог фармакокинетичког модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом у Србији.

Актуелност истраживања

Карбамазепин, валпроат и ламотригин су три најчешће коришћена антиепилептичка лека у нашој клиничкој пракси за лечење епилепсије. Сва три лека се могу користити за лечење парцијалних и генерализованих напада код деце и одраслих (1-4). Искуство из праксе говори да се карбамазепин најчешће користи за лечење парцијалних напада, валпроат за лечење генерализованих напада док се ламотригин више користи као додатни антиепилептик.

Иако откривени давно, средином прошлог века, карбамазепин и валпроат су и даље једни од главних антиепилептичких лекова (АЕЛ) не само у нашој земљи већ и широм света у лечењу епилепсије (1,5). Разлог томе јесте јако добра ефикасност и безбедност ових лекова. С друге стране ламотригин припада новијој генерацији АЕЛ и регистрован је почетком деведестих година прошлог века. Најпре је уведен у клиничку праксу као додатна терапија у лечењу епилепсије док се са његовом применом у облику монотерапије кренуло нешто касније у свету и код нас (4).

Наведени антиепилептици се карактеришу високом интер- и интраиндивидуалном варијабилношћу у пацијената, појавом активних метаболита, уским терапијским распоном серумске концентрације, високим степеном протеинског везивања као високим потенцијалом за фармакокинетичким интеракцијама (6-8). С обзиром да њихова примена траје јако дуго, понекада и читав живот, и да сама болест данас обухвата 1% светске популације намеће се реална потреба да се за ове лекове изведе популациона фармакокинетичка анализа.

Данас су у литератури описане популационе фармакокинетичке студије наведених лекова у многим популацијама широм света. Тако је популациона фармакокинетика карбамазепина и валпроата извршена у шпанској, португалској, кинеској, јапанској, руској и многим другим популацијама и то како у општим тако и у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) (1,7,9-12,16). Када је реч о ламотригину до сада је описан мали број студија док се у нашој земљи ова анализа до сада није спроводила (6,13).

Основне предности популационе фармакокинетичке анализе и употребе софтверског пакета НОНМЕМ (Нелинеарно Комбиновање Мешовитих Ефеката) јесте употреба "ретких" података који се могу добити из рутинске клиничке праксе која се рутински спроводи у нашем Клиничком центру (14,15). Друга и веома важна карактеристика ове анализе јесте репрезентативност саме популације. Иако постоје подаци и студије које су изведене у другим популацијама то добијени резултати не могу имати конкретну употребу код наших пацијената. Специфичности сваке популације (генетички фактори, фактори средине, животне навике и квалитет живота, расне и демографске разлике) намећу потребу за спровођењем ових студија у свакој појединачној популацији.



**Предмет и опис истраживања,
задачи, методологија, очекивани резултати:**

Предмет рада овог истраживања јесте одређивање средњих, популационих вредности фармакокинетичких параметара (клиренса и волумена дистрибуције) наведених антиепилептичких лекова – карбамазепина и валпроата у специфичним популацијама (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом. Такође, други део истраживања за предмет рад има развијање популационих фармакокинетичких модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс карбамазепина и валпроата у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом у Србији. Ове врсте студија до сада нису спровођене у нашој земљи.

Методологија

А) Испитаници

Ова студија спада у групу серија случајева ("case series") који ће бити анализирани ретроспективно и проспективно. У студију ће бити укључени сви пацијенти са епилепсијом (болнички и ванболнички) чија је дијагноза постављена на основу клиничких и лабораторијских параметара од стране лекара специјалисте-неуролога Клиничког центра у Крагујевцу, а за које њихов ординирајући лекар затражи терапијски мониторинг лека. Број потребних пацијената по старосној групи одређује статистичка значајност фармакокинетичког модела који ће се добити обрадом резултата у НОНМЕМ програму и не може бити мањи од 35. Само пацијенти код којих је успостављено равнотежно стање лека могу чинити студијску групу. Узорци крви односно серума ће бити узети током рутинског мониторинга антиепилептичких лекова који се спроводи у Клиничком центру.

Контролну групу ће чинити пацијенти са епилепсијом који неће бити укључени у испитивану студијску групу и који ће чинити тзв. валидациони сет. Овај сет чини интерни стандард саме популационе фармакокинетичке анализе и служи да покаже предиктивне перформансе модела који се требају добити током процеса истраживања.

Од сваког испитаника или њихових рођака ће бити узети и забележени следећи демографски и медикациони подаци:

- старост
- пол
- телесна тежина
- телесна висина
- дужина примања лека
- укупна дневна доза
- дужина примања наведене дозе
- пратећа терапија
- време од узимања последње дозе лека до узимања узорка крви

Б) Узимања узорака крви и издвајање серума

Од испитаника ће бити узето око 5мл крви венепункцијом, а затим ће центрифугирањем 5 минута на 3000 обртаја у минути бити издвојен серум. Серумски узорци ће



бити одмах анализирани или замрзнути на -20°C до испитивања. Поступак ће се спроводити у Служби за клиничку фармакологију Клиничког центра у Крагујевцу.

В) Одређивање концентрације карбамазепина и ламотригина

Мерење концентрације карбамазепина и ламотригина ће бити извршена помоћу успостављене ХПЛЦ методе у аналитичкој лабораторији Катедре за фармакологију и токсикологију Медицинског факултета у Крагујевцу. Инструментација је сачињена од: Chrompack пумпе, UV-VIS Chrompack детектора и Spectra physics интегратора. Поступак екстракције и сепарације карбамазепина је раније детаљно описан (17). Екстракција ламотригина се изводи течно-течном екстракцијом са етилацетатом где се након упаравања органског слоја екстраховани лек реконституише у мобилној фази сачињеној од воде, ацетонитрила и метанола у односу 55:25:20. Запремина узорка која се ињектује у систем је 20 микролитара, док се сепарација врши на XTerra™ аналитичкој колони (4,6x250 mm). Брзина протока мобилне фазе је 1 мл/мин а таласна дужина за детекцију 306 нанометара. На основу калибрационе криве конструисане на основу познатих концентрација ламотригина (у распону њене линеарности) одређује се концентрација ламотригина у серумским узорцима.

Г) Одређивање концентрације валпроата

Концентрације валпроата у серуму ће бити одређене техником флуоресцентне поларизационе имуноанализе (FPIA; TDx , Abbott лабораторија) у лабораторији Катедре за фармакологију и токсикологију Медицинског факултета у Крагујевцу.

Д) Фармакокинетичка и статистичка анализа

Прикупљени подаци од пацијента се најпре морају унети по жељеном редоследу у Нотепад програм. Након тога се приступа софтверској анализи података уз употребу НОНМЕМ програма. Овај програм као и поступак како се изводи популациона фармакокинетичка анализа је раније детаљно описан (14). Из НОНМЕМ библиотеке биће селектоване субрутинне које дефинишу модел са једним одељком који најбоље описује фармакокинетичку испитиваних лекова.

Основни статистички критеријум који овај програм користи јесте минимум објективне функције (МОФ). МОФ се дефинише као негативни двоструки логаритам вероватноће, где се током процеса изградње пуног модела уз појединачно испитивање сваког фактора тражи статистички значајна разлика МОФ-а од 3.841 ($\chi^2=3.841$, $P<0.05$, $df=1$). Потом следи процес обрнутог избацивања фактора или параметара који су градили пуни модел уз строжије статистичке захтеве - разлика МОФ-а између регресионих модела у овом процесу мора да је већа од 6.6 ($\chi^2=6.6$, $P<0.01$, $df=1$). На тај начин се долази до коначног модела који у математичком смислу описује једначину клиренса испитиваних лекова.

Процене фармакокинетичких параметара у испитиваној популацији ће се употребом наведеног софтвера најпре добити за тзв. базни модел (без испитивања утицаја појединих фактора). Затим следи процес униваријатне селекције где се појединачно испитује утицај сваког фактора (телесне масе, висине, старости пацијената, пола, укупне дневне дозе испитиваног лека као и утицај пратеће терапије) уз примену наведених статистичких критеријума. Потом се само они фактори који су задовољили статистичку значајност истовремено убацују градећи на тај начин пун модел. Процесом уназадне делације уз примену строжијих статистичких захтева долази се до коначног фармакокинетичког модела клиренса



испитиваних лекова. То значи да ће се у форми математичких једначина добити величина утицаја само оних фактора који стварно одређују и описују клиренс ових лекова у нашој популацији.

За процену предиктивних перформанси и валидности фармакокинетичких модела испитиваних лекова користи се валидациони сет за сваки лек појединачно. Може се рећи да је то интерни стандард саме анализе или контролне групе на којима ће се показати да ли су добијени модели добри, предвидљиви и примењиви за клиничку употребу.

Током извођења анализе добијају се процене средњих популационих вредности клиренса и волумена дистрибуције испитиваних лекова, величине интер- и интраиндивидуалне варијабилности у испитиваној популацији, као и величине предиктивних грешака (18), које служе за процену биаса и прецизности добијених модела.

Значај истраживања

1. Могућност широке примене неинвазивних метода за одређивање анаеробно прага, које неће применљиве само код спортиста, већ и код категорија становништва код којих су ове методе до сада биле контраиндиковане (попут хроничних болесника).
2. Могућност континуираног праћења промене анаеробног прага у току вежбања или лечења, као и праћење ефеката тренажног процеса, односно ефеката примењене теарапије.
3. Аутоматска хардверско-софтверска индивидуализација протокола методе

Очекивани резултати

На основу добијених резултата претпоставља се да ће се добити средње популационе вредности клиренса и волумена дистрибуције испитиваних лекова као и величина интра- и интериндивидуалне варијабилности у различитим старосним групама наше популације пацијената са епилепсијом. Добијени фармакокинетички модели требало би да прецизно опишу који фактори и у коликој мери утичу на клиренс ових лекова.

Значај истраживања

Добијањем одговарајућих фармакокинетичких једначина клиренса и њихове варијабилности три најзначајнија антиепилептичка лека ствара се могућност да се предвиди њихова доза у сваког пацијента са епилепсијом. Индивидуализација дозних режима је основа и циљ рационалне фармакотерапије посебно када је реч о лековима који се дуготрајно или хронично користе у терапији. Ово би биле прве фармакокинетичке студије карбамазепина и валпроата које би се спровеле у специфичним популацијама (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом у Србији.

Временски оквир

Студија ће трајати више година. У оквиру студије биће урађена докторска дисертације истаживача Јасмине Миловановић под називом: "Популациона фармакокинетика антиепилептика у различитим старосним групама".



Литература

1. Bondareva IB, Sokolov AV, Tischenkova IF, Jelliffe RW. Population pharmacokinetics modelling of carbamazepine by using the iterative Bayesian (IT2B) and the nonparametric EM (NPEM) algorithms: implication for dosage. *J Clin Pharm Ther* 2001; 26, 213-223.
2. Janković SM, Prostran M, Todorović Z. Farmakologija i toksikologija. I izdanje. Medicinski fakultet, Kragujevac, 2007.
3. Peterson GM, Naunton M. Valproate: a simple chemical with so much to offer. *J Clin Pharm Ther* 2005; 30: 417-421.
4. Farmakoterapijski vodič. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, Beograd, 2006.
5. Johannessen CU, Johannessen SI. Valproate: past, present and future. *CNS Drug Rev* 2003; 9(2): 199-216.
6. Patsalos PN, Froscher W, Pisani F, Van Rijn CM. The importance of drug interaction in epilepsy therapy. *Epilepsia* 2002; 43: 365-385.
7. Bondareva IB, Jelliffe RW, Sokolov AV, Tischenkova IF. Nonparametric population modeling of valproate pharmacokinetics in epileptic patients using routine serum monitoring data: implications for dosage. *J Clin Pharm Ther* 2004; 29: 105-120.
8. Gidal EB, Anderson DG, Rutecki RP, Shaw R, Lanning A. Lack of an effect of valproate concentration on lamotrigine pharmacokinetics in developmentally disabled patients with epilepsy. *Epilepsy Res* 2000; 42: 23-31.
9. Almeida AM, Falcao AC, Sales F, Leitao F, Santos J. Kinetic profile of carbamazepine in an adult Portuguese outpatient population. *J Clin Pharm Ther* 1998; 23: 315-321.
10. Blanco Serrano B, Garcia Sanchez MJ, Otero MJ, Santos Buelga D, Serrano J, Dominguez-Gil A. Valproate population pharmacokinetics in children. *J Clin Pharm Ther* 1999; 24: 73-80.
11. Blanco Serrano B, Otero MJ, Santos Buelga D, Garcia Sanchez MJ, Serrano J, Dominguez-Gil A. Population estimation of valproic acid clearance in adult patients using routine clinical pharmacokinetic data. *Biopharm Drug Dispos* 1999; 20: 233-240.
12. Jiao Z, Zhong M-K, Shi X-J, Hu M, Zhang J. Population pharmacokinetics of carbamazepine in Chinese epilepsy patients. *Ther Drug Monit* 2003; 25: 279-286.
13. Hussein Z, Posner J. Population pharmacokinetics of lamotrigine monotherapy in patients with epilepsy: retrospective analysis of routine monitoring data. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 43: 457-456.
14. Milovanović JR i Janković SM. Populaciona farmakokinetika. *Vojnosanit Pregl* 2005; 62(11): 847-50.
15. Jankovic SM and Milovanovic JR. Pharmacokinetic Modeling of Valproate from Clinical Data in Serbian Epileptic Patients. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29(10): 673-679.
16. Vučićević K, Miljković B, Veličković R, Pokrajac M, Mrhar A, Grabnar I. Population pharmacokinetic model of carbamazepine derived from routine therapeutic drug monitoring data. *Ther Drug Monit* 2007; 29(6): 781-8.
17. Milovanović JR i Janković SM. Naša iskustva u terapijskom monitoringu lekova. *Med časopis* 2006; 1-2: 19-23.
18. Sheiner LB, Beal SL. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm* 1981; 9(4): 503-512.

Руководилац пројекта:

проф. др Слободан Јанковић

Главни истраживач:

Јасмина Миловановић, истраживач саардник