UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

PRISCILA DE FREITAS LIMA

Avaliação farmacocinética da influência de drogas
antiepilépticas indutoras enzimáticas na disposição do
levetiracetam em pacientes com epilepsia

Orientador: Prof. Dr. Américo Ceiki Sakamoto

Ribeirão Preto

2010

PRISCILA DE FREITAS LIMA

Avaliação farmacocinética da influência de drogas
antiepilépticas indutoras enzimáticas na disposição do
levetiracetam em pacientes com epilepsia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Neurologia da Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de Mestre
em Neurociências

Orientador: Prof. Dr. Américo Ceiki Sakamoto

Ribeirão Preto

2010

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Freitas-Lima, Priscila

Avaliação farmacocinética da influência de drogas antiepilépticas indutoras enzimáticas na disposição do levetiracetam em pacientes com epilepsia. Ribeirão Preto, 2010. 150 p.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, 2010.

Área de concentração: Neurociências

1. Farmacocinética 2. Epilepsia 3. Levetiracetam

FOLHA DE APROVAÇÃO

Freitas-Lima, Priscila

Avaliação farmacocinética da influência de drogas antiepilépticas indutoras enzimáticas na disposição do levetiracetam em pacientes com epilepsia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Neurociências

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof (a) Dr (a) _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof (a) Dr (a) _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof (a) Dr (a) _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

Freitas-Lima, P. **Avaliação farmacocinética da influência de drogas antiepilépticas indutoras enzimáticas na disposição do levetiracetam em pacientes com epilepsia.** 2010 p 150. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP, Ribeirão Preto.

Introdução: pacientes com epilepsia em tratamento com politerapia podem manifestar sinais de efeitos adversos e/ou ineficácia terapêutica decorrentes das possíveis interações entre as diferentes drogas antiepilépticas (DAEs) que compõem o esquema terapêutico. Para contornar esta situação, as DAEs desenvolvidas atualmente apresentam perfil farmacocinético com menor potencial para interações farmacológicas. O levetiracetam é uma nova DAE aprovada para utilização como terapia adjuntiva no tratamento de crises focais em adultos. Seu metabolismo, por não depender de forma significativa do sistema oxidativo microsomal hepático, proporciona associações positivas com outras DAEs. Entretanto, observações clínicas de que a associação entre levetiracetam e DAEs indutoras enzimáticas (carbamazepina, fenitoína, fenobarbital e primidona) implicaria em menor disposição plasmática do levetiracetam têm sido confirmadas por alguns estudos e consideradas irrelevantes por outros. **Objetivo:** caracterizar e comparar o perfil farmacocinético do levetiracetam entre pacientes adultos com epilepsia em tratamento regular com DAEs indutoras enzimáticas e pacientes que estejam ou em tratamento com DAEs que não alteram a atividade das enzimas de metabolismo ou sem tratamento farmacológico. **Casuística e Métodos:** trinta pacientes foram selecionados, tendo sido alocados quinze em cada grupo, de acordo com o perfil das DAEs em uso regular (grupo indutor enzimático e grupo controle). A todos foi administrada dose única oral de levetiracetam 1000 mg. Ao longo de 24 horas foram coletadas sete amostras de sangue para determinação da concentração plasmática do levetiracetam e três amostras de urina para quantificação do levetiracetam eliminado inalterado e de seu principal metabólito inativo, o ucb L057. As amostras foram encaminhadas à Universidade de Pavia, Itália, e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **Resultados:** foram calculados os seguintes parâmetros farmacocinéticos: concentração plasmática máxima de levetiracetam e o tempo decorrido até seu alcance; meia-vida de eliminação; constante de velocidade de eliminação; área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo; *clearance* oral aparente e *clearance* renal do levetiracetam; volume aparente de distribuição e quantidades excretadas na urina como fármaco inalterado e como ucb L057. Comparações entre os grupos foram feitas a partir dos testes t de Student ou Mann-Whitney, conforme apropriado. O grupo em tratamento com DAEs indutoras enzimáticas apresentou *clearance* oral aparente do levetiracetam significativamente maior e meia-vida de eliminação significativamente menor do que o grupo controle ($p < 0,05$). As quantidades tanto de levetiracetam quanto de ucb L057 eliminadas na urina não divergiram significativamente entre os dois grupos ($p > 0,05$). **Discussão e Conclusões:** estudos têm evidenciado o potencial das DAEs indutoras enzimáticas tanto para estimular a atividade de enzimas hidrolíticas, como as responsáveis pela conversão do levetiracetam a ucb L057, quanto para inibir e/ou competir pelos sítios de ligação dos transportadores presentes nos túbulos renais responsáveis pela secreção ativa do ucb L057. Embora o presente estudo não tenha objetivado identificar e caracterizar as vias de metabolismo e eliminação do levetiracetam, os dados encontrados evidenciam a diferença na disposição plasmática deste fármaco quando associado às DAEs indutoras enzimáticas. Considerando que o levetiracetam é majoritariamente prescrito em

associações, as quais geralmente envolvem ao menos uma DAE indutora enzimática, o sucesso da terapêutica dos pacientes em que o levetiracetam for adicionado ao esquema medicamentoso prévio ou em que as DAEs indutoras enzimáticas tenham suas posologias modificadas pode ser prejudicado caso não haja o reconhecimento da possibilidade de ocorrência da alteração de perfil farmacocinético evidenciada.

Palavras-chave: farmacocinética, epilepsia, levetiracetam.

ABSTRACT

Freitas-Lima, P. **Pharmacokinetic evaluation on the influence of enzyme inducing antiepileptic drugs on the disposition of levetiracetam in patients with epilepsy.** 2010 p. 150. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP, Ribeirão Preto.

Introduction: patients with epilepsy treated with two or more antiepileptic drugs (AEDs) associated (politherapy) can show signs of adverse effects and/or therapeutic inefficacy due to possible interactions among the different combined AEDs. As an attempt to handle this problem, the AEDs developed nowadays are showing pharmacokinetic characteristics that decrease their potential to get involved in pharmacological interactions. Levetiracetam is a new AED approved as add-on therapy for the treatment of focal seizures in adults. Its metabolism does not rely significantly on the hepatic microsomal oxidative system, what has been considered a positive aspect in favor of its use in association with other AEDs. However, clinical observations of decreased levetiracetam plasma disposition when it is associated with enzyme inducing AEDs (carbamazepine, phenytoin, phenobarbital and/or primidone) has been confirmed by some studies and considered irrelevant by others. **Purpose:** to describe and compare the pharmacokinetic profile of levetiracetam among adult patients with epilepsy in treatment with enzyme-inducers AEDs and patients in treatment with AEDs without any impact on enzymes activity or with no pharmacological treatment. **Patients and Methods:** a single oral dose of levetiracetam 1000 mg was administered for the thirty selected patients (fifteen per group). Over 24 hours, seven blood samples were collected to have their levetiracetam concentrations quantified, and three urine samples were collected to have their levetiracetam and ucb L057 (the main levetiracetam inactive metabolite) amounts quantified. The samples were sent to University of Pavia, Italy, to be analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** the following pharmacokinetics parameters were calculated: the maximum plasma levetiracetam concentration and the time it occurred, elimination half-life, elimination rate constant, area under the curve, levetiracetam apparent oral clearance and renal clearance, volume of distribution and amount excreted in urine as unchanged drug and as ucb L057. Comparisons between the two groups were performed by Student t-test or Mann-Whitney test, as appropriate. The group of patients treated with enzyme-inducers AEDs showed the levetiracetam apparent oral clearance significantly higher and elimination half-life significantly lower than those from control group ($p < 0,05$). The amount excreted in urine as unchanged drug and as ucb L057 were not significantly different between the two groups ($p > 0,05$). **Discussion:** some studies highlight the capacity of enzyme inducing AEDs both to increase the activity of hydrolysis enzymes, such as those responsible for converting levetiracetam to ucb L057, and to inhibit and/or to compete for the binding sites on the transporters responsible for active tubular secretion of ucb L057. Although the present study did not aim to identify and describe the metabolic and elimination pathways of levetiracetam, the data found clearly show the difference in levetiracetam disposition when it is associated with enzyme inducing AEDs. Considering that levetiracetam is mainly prescribed in association with other drugs, and in most of these associations at least one drug is an enzyme inducer, neglecting this evident change in levetiracetam pharmacokinetic in cases such as those which levetiracetam is added to a previous regimen, or those which enzyme-inducers have their prescription changed, can negatively affect the success of the treatment and consequently the patient's quality of life.

Key-words: pharmacokinetics, epilepsy, levetiracetam.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1	Classificação sistemática das isoenzimas da superfamília CYP.....	26
Figura 1.2	Perfil farmacocinético de medicamento administrado por via oral.....	33
Figura 1.3	Fórmula estrutural do levetiracetam (ucb L059).	37
Figura 1.4	Concentrações plasmáticas de LEV após dose única administrada a voluntários sadios adultos.....	42
Figura 1.5	Possíveis vias de metabolismo do LEV em seres humanos saudáveis.....	44
Figura 3.1	Preparo da solução-mãe LEV e das sete soluções-padrão utilizadas para determinação das curvas de calibração.....	56
Figura 3.2	Preparo da solução-mãe e das oito soluções-padrão contendo LEV e ucb L057 utilizadas para determinação das curvas de calibração	59
Figura 4.1	Curva de calibração referente ao método de quantificação de LEV em plasma humano (1 a 40 mg/L).	66
Figura 4.2	Cromatogramas referentes à análise de LEV em plasma humano por HPLC.....	67
Figura 4.3	Curvas de calibração referentes ao método de quantificação de LEV e ucb L057 em urina.	68
Figura 4.4	Cromatogramas referentes às análises de LEV e ucb L057 em urina humana por HPLC.....	69
Figura 4.5	Curvas das concentrações plasmáticas de levetiracetam (em logaritmo) <i>versus</i> tempo obtidas após administração de dose única oral do fármaco aos pacientes do grupo indutor enzimático e do grupo controle	72

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Gráfico 1.1	Evolução temporal do desenvolvimento e consequente introdução na prática clínica das DAEs desde o PB até a atualidade.....	18
Gráfico 4.1	Distribuição das prescrições de DAEs concomitantes entre os pacientes do estudo	71
Tabela 1.1	Principais mecanismos de ação das DAEs comercialmente disponíveis.....	22
Tabela 1.2	DAEs indicadas para tratamento inicial de acordo com tipo de crise e tipo de epilepsia.	22
Tabela 1.3	Envolvimento das enzimas do sistema microsomal hepático no metabolismo das DAEs.....	28
Tabela 4.1	Comparações entre características dos pacientes selecionados para o estudo (n=30)	70
Tabela 4.2	Características das DAEs de uso concomitante.....	70
Tabela 4.3	Disposição cinética do LEV em plasma de pacientes do grupo indutor enzimático e do grupo controle após administração única oral de 1000 mg..	73
Tabela 4.4	Comparações entre características dos pacientes após exclusão de dois indivíduos para análises em urina	74
Tabela 4.5	Parâmetros farmacocinéticos do LEV e seu metabólito ucb L057 calculados a partir de informações da urina dos pacientes do grupo indutor enzimático e grupo controle	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BSA	<i>Body Surface Area</i>
BZD	Benzodiazepínicos
CBZ	Carbamazepina
CLB	Clobazam
CNZ	Clonazepam
CQ	Controle de Qualidade
CYP	Citocromo P450
DAE	Droga Antiepiléptica
DP	Desvio Padrão
DZP	Diazepam
EEG	Eletroencefalografia
ESM	Etossuximida
FBM	Felbamato
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FM	Fase Móvel
GBP	Gabapentina
HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ILAE	<i>International League Against Epilepsy</i>
LCR	Líquido cefalorraquiano
LEV	Levetiracetam
LQ	Limite de Quantificação
LTG	Lamotrigina
MRP2	<i>Multidrug Resistance Protein 2</i>
OXC	Oxcarbazepina
PB	Fenobarbital
PGB	Pregabalina
Pgp	Glicoproteína P
PHT	Fenitoína

PI	Padrão Interno
PRM	Primidona
SV2A	<i>Synaptic Vesicle protein 2A</i>
TGB	Tiagabina
TPM	Topiramato
TR	Tempo de Retenção
UGT	UDP-glicuronosiltransferase
UPC	Unidade de Pesquisa Clínica
UV	Ultravioleta
VGB	Vigabatrina
VPA	Ácido Valpróico
vs	<i>versus</i>
v/v	Volume/Volume
ZNS	Zonisamida

LISTA DE SÍMBOLOS

AUC	Área sob a curva de concentração plasmática <i>versus</i> tempo
Cl	<i>Clearance</i> total
Cl _{cr}	<i>Clearance</i> da creatinina
Cl/F	<i>Clearance</i> oral aparente
Cl _r	<i>Clearance</i> renal
C _{MAX}	Concentração plasmática máxima
F	Biodisponibilidade
fe	Fração do fármaco eliminado na urina em sua forma parental
fm	Fração do fármaco eliminado na urina em forma de metabólito ucb L057
h	Horas
Kel	Constante de velocidade de eliminação
R ²	Coefficiente de determinação
T	Tempo
t _{1/2β}	Meia-vida de eliminação
t _{MAX}	Tempo necessário para atingir C _{MAX}
Vd	Volume de distribuição
Vd/F	Volume de distribuição aparente
Xu _{L057}	Quantidade do metabólito ucb L057 eliminada na urina
Xu _{LEV}	Quantidade do fármaco levetiracetam eliminada na urina

LISTA DE EQUAÇÕES

$$(1) \quad K_{el} = \frac{0,693}{t_{1/2}\beta}$$

$$(2) \quad \frac{C_{(t)}}{K_{el}}$$

$$(3) \quad \frac{Cl}{F} = \frac{Dose}{AUC_{0-\infty}}$$

$$(4) \quad \frac{Vd}{F} = \frac{Dose}{AUC_{0-\infty} \cdot K_{el}}$$

$$(5) \quad fe = \frac{Xu_{LEV}}{Dose}$$

$$(6) \quad fm = \frac{Xu_{L057}}{Dose}$$

$$(7) \quad \text{Balanço total das massas} = fe + fm$$

$$(8) \quad Cl_r = \frac{Xu_{LEV}}{AUC_{0-\infty}}$$

$$(9) \quad t_{1/2}\beta = \frac{0,693 \cdot Vd}{Cl}$$

$$(10) \quad Cl = Cl_r + Cl_{f1} + Cl_{f2} + Cl_{f3} + \dots + Cl_{fn}$$

$$(11) \quad Cl_{cr} = \frac{(140 - \text{idade em anos}) \cdot (\text{peso em Kg})}{72 \cdot \text{creatinina sérica em mg/dL}}$$

$$(12) \quad BSA = (P^{0,425} \cdot A^{0,725}) \cdot 0,007184$$

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Epilepsia.....	13
1.1.1 Definição	13
1.1.2 Aspectos epidemiológicos	13
1.1.3 Classificação das crises epiléticas	14
1.1.4 Classificação dos tipos de epilepsia.....	16
1.1.5 Tratamento farmacológico da epilepsia.....	16
1.1.5.1 Interações medicamentosas	23
1.2 Princípios de farmacocinética	32
1.3 Levetiracetam	36
1.3.1 Aspectos gerais	36
1.3.2 Farmacodinâmica	38
1.3.2.1 Ensaios pré-clínicos	38
1.3.2.2 Ensaios clínicos de tolerabilidade e eficácia	40
1.3.3 Farmacocinética	41
2 OBJETIVOS.....	48
2.1 Objetivo Principal	49
2.2 Objetivos Gerais.....	49
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	50
3.1 Pacientes	51
3.1.1 Critérios de inclusão	51
3.1.2 Critérios de exclusão.....	52

3.2 Protocolo clínico	52
3.3 Protocolo analítico	54
3.3.1 Análise de levetiracetam em plasma	54
3.3.1.1 Reagentes e soluções-padrão	55
3.3.1.2 Instrumentação e análise cromatográfica	55
3.3.1.3 Procedimentos de extração	57
3.3.1.4 Quantificação de levetiracetam em plasma	57
3.3.2 Análise de levetiracetam e ucb L057 em urina	58
3.3.2.1 Reagentes e soluções-padrão	58
3.3.2.2 Instrumentação e análise cromatográfica	60
3.3.2.3 Procedimentos de extração	60
3.3.2.4 Quantificação de levetiracetam e ucb L057 em urina	61
3.4 Análises farmacocinéticas e estatísticas	61
4 RESULTADOS.....	65
4.1 Análises cromatográficas	66
4.1.1 Quantificação de levetiracetam em plasma	66
4.1.2 Quantificação de levetiracetam e ucb L057 em urina.....	68
4.2 Pacientes	70
4.3 Farmacocinética	72
4.3.1 Análises de levetiracetam em plasma	72
4.3.2 Análises de levetiracetam e ucb L057 em urina	73
5 DISCUSSÃO.....	75
6 CONCLUSÕES	96
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 EPILEPSIA

1.1.1 DEFINIÇÃO

O termo epilepsia abrange um conjunto de disfunções neurológicas cuja característica fundamental é a recorrência de crises epiléticas não provocadas por qualquer causa imediata. Operacionalmente, Engel e Pedley (2008) definem epilepsia a partir da ocorrência de duas ou mais crises em período de mais de 24 horas. Fisher et al. (2005), em uma abordagem conceitual, consideram o diagnóstico de epilepsia a partir da ocorrência de pelo menos uma crise epilética, não necessariamente “não provocada”, associada à predisposição persistente do cérebro a gerar tais eventos ictais (determinada por características de imagem, biologia molecular e história clínica) e aos consequentes impactos neurobiológicos, cognitivos, psicológicos e sociais relativos a tal condição.

A epilepsia, sendo a expressão de um grupo variado de disfunções resultantes de condições patológicas cerebrais subjacentes cujas causas podem ser amplamente variáveis, não deve ser compreendida como entidade nosológica única (FISHER et al., 2005). Desta forma, é possível encontrar, não raramente, a utilização do termo “epilepsia” no plural, o que, segundo orientações da Comissão de Terminologia da Liga Internacional contra Epilepsia (*International League Against Epilepsy – ILAE*), deve ser evitado (FISHER et al., 2005).

1.1.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A epilepsia é classificada como a disfunção neurológica mais frequente do planeta. Estima-se que haja atualmente mais de 50 milhões de pessoas com epilepsia no mundo, sendo que cerca de 90% destes pacientes vivem em países em desenvolvimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009), onde a epilepsia provavelmente apresenta maior gravidade do que

nos países desenvolvidos em virtude da presença e atuação de um maior número de fatores de risco que afetam negativamente seu prognóstico (GOMES, 2000).

De acordo com estudo realizado por Borges e colaboradores (2004) na região de São José do Rio Preto/SP, a prevalência da epilepsia na população urbana brasileira é de 18,6 casos por 1000 habitantes. Se considerados apenas os casos de epilepsia ativa (ocorrência de pelo menos uma crise nos últimos dois anos), esta taxa cai para 8,2 casos para cada 1000 habitantes. As altas taxas de prevalência na população mundial, que variam de 1,5 a 30 casos para cada 1000 habitantes (HAUSER; HESDORFFER, 1990), fazem com que a epilepsia seja um problema de saúde de grandes dimensões cujas preocupações não se concentram somente nos prejuízos diretos da doença em si, mas também em todas as consequências psico-sociais advindas do quadro.

1.1.3 CLASSIFICAÇÃO DAS CRISES EPILÉPTICAS

As crises epiléticas são as principais manifestações da epilepsia. São definidas como situações de interrupção transitória da função cerebral normal que ocorrem de forma recorrente e imprevisível, seja por atividade neuronal excessiva e/ou hipsíncrona (excitação ou inibição), geralmente autolimitadas por início e fim definidos (FISHER et al., 2005).

As crises epiléticas podem se expressar clinicamente de formas muito variáveis, incluindo ou não alterações do nível de consciência, manifestações motoras, autonômicas ou psíquicas (ILAE COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY, 1981). Ante a esta pluralidade de manifestações, a necessidade de uniformização e padronização da nomenclatura para diagnóstico e comunicação mostrou-se essencial ao longo dos anos.

Objetivando atualizar e flexibilizar a então estabelecida classificação das crises epiléticas proposta pela ILAE no ano de 1981 (ILAE COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY, 1981), Berg e colaboradores (2010) sugerem

que a organização dos eventos ictais seja pautada, primeiramente, em seu início e perfil de engajamento da circuitaria neuronal. Desta forma, as crises epiléticas generalizadas podem ser compreendidas como eventos cujo início cursa com rápido envolvimento das redes neuronais distribuídas bilateralmente, incluindo-se aqui tanto estruturas corticais quanto subcorticais. As crises epiléticas focais, por sua vez, originam-se em circuitos neuronais limitados a um dos hemisférios cerebrais, independentemente se tais redes mostram-se mais definidas em termos localizatórios ou mais amplamente distribuídas, se são estruturas corticais ou subcorticais. Algumas crises, entretanto, ainda permanecem como inclassificáveis nesta nova proposta oficial da ILAE.

Os autores sugerem que as distinções previamente utilizadas para caracterizar o comprometimento ou não do estado de consciência do paciente durante as crises focais (“crises parciais complexas” e “crises parciais simples”, respectivamente) dêem lugar a descrições que preconizem características importantes de acordo com o propósito clínico. Como exemplo, temos que a avaliação do comprometimento cognitivo pode ser capital para determinados propósitos, enquanto que caracterizar a progressão do evento ictal pode ser o aspecto relevante para outros. Logo, classificações mais específicas para os quadros de crises focais podem variar de acordo com o julgamento do avaliador.

Estabelecido na proposta oficial do ano de 1981, o termo “generalização secundária” remete, simplificada, ao mecanismo de evolução de uma crise de início focal a um quando clínico e eletroencefalográfico de crise generalizada. Seu uso tem sido desencorajado pelos autores da mais recente proposta, emergindo, como alternativa, o termo “evolução para crise convulsiva bilateral”.

1.1.4 CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS DE EPILEPSIA

Assim como identificar e discernir os diferentes tipos de crises epiléticas, classificar os tipos de epilepsia também é de suma importância para o diagnóstico correto do quadro e consequente conduta clínica apropriada.

No mesmo relatório acima comentado, Berg e colaboradores (2010) sugerem medidas para simplificar, atualizar e flexibilizar a proposta até então vigente para classificação de síndromes epiléticas (ILAE COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY, 1989). Os termos “idiopática”, “sintomática” e “criptogênica” tiveram seus conceitos re-avaliados, tendo surgido então os seguintes termos substitutos, respectivamente, para classificação dos tipos de epilepsia de acordo com a causa subjacente (“etiologia”): Genética – a epilepsia resulta diretamente de alteração genética conhecida ou presumida que tem como as crises o principal sintoma; Estrutural/metabólica – a manifestação da epilepsia encontra-se associada a uma doença ou condição estrutural ou metabólica distinta; Causa desconhecida – epilepsia cuja natureza da causa subjacente não pôde ser ainda elucidada.

1.1.5 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA EPILEPSIA

Embora as primeiras descrições da epilepsia datem de há mais de 2.500 anos, as mais importantes iniciativas no campo de seu tratamento iniciaram-se somente na segunda metade do século XIX, quando os primeiros agentes químicos foram empregados para controle das crises epiléticas. A utilização de preparações a base de brometo como forma de tratamento para epilepsia foi iniciada pelo médico inglês Charles Locock que, apesar das incertezas sobre sua aplicação e pressupostos equivocados a respeito de sua ação, estabeleceu este como sendo o primeiro tratamento considerado efetivo para o controle das crises epiléticas. Passaram-se 55 anos desde a época de maior uso do brometo até a introdução do fenobarbital (PB), em

1912, por Hauptmann (SCOTT, 1993). A descoberta da técnica de eletroencefalografia (EEG) em 1929 e o desenvolvimento de modelos experimentais para epilepsia contribuíram significativamente para a melhor compreensão dos mecanismos epileptogênicos, influenciando positivamente o avanço científico do tratamento farmacológico da epilepsia. A partir da década de 1980 iniciou-se uma nova fase na produção de drogas antiepilépticas (DAEs) caracterizada principalmente pelo desenvolvimento racional de fármacos, o que tem ampliado as possibilidades terapêuticas de forma mais segura e eficaz (BRODIE, 2003; PERUCCA, 2003).

O gráfico 1.1 apresenta a evolução temporal do desenvolvimento e consequente introdução das DAEs na prática clínica desde seus primórdios até a atualidade. Interessantemente, foram necessários 70 anos para a introdução das primeiras nove DAEs e apenas 11 anos para a introdução das oito DAEs subsequentes.

Embora não aplicável a todo e qualquer caso, a prescrição de DAEs é a conduta mais comum para o tratamento da epilepsia (PERUCCA, 2004). Ao que cabe ao clínico, a decisão entre iniciar ou não o tratamento é pautada em aspectos tais como diagnóstico inequívoco (estabelecido a partir de recursos de imagem, história clínica e EEG) e ponderação dos potenciais impactos do tratamento e da epilepsia sobre a vida do paciente, considerando risco de recorrência e gravidade das crises, eventuais comorbidades associadas, aspectos psicossociais e possíveis efeitos adversos, os quais podem influir diretamente na adesão do paciente ao tratamento proposto (CABOCLO, 2004; CAMPOS; ALONSO, 1998; PERUCCA, 2004).

DAEs: drogas antiepiléticas; PB: fenobarbital; PHT: fenitoína; PRM: primidona; ESM: etossuximida; CBZ: carbamazepina; DZP: diazepam; VPA: ácido valpróico; CNZ: clonazepam; CLB: clobazam; VGB: vigabatrina; LTG: lamotrigina; GBP: gabapentina; TPM: topiramato; ZNS: zonisamida; TGB: tiagabina; OXC: oxcarbazepina; LEV: levetiracetam. Adaptado de Patsalos (2004).

Gráfico 1.1. Evolução temporal do desenvolvimento e consequente introdução na prática clínica das DAEs desde o PB até a atualidade.

Tendo havido concordância entre a decisão clínica e a do paciente e/ou responsáveis pelo início do tratamento farmacológico, o controle das crises é o objetivo mais importante, norteando as estratégias terapêuticas (PERUCCA, 2004).

Aproximadamente dois terços das pessoas com epilepsia recém-diagnosticada obtêm controle de suas crises com a utilização de uma ou duas DAEs (monoterapias sequenciais), desde que estas tenham sido adequadamente escolhidas pelo clínico e que sejam corretamente utilizadas pelo paciente (SANDER, 2003). A prescrição de monoterapia deve ser a estratégia inicial de tratamento, sendo justificativas para abordagem inicial com politerapia apenas os casos de pacientes que apresentem diversos tipos de crises e casos de síndromes severas e notoriamente refratárias (PERUCCA, 2004). A prescrição de DAEs em monoterapia tem se

mostrado mais vantajosa do que a politerapia especialmente porque nas monoterapias as interações farmacológicas são evitadas, a chance de adesão do paciente ao tratamento é aumentada, e o risco de um maior número de crises decorrentes de sobrecarga no número e/ou doses das medicações (*overtreatment*) é reduzido (PERUCCA, 2002; REYNOLDS; SHORVON, 1981). Entretanto, aproximadamente um terço dos pacientes continua a apresentar crises recorrentes apesar do tratamento apropriado e do acompanhamento cuidadoso (KWAN; BRODIE, 2000; REGESTA; TANGANELLI, 1999; SANDER, 2003; STABLES et al., 2003). Este quadro de irresponsividade ao tratamento farmacológico contextualiza o que se conhece, em termos gerais, por epilepsia fármaco-resistente, ou epilepsia refratária.

De acordo com relatório recentemente proposto pela ILAE (KWAN et al., 2009), a epilepsia fármaco-resistente é definida quando há falha nas tentativas adequadas de dois esquemas terapêuticos bem tolerados, corretamente escolhidos e utilizados (quer sejam em monoterapias ou combinações) para alcançar o controle pleno das crises epilêpticas. A probabilidade de intratabilidade clínica depende amplamente do tipo de crise e epilepsia (crises focais com comprometimento da consciência são as de pior prognóstico para pacientes adultos, por exemplo), da idade precoce de início das crises (antes de um ano de idade), da presença de lesões estruturais no cérebro e da alta frequência de crises previamente ao início do tratamento (FRENCH, 2007; REGESTA; TANGANELLI, 1999). Vale ressaltar que a responsividade da epilepsia ao tratamento farmacológico é um processo dinâmico, o que implica que sua determinação é válida apenas para a situação em que for estabelecida, e que está sujeita a flutuações em função do decurso da doença (BERG et al., 2006, 2009; CALLAGHAN et al., 2007; LUCIANO; SHORVON, 2007).

Pacientes cuja epilepsia é diagnosticada como fármaco-resistente geralmente fazem uso de politerapia com duas, três ou mais DAEs, haja vista que o benefício alcançado ao se

adicionar racionalmente uma segunda ou terceira medicação ao esquema destes pacientes é bem documentado tanto pela experiência clínica quanto por resultados de estudos controlados por placebo (CRAMER et al., 1999). Uma politerapia racional consiste na associação de DAEs considerando-se a relevância de aspectos tais como características farmacodinâmicas e farmacocinéticas das substâncias em questão, perfis de tolerabilidade, segurança, eficácia e também custos envolvidos, uma vez que estimativas apontam que, por razões sociais e/ou econômicas, a maioria da população com epilepsia ativa está fora da cobertura medicamentosa adequada, especialmente em países em desenvolvimento (GOMES, 2000; SCHMIDT, 2009). Em geral, espera-se que entre 20 e 50% dos pacientes com epilepsia fármaco-resistente beneficiem-se, em alguma extensão, da adição de uma segunda ou terceira medicação, embora menos de 20% realmente alcance controle pleno das crises com esta estratégia (PERUCCA 2001, 2004).

A chegada de novas DAEs ao mercado, apesar de não ter solucionado o problema da epilepsia fármaco-resistente, tornou o tratamento mais tolerável para um considerável número de pacientes (REGESTA; TANGANELLI, 1999; WALKER; SANDER, 1996). Esta maior tolerabilidade ao tratamento, ainda que haja ocorrência de algumas crises, pode ser considerado um ganho substancial na terapêutica individual, dado que a qualidade de vida de pessoas com epilepsia correlaciona-se inversamente com a ocorrência de efeitos adversos, entre outros fatores (ALEXANDRE, 2009; CANEVINI et al., 2010). Com isto, o investimento contínuo no desenvolvimento de novos fármacos com características farmacocinéticas que os tornem mais seguros e efetivos mostra-se relevante para o prognóstico de pacientes com epilepsia fármaco-resistente. Como geralmente necessitam de tratamento por vários anos, uma posologia que facilite a adesão ao esquema terapêutico faz-se essencial. De acordo com Luciano e Shorvon (2007), até 15% dos pacientes com epilepsia

refratária podem obter controle das crises com a utilização sequencial e sistemática destes novos fármacos.

O controle pleno das crises é evidentemente mais difícil no contexto destes pacientes com epilepsia fármaco-resistente. O objetivo do tratamento medicamentoso nestas circunstâncias passa então a ser a garantia da melhor qualidade de vida que seja compatível com a natureza da epilepsia através do equilíbrio entre eficácia e tolerabilidade das DAEs, ou seja, controle máximo possível das crises com a mínima ocorrência de efeitos adversos (ARAIN, 2007). Tais efeitos adversos resultam especialmente das interações farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas que ocorrem não somente entre DAEs, mas também entre DAEs e outras medicações prescritas para controle de eventuais comorbidades (PATSALOS et al., 2002). Embora parte dos pacientes com crises fármaco-resistentes possa ser encaminhada para avaliação cirúrgica da epilepsia, apenas uma pequena proporção deles (aproximadamente 5%) será de fato submetida ao procedimento, sendo a melhora do prognóstico dependente especialmente da etiologia e localização da provável zona epileptogênica (MATTSON, 1998).

As DAEs comercialmente disponíveis podem ser classificadas de acordo com seus mecanismos de ação. Fármacos mais recentes tendem a apresentar mecanismos de ação mais específicos quando comparados às DAEs convencionais (BZD, CBZ, ESM, PB, PHT e VPA). A tabela 1.1 apresenta, de maneira simplificada, os principais mecanismos de ação descritos na literatura e a importância de cada qual considerando-se o espectro de ação das medicações.

Em concordância, é possível estabelecer quais são as DAEs mais indicadas para monoterapia em adultos de acordo com o tipo de crise e/ou epilepsia. A tabela 1.2 apresenta a classificação das DAEs de primeira escolha para tratamento das respectivas crises e tipos de epilepsia apresentadas. A prioridade de escolha decresce no sentido das linhas superiores para as inferiores.

Tabela 1.1. Principais mecanismos de ação das DAEs comercialmente disponíveis.

DAEs	Bloqueio canal de sódio voltagem dependente	Aumento dos níveis de GABA	Potenciação seletiva de respostas mediadas por GABA _A	Facilitação direta do influxo de íons cloreto	Bloqueio dos canais de cálcio (tipo do canal)	Outros mecanismos
BZD	-	-	++	-	-	-
CBZ	++	?	-	-	+ (L)	+
ESM	-	-	-	-	++ (T)	-
PB	-	+	+	++	?	+
PHT	++	-	-	-	?	+
VPA	?	+	?	-	+ (T)	++
FBM	++	+	+	-	+ (L)	+
GBP	?	?	-	-	++ (N, P/Q)	?
LTG	++	+	-	-	++ (N, P/Q, R, T)	+
LEV	-	?	+	-	+ (N)	++
OXC	++	?	-	-	+ (N, P)	+
PGB	-	-	-	-	++ (N, P/Q)	-
TGB	-	++	-	-	-	-
TPM	++	+	+	-	+ (L)	+
VGB	-	++	-	-	-	-
ZNS	++	?	-	-	++(N,P,T)	+

++: ação primária; +: ação secundária; -: ação não descrita; ?: evidências controversas. DAEs: drogas antiepiléticas; GABA: ácido gama amino butírico; BZD: benzodiazepínicos; CBZ: carbamazepina; ESM: etossuximida; PB: fenobarbital; PHT: fenitoína; VPA: ácido valpróico; FBM: felbamato; GBP: gabapentina; LTG: lamotrigina; LEV: levetiracetam; OXC: oxcarbazepina; PGB: pregabalina; TGB: tiagabina; TPM: topiramato; VGB: vigabatrina; ZNS: zonisamida. Adaptado de Perucca (2005).

Tabela 1.2. DAEs indicadas para tratamento inicial de acordo com tipo de crise e tipo de epilepsia.

Tipos de crises				Tipos de epilepsia	
CF*	Ausência	Mioclônica	CTCG desde o início	Predomínio de crises focais	Predomínio de crises generalizadas
CBZ	VPA	VPA	VPA	CBZ	VPA
PHT	ESM	BZD	CBZ	PHT	ESM
VPA	LTG	PRM	PHT	PB	BZD
PB	BZD	LTG	PB	PRM	CBZ
VGB	TPM	TPM	OXC	VPA	PHT

CF*: crise focal com ou sem evolução para crise convulsiva bilateral; CTCG: crise tônico-clônica generalizada. CBZ: carbamazepina; PHT: fenitoína; VPA: ácido valpróico; PB: fenobarbital; VGB: vigabatrina; ESM: etossuximida; LTG: lamotrigina; BZD: benzodiazepínicos; TPM: topiramato; PRM: primidona; OXC: oxcarbazepina. Informações adaptadas de Guerreiro e Palmmini (2000) e da Liga Brasileira de Epilepsia (2009).

1.1.5.1 INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Interações medicamentosas podem ser compreendidas como processos que acontecem quando o efeito farmacológico ou o potencial para ocorrência de efeitos adversos de determinado fármaco é alterado pela administração concomitante de outro fármaco (SPINA; SCORDO, 2004). O grande número de DAEs disponíveis comercialmente (gráfico 1.1) associado à necessidade do uso de politerapias especialmente pelos pacientes com epilepsia fármaco-resistente aumenta de forma significativa o potencial para ocorrência de interações farmacológicas entre DAEs (PATSALOS et al., 2002).

As interações podem ser classificadas como farmacodinâmicas ou farmacocinéticas (PATSALOS et al., 2002). As interações farmacodinâmicas ocorrem quando duas ou mais medicações agem no mesmo sítio receptor, ou em sítios inter-relacionados, resultando em efeito farmacológico aditivo, sinérgico ou antagônico; logo, este tipo de interação provoca alterações nos mecanismos de ação das substâncias. Quando a interação entre fármacos exerce impacto sobre a disposição (absorção, distribuição, metabolismo e/ou eliminação) de um ou mais compostos envolvidos, alterando consequentemente a sua concentração no sítio de ação, diz-se que a interação é farmacocinética. Interações podem acontecer de forma complexa, envolvendo tanto aspectos farmacocinéticos quanto farmacodinâmicos.

As interações farmacocinéticas são mais amplamente estudadas possivelmente pelo fato de serem mais facilmente mensuradas do que alterações na resposta aos fármacos resultantes de interações farmacodinâmicas, as quais não se refletem em mudanças na concentração plasmática da droga afetada. As interações farmacodinâmicas estão bem documentadas em modelos animais, sendo porém poucas as informações resultantes de investigações clínicas (SPINA; SCORDO, 2004).

Algumas características farmacocinéticas das DAEs fazem desta uma classe de medicamentos particularmente susceptível a interações. Desta forma, e por ser o escopo do

presente estudo, em um primeiro momento abordaremos com maior profundidade as características e importância clínica das interações farmacocinéticas. Considerações sobre parâmetros específicos desta área encontram-se analisadas em tópico seguinte (“1.2 Princípios de Farmacocinética”).

Dentre os mecanismos fisiológicos que podem ser afetados em decorrência de interações farmacocinéticas alguns se mostram clinicamente mais relevantes e frequentes do que outros. Interações que provocam impacto sobre a etapa de absorção dos fármacos, como no caso da menor absorção de GBP ou PHT resultante de interações com antiácidos a base de hidróxido de magnésio ou alumínio (PERUCCA, 1996), em geral são menos prevalentes e não inspiram maiores preocupações clínicas.

De ocorrência mais usual, as interações que envolvem a etapa de distribuição dos fármacos são consideradas potencialmente importantes em alguns casos. Conforme acessam a circulação sistêmica, as moléculas do medicamento geralmente se ligam, em diferentes extensões, às proteínas plasmáticas circulantes, em especial à albumina, como uma forma de manterem-se estocadas para irem sendo liberadas paralelamente à eliminação do fármaco (PATSALOS et al., 2002, 2008). Fármacos que circulam altamente ligados (mais de 90%) à albumina são mais propensos a competirem entre si pela ligação à proteína, provocando deslocamento de um dos competidores. Este deslocamento reflete-se em aumento da fração livre circulante, farmacologicamente ativa e disponível para outros tipos de interações (metabolismo e eliminação). Felizmente o organismo, em situações em que não há disfunções hepáticas e/ou renais, contorna esta situação aumentando os mecanismos de eliminação da fração livre do fármaco (MACKICHAN, 1989). Dentre as DAEs, a PHT e o VPA são as mais preocupantes neste quesito por circularem altamente ligadas à albumina (mais de 90%).

Entretanto, as interações farmacocinéticas mais importantes e prevalentes no contexto das DAEs são as que envolvem seus processos de eliminação irreversível, em especial as biotransformações efetuadas através de reações enzimáticas (PATSALOS et al., 2002).

Processos metabólicos, ou de biotransformação, são necessários para converter os compostos parentais a metabólitos de maior polaridade (mais hidrossolúveis), os quais são eliminados eficientemente pelo trato urinário. Salvo raras exceções, todos os xenobióticos estão sujeitos a um ou vários processos metabólicos realizados pelos sistemas enzimáticos envolvidos nas fases 1 e 2 do metabolismo (GONZALEZ; TUKEY, 2006). Em termos gerais, as reações químicas referentes ao processo de biotransformação de fármacos ocorrem em série na maior parte das vezes, sendo a fase 1 caracterizada pela funcionalização do composto e a fase 2 pela sua conjugação.

As reações de fase 1 do metabolismo são em geral mediadas por diferentes enzimas que hidrolisam, reduzem ou oxidam as moléculas do fármaco de modo a introduzir ou expor grupos funcionais (em geral -OH, -COOH, -SH, -O ou -NH₂) que modificam o fármaco estruturalmente. Como resultado, as moléculas tornam-se inativas farmacologicamente, ou pelo menos têm sua função biológica significativamente alterada. Na fase 2, por sua vez, outras enzimas são responsáveis por formar conjugados inativos, geralmente a partir do produto das reações de fase 1, com maiores peso molecular e hidrossolubilidade (GONZALEZ; TUKEY, 2006). As enzimas mais importantes da fase 2 são a glutathione-S-transferase (GST), UDP-glicuronosiltransferase (UGT), sulfotransferase (SULT), N-acetiltransferase (NAT) e metiltransferase (MT), e as principais moléculas hidrofílicas conjugadas nesse processo são sulfato, ácido glicurônico, glutathione e grupo acetila (GONZALEZ; TUKEY, 2006). Maiores detalhes serão trabalhados acerca das enzimas da fase 1, especialmente as de função oxidativa, haja vista seus expressivos envolvimento no

metabolismo de várias DAEs e consequentes propensões a envolvimento em interações farmacocinéticas.

O sistema do citocromo P450 (CYP), ou sistema microsomal hepático, é uma superfamília de isoenzimas responsáveis pelas principais reações de oxidação da fase 1 que transformam não apenas compostos xenobióticos, mas também substâncias endógenas como colesterol e hormônios esteróides (GONZALEZ; TUKEY, 2006). Estas oxidases de função mista são hemoproteínas codificadas por múltiplos genes (pelo menos 57 genes foram identificados como potencialmente funcionais). Localizam-se na superfície citosólica da membrana do retículo endoplasmático liso de vários órgãos (cérebro, rins, pulmões), mas especialmente de órgãos do trato gastrointestinal, como fígado e intestino (GUENGERICH, 1997), onde contribuem para o metabolismo de primeira passagem (pré-sistêmico) de muitos fármacos administrados oralmente.

As principais isoenzimas reconhecidamente envolvidas no metabolismo de xenobióticos em seres humanos são as CYPs 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 e 3A4 (GONZALEZ; TUKEY, 2006; SPINA; SCORDO, 2004). Dentre estas isoformas destaca-se a oxidase CYP3A4, que exerce importante papel no metabolismo de cerca de 50% dos fármacos usados na prática clínica e que constitui 30% do total do sistema microsomal hepático (GONZALEZ; TUKEY, 2006). A figura 1.1 elucida a forma como as isoenzimas são sistematicamente classificadas a partir das semelhanças na sequência de seus aminoácidos (NELSON et al., 1996).

CYP: citocromo P450.

Figura 1.1. Classificação sistemática das isoenzimas da superfamília CYP.

As reações mediadas pelas enzimas do CYP são pouco específicas, ou seja, uma única isoenzima pode metabolizar diversos compostos estruturalmente diferentes. Desta forma, é praticamente inevitável que haja competição pelo sítio de ligação da enzima entre dois ou mais fármacos administrados simultaneamente se eles forem substratos da mesma oxidase.

A atividade das isoenzimas, apesar de geneticamente determinada, pode ser altamente influenciada por fatores extrínsecos ao indivíduo tais como exposições ambientais, alimentação, e, principalmente, administração de outros fármacos. Um importante fator intrínseco que também pode alterar significativamente a atividade destas enzimas é a expressão de alelos gênicos com mutações, o que pode gerar enzimas mais potentes, menos potentes, sem potência, ou mesmo não gerar a enzima (SPINA; SCORDO, 2004). A atividade da CYP3A4, por exemplo, pode variar mais de 20 vezes em termos de intensidade quando comparados diferentes indivíduos; presume-se que isto se deva, ao menos em parte, a interações entre componentes da dieta e fatores étnicos (relacionados à genética) (GONZALEZ; TUKEY, 2006).

Grande parte das DAEs, em especial as de primeira geração, é metabolizada por diferentes enzimas do sistema do citocromo P450. Além de servirem como substratos para estas oxidases, muitas DAEs também exercem influência sobre suas atividades, aumentando-as (indução) ou diminuindo-as (inibição) de maneira não mutuamente exclusiva (PATSALOS, PERUCCA, 2003). Desta forma, as interações envolvendo DAEs e CYP são de há muito conhecidas, e embora sejam profundamente investigadas, ainda são motivos de preocupação clínica em virtude dos transtornos que podem provocar em relação à eficiência do tratamento farmacológico da epilepsia.

A tabela 1.3 mostra as principais isoenzimas envolvidas no metabolismo de DAEs e quais efeitos estas medicações exercem sobre suas atividades catalíticas.

Tabela 1.3. Envolvimento das enzimas do sistema microsossomal hepático no metabolismo das DAEs.

Isoenzimas do citocromo P450						
DAEs 1ª geração	Principais vias de metabolismo	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2E1	CYP3A4
CBZ	Oxidação (CYP)	Substrato, Indutor	Indutor	Indutor?, Inibidor?	NA	Substrato, Indutor
CLB	Oxidação (CYP)	-	-	-	-	-
CNZ	Oxidação (CYP)	-	-	-	-	Substrato
DZP	Oxidação (CYP)	-	-	Substrato	-	Substrato
ESM	Oxidação (CYP)	-	Substrato?	-	Substrato	Substrato
PB	Oxidação (CYP)	Indutor	Substrato?, Indutor	Substrato?, Indutor	Substrato	Indutor
PHT	Oxidação (CYP)	Indutor	Substrato, Indutor	Substrato, Indutor	NA	Indutor
PRM	Oxidação (CYP)	Indutor	Substrato?, Indutor	Substrato?, Indutor	Substrato	Indutor
VPA	Oxidação (CYP), glicuronidação (UGT), β -oxidação	NA	Substrato, Inibidor	Substrato	NA	Substrato?, Inibidor?
DAEs 2ª geração						
FBM	Oxidação (CYP)	-	-	Inibidor	Substrato	Substrato, Indutor
GBP	Não metabolizado	-	-	-	-	-
LTG	Glicuronidação (UGT)	-	-	-	-	-
LEV	Hidrólise	NA	NA	NA	NA	NA
OXC (MHD)	Glicuronidação (UGT), Oxidação (CYP)	-	-	Inibidor	-	Indutor
TGB	Oxidação (CYP)	-	-	-	-	Substrato
TPM	Glicuronidação (UGT), Oxidação (CYP)	NA	NA	Inibidor	NA	NA
VGB	Não metabolizado	NA	NA	NA	NA	NA
ZNS	Oxidação (CYP)	NA	NA	NA	NA	Substrato

NA: não afetado; -: sem informações disponíveis; DAEs: drogas antiepilépticas; CBZ: carbamazepina; CLB: clobazam; CNZ: clonazepam; DZP: diazepam; ESM: etossuximida; PB: fenobarbital; PHT: fenitoína; PRM: primidona; VPA: ácido valpróico; FBM: felbamato; GBP: gabapentina; LTG: lamotrigina; LEV: levetiracetam; OXC: oxcarbazepina; MHD: metabólito monohidroxi derivado (metabólito farmacologicamente ativo da OXC); TGB: tiagabina; TPM: topiramato; VGB: vigabatrina; ZNS: zonisamida; CYP: citocromo P450; UGT: UDP-glicuronosiltransferase. Adaptado de Patsalos et al. (2002).

Em termos biológicos, a indução enzimática objetiva proteger as células contra a ação de xenobióticos através de processos que aumentam sua eliminação. Há dois principais mecanismos pelos quais estas enzimas de metabolismo podem ter sua capacidade conversora

aumentada (SPINA; SCORDO, 2004). Em geral, o que ocorre é um aumento na quantidade das enzimas (maior síntese protéica) resultante de maior transcrição gênica mediada por receptores intracelulares. Outra forma de indução enzimática se dá pela diminuição na taxa de degradação destas enzimas através de ação de agentes indutores, como, por exemplo, o etanol. Embora cada indutor tenha seu próprio padrão para provocar indução enzimática, um mesmo indutor pode ativar vários mecanismos de indução, em diferentes extensões (LIN; LU, 1998).

Os mecanismos de indução enzimática resultam, desta forma, em aumentos nas taxas de eliminação e consequentes menores concentrações plasmáticas dos fármacos que são substratos das enzimas induzidas (PATSALOS; PERUCCA, 2003). Na maioria das vezes em que este mecanismo ocorre há altas chances de a eficácia do esquema terapêutico ser comprometida e afetar negativamente, por conseguinte, a condição clínica do paciente. Caso algum fármaco seja convertido a metabólito pela enzima que se encontra induzida, haverá uma maior produção de tal composto que, se farmacologicamente ativo, pode resultar tanto em aumento benéfico do efeito clínico quanto em aumento indesejado da toxicidade (PATSALOS et al., 2008).

Dentre as DAEs usualmente prescritas, CBZ, PB, PHT e PRM são associadas à capacidade clinicamente relevante de indução enzimática. As DAEs de segunda geração, embora menos propensas a envolvimento em interações farmacológicas, têm potencial para influenciar a atividade enzimática de diferentes isoformas, como o fazem o FBM, OXC e TPM (≥ 200 mg/dia). Esta propriedade, porém, é restrita a apenas algumas isoenzimas e substratos, ou seja, é notoriamente menos significativa do que a apresentada pelas DAEs de primeira geração (FRENCH; GIDAL, 2000; PERUCCA et al., 1984).

Há três situações especialmente importantes sob a óptica clínica em que a indução enzimática pode influenciar a decisão terapêutica a ser tomada. Quando um fármaco sabidamente indutor enzimático é introduzido em um esquema terapêutico prévio em que haja

substrato da enzima em questão, há grandes possibilidades de um aumento na dose da droga afetada vir a ser necessário para se alcançar e manter satisfatoriamente a eficácia clínica. Semelhante decisão deve ser aventada nos casos em que um fármaco substrato enzimático é adicionado ao esquema terapêutico prévio com medicações que induzem as enzimas que exercem seu metabolismo. Porém, no caso de um agente indutor ser retirado do esquema de politerapia, a diminuição da dose do fármaco afetado pela indução enzimática prévia deve ser considerada objetivando-se evitar intoxicações decorrentes de sua concentração aumentada (SPINA; SCORDO, 2004).

A inibição enzimática, por sua vez, é a diminuição da atividade das enzimas. Logo, causa diminuição da taxa de metabolismo das medicações que são seus substratos com consequente aumento de suas concentrações plasmáticas e potenciais manifestações de toxicidade. Dentre as DAEs, VPA, OXC e FBM têm sido associadas a interações medicamentosas de caráter inibitório (PATSALOS; PERUCCA, 2003).

Além das enzimas do citocromo P450, outras enzimas estão também envolvidas na biotransformação de xenobióticos, inclusive de algumas DAEs. As enzimas hidrolíticas, por exemplo, são responsáveis por importantes reações capazes de inativar (ou ativar, no caso dos pró-fármacos) diversas substâncias (ALDRIDGE, 1993; GONZALEZ; TUKEY, 2006). As duas famílias de enzimas hidrolíticas mais importantes são as epóxido hidrolases e a família das esterases.

As epóxido hidrolases são mediadoras de reações que desativam os epóxidos, derivados eletrofílicos altamente reativos e potencialmente tóxicos resultantes das reações catalisadas pelas enzimas do CYP. Um importante exemplo da ação de um tipo de epóxido hidrolase refere-se à inativação por parte desta enzima do metabólito ativo da CBZ, o carbamazepina 10,11-epóxido, produzido pela oxidação do fármaco via CYP3A4. A inibição desta enzima provocada pela administração concomitante de CBZ e VPA resulta em não

conversão do metabólito ativo ao composto inativo que será eliminado, causando, desta forma, sinais de intoxicação (PATSALOS et al., 2008).

A designação “esterases” comporta uma grande variedade de enzimas hidrolíticas expressas em vários órgãos e tecidos, em especial no sangue e no fígado (COUPEZ; NICOLAS; BROWNE, 2003; STROLIN BENEDETTI et al., 2003). Incluídas na super família das esterases tipo serina estão, por exemplo, as carboxilesterases, enzimas presentes no retículo plasmático e citosol de muitos tipos celulares, onde desempenham como principal função a hidrólise de ésteres e amidas (GONZALEZ; TUKEY, 2006; SATOH; HOSOKAWA, 2006). Em geral, estudos que buscam identificar uma determinada enzima hidrolítica envolvida em uma via de metabolismo a ser esclarecida utilizam-se de inibidores enzimáticos padronizados tais como paraoxon (inibidor de esterases do grupo B, o qual inclui a superfamília das esterases tipo serina), ácido acetilsalicílico (inibidor inespecífico de esterases) e acetazolamida (inibidor de carboxilanidrase) (COUPEZ; NICOLAS; BROWNE, 2003). Estes compostos são adicionados ao sistema *in vitro* onde ocorre a reação enzimática sob investigação e a atividade de conversão do composto parental ao metabólito hidrolisado é quantificada, possibilitando inferências acerca de eventuais alterações na atividade da enzima avaliada.

Em relação a potencial indução da atividade destas enzimas, diferentes trabalhos têm evidenciado sua ocorrência tanto em animais quanto em seres humanos, porém para algumas enzimas, e não para todas (KAUR; ALI, 1983; PUCHE et al., 1989; SATOH; MOROI, 1977; TYBRING et al., 1981). Ainda, de acordo com Nousiainen e Hanninen (1981) e Schwark e Ecobichon (1968), diferentes compostos indutores podem exercer em magnitudes diferentes a indução das esterases.

Neste contexto de múltiplas enzimas oxidativas e hidrolíticas potencialmente capazes de exercer influência significativa sobre a disposição de diferentes fármacos, é possível, e

bastante útil, a predição do potencial para ocorrência de interações medicamentosas através de ensaios realizados *in vitro*. Para tanto é essencial a identificação da enzima (ou isoforma específica, no caso do CYP) envolvida na interação que se deseja investigar. Para que os dados encontrados sejam extrapolados para situações *in vivo*, ainda que consideradas todas as limitações desta abordagem (difícilmente um sistema elaborado para pesquisas reproduzirá a complexidade dos sistemas biológicos), são necessários profundos conhecimentos de farmacocinética e a compreensão sobre a relevância da via metabólica induzida/inibida no processo de eliminação total do fármaco. Ainda, faz-se importante ressaltarmos que nem todas as interações teoricamente possíveis serão clinicamente relevantes. Para este julgamento são importantes considerações tais como o índice terapêutico da droga (razão entre a dose média tóxica e a dose média eficaz), presença de metabólitos ativos, potência dos inibidores/indutores co-administrados e real probabilidade de as interações serem encontradas na prática clínica (SPINA; SCORDO, 2004).

1.2 PRINCÍPIOS DE FARMACOCINÉTICA

A farmacocinética é a ciência que estuda como um determinado fármaco apresenta diferentes concentrações ao longo do tempo em função da relação entre sua dose administrada e fração livre no sítio de ação (receptor da droga) (BIRKETT, 2002). Para fármacos administrados oralmente, os processos que determinarão o decurso de sua disposição cinética são a absorção, a distribuição, o metabolismo e a eliminação. Estes processos, embora tenham parâmetros característicos e possam ser compreendidos individualmente, ocorrem de forma dinâmica no organismo, apresentando-se, porém, prevalentes uns sobre os outros de acordo com a fase farmacocinética que os caracteriza (figura 1.2).

Log: logaritmo; C_p : concentração plasmática; C_{MAX} : concentração máxima; t_{MAX} : tempo necessário para atingir C_{MAX} . Adaptado de Yacubian (2004).

Figura 1.2. Perfil farmacocinético de medicamento administrado por via oral.

Conforme o fármaco é absorvido, ou seja, passa do seu local de administração para o compartimento central (BUXTON, 2006), sua concentração no plasma aumenta até atingir uma concentração máxima (C_{MAX}). O tempo decorrido para que este pico de concentração plasmática seja atingido é chamado de t_{MAX} .

Porém, em grande parte dos casos, a quantidade da dose administrada não será a mesma quantidade que alcançará a circulação sistêmica. Isto pode se dever, em especial, a propriedades físico-químicas do fármaco e a processos de biotransformação exercidos pelo fígado e intestino (metabolismo de primeira passagem) (BUXTON, 2006). A fração do fármaco que efetivamente alcança a circulação sistêmica como forma inalterada indica a sua biodisponibilidade (F), parâmetro farmacocinético mensurado para uma formulação farmacêutica e população específicas através da razão entre AUC após administração oral e AUC após administração intravenosa (equivalente a 1), sendo AUC a área sob a curva (*area under the curve* - AUC) da concentração plasmática do fármaco (em logaritmo) *versus* tempo,

tal qual evidenciada na figura 1.2 (onde C_p refere-se à “concentração plasmática”). O cálculo de AUC, por sua vez, é feito a partir da regra trapezoidal, isto é, do somatório das áreas determinadas por cada par de pontos da curva que definem um trapézio do tempo zero até o tempo da última concentração quantificada (AUC_{0-t}).

Uma vez presente na circulação sistêmica, as moléculas do fármaco se distribuem pelos diferentes compartimentos corporais (líquido extracelular, líquido intracelular, líquido transcelular e gordura) até alcançarem uma concentração de equilíbrio (YACUBIAN, 2004). O parâmetro referente à extensão da distribuição de uma droga no corpo é denominado volume de distribuição (V_d). O V_d (ou V_d/F , volume de distribuição aparente, caso haja relevância em se expressar que a administração do fármaco é por via oral através da incógnita F), embora não apresente correlação anatômica, pode ser compreendido como o volume de líquido necessário para conter a quantidade total do fármaco no organismo na mesma concentração presente no plasma (RANG et al., 2007). Fármacos com alto valor de V_d (como CNZ, por exemplo, cujo V_d é igual a 3 L/Kg) apresentam uma queda pronunciada relativa à sua rápida distribuição para os diferentes compartimentos, como ilustra o exemplo da figura 1.2.

Para se movimentar por entre os compartimentos e alcançar diferentes órgãos é importante que as moléculas do fármaco estejam livres, em alguma extensão, das ligações às proteínas plasmáticas. A albumina e a glicoproteína ácida α_1 são as principais proteínas carreadoras de fármacos, sendo a primeira com afinidade por compostos ácidos e segunda por básicos (BUXTON, 2006). A ligação a estas proteínas circulantes é uma forma de as moléculas do fármaco ficarem reservadas para irem sendo liberadas conforme o fármaco é eliminado irreversivelmente do organismo, mantendo, desta forma, um equilíbrio entre fração livre (farmacologicamente ativa) e ligada (YACUBIAN, 2004).

Conforme é possível observar na figura 1.2, uma etapa farmacocinética bastante significativa para o perfil de disposição do fármaco é a eliminação, que pode ocorrer em decorrência de eliminação (excreção) renal (ou biliar, entre outras, geralmente em menores extensões) e/ou de processos de biotransformação (metabolismo, predominantemente hepático). O perfil de eliminação evidenciado pelo gráfico da figura 1.2, assim como acontece para o LEV e para a maior parte dos fármacos, caracteriza uma cinética linear, ou de primeira ordem, na qual a velocidade do metabolismo é proporcional à concentração plasmática da droga. Consequentemente, o decaimento das concentrações após dose única segue uma função exponencial que se reflete em uma reta quando os dados de concentração *versus* tempo são plotados em gráfico semilogaritmo (BIRKETT, 2002).

Em relação à eliminação por via renal, é importante considerarmos que este processo é composto por três mecanismos (BIRKETT, 2002): filtração tubular passiva, cuja magnitude é representada pela taxa de filtração glomerular – cerca de 120 mL/min - (que, por sua vez, pode ser inferida através de informações de *clearance* da creatinina, um composto endógeno extensivamente filtrado pelos glomérulos renais); secreção tubular ativa (mediada por transportadores) e reabsorção tubular passiva.

A área destacada na figura 1.2 como “meia-vida” refere-se à meia-vida de eliminação do fármaco ($t_{1/2\beta}$), ou seja, o tempo necessário para que a concentração plasmática do medicamento seja reduzida à metade na fase de eliminação (BIRKETT, 2002). A proporção do fármaco eliminada irreversivelmente do organismo por unidade de tempo determina, por sua vez, a constante de velocidade de eliminação (K_{el}), uma constante de proporcionalidade caracterizada como uma função recíproca de $t_{1/2\beta}$ (BIRKETT, 2002).

Outro importante parâmetro referente à eliminação do fármaco é o *clearance* total (Cl, ou Cl/F, *clearance* oral aparente, nos casos de administração por via oral). Este parâmetro descreve a eficiência da eliminação irreversível de uma droga da circulação sistêmica,

podendo assim ser definido como “o volume de sangue que é depurado do fármaco por unidade de tempo” (BIRKETT, 2002). É possível encontrar este parâmetro em referências individuais, como, por exemplo, *clearance* de um órgão (Cl renal, Cl_r), de uma via metabólica, ou do organismo como um todo (*clearance* sistêmico), situação esta que expressa nada mais do que o somatório de todos os *clearances* individuais relativos a determinada medicação.

Os parâmetros V_d e Cl são considerados os parâmetros fundamentais da farmacocinética, enquanto que a $t_{1/2\beta}$, embora também importante, não é considerado um parâmetro fundamental devido ao fato de poder ser determinada diretamente por Cl e V_d (BIRKETT, 2002).

1.3 LEVETIRACETAM

1.3.1 ASPECTOS GERAIS

O levetiracetam (INN) (ucb L059; CAS#102767-28-2) é o princípio ativo do antiepiléptico comercialmente conhecido como Keppra[®] (UCB Pharma; Bruxelas, Bélgica). Trata-se de um derivado pirrolidínico, análogo etil do fármaco nootrópico piracetam (DeSMEDT et al., 2007), cuja eficácia é comprovada para o tratamento de mioclonias (GOWER et al., 1992). Tem fórmula molecular $C_8H_{14}N_2O_2$ e massa molar 170,21 g/mol (figura 1.3). Apresenta-se como um pó fino, branco cristalino, que se dissolve com facilidade em soluções aquosas ou salinas de pH 6.

O LEV é uma molécula quiral com atividade anticonvulsivante altamente enantiosseletiva (ISOHERRANEN et al., 2003), sendo a atividade farmacológica atribuída ao enantiômero S ((S)- α -ethyl-2-oxo-1-pirrolidina acetamida). Esta especificidade evidencia que a molécula interage com um sítio receptor específico, com requisitos conformacionais

rigorosos (GOWER et al., 1992). Isoherranen et al. (2003) e Strolin Benedetti et al. (2003) evidenciaram não haver conversão quiral nem do LEV nem de seus metabólitos *in vivo*, o que, em termos de eficácia e segurança, é considerada uma característica positiva do fármaco.

Figura 1.3. Fórmula estrutural do levetiracetam (ucb L059).

O LEV foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para comercialização no ano de 1999 e pela *European Medicines Agency* (EMA) no ano de 2000, inicialmente para uso como terapia adjuntiva no tratamento de crises focais com ou sem evolução para crise convulsiva bilateral em adultos e crianças (maiores de quatro anos de idade) com epilepsia fármaco-resistente (BRODIE et al., 2007; PATSALOS, 2004). Atualmente encontra-se também aprovado para tratamento de crises mioclônicas em pacientes a partir dos 12 anos de idade com epilepsia mioclônica juvenil, para crises tônico-clônicas generalizadas primárias em pacientes a partir dos 12 anos de idade com “epilepsia generalizada idiopática” e para uso em monoterapia em pacientes a partir dos 16 anos com diagnóstico recente de epilepsia com crises focais com ou sem evolução para crise convulsiva bilateral. No Brasil encontra-se registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), nº DCB 05232.

O Keppra[®] é comercializado nas seguintes apresentações: comprimidos revestidos de 250, 500, 750 e 1000 mg; comprimidos revestidos *extended release* (Keppra[®]XR) de 500 e 750 mg; solução oral 100 mg/mL e formulação para administração intravenosa 100 mg/mL.

1.3.2 FARMACODINÂMICA

1.3.2.1 ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS

Durante testes de vários compostos com atividade antiepiléptica em modelos experimentais de crise aguda, o LEV diferenciou-se de outras moléculas por não apresentar efeito farmacológico sobre os modelos cujas crises eram provocadas por pentilenotetrazol subcutâneo ou por eletrochoque (modelos estes normalmente utilizados nos testes para DAEs) (KLITGAARD et al., 1998).

Sua eficácia farmacológica é bastante evidente e significativa em modelos experimentais crônicos de epilepsia, tais como o modelo genético, no qual inibe a expressão de crises tônicas (YAN et al., 2005), e no modelo de *kindling*, cujas crises mimetizam crises focais com comprometimento da consciência em humanos. As respostas individuais dos animais foram amplamente variáveis, abrangendo desde controle completo a total ineficácia, o que está de acordo com a diversidade de respostas encontrada em pacientes com epilepsia (GLIEN et al., 2002).

O perfil de eficácia apresentado pelo LEV diverge dos demais perfis usualmente característicos das DAEs (MACDONALD; ROGAWSKI, 2008). Análises de fatias do cérebro dos modelos experimentais geralmente apontam para a ação das DAEs convencionais sobre a inibição dos disparos de potenciais de ação de alta frequência, enquanto o LEV, por sua vez, suprime especificamente os disparos sincronizados de redes neuronais, ou seja, exerce efeito sobre a sincronia subjacente à crise (NIESPODZIANY; KLITGAARD; MARGINEANU, 2003). Esta característica implica em sua ampla janela terapêutica, expressa pela necessidade de doses significativamente altas (aproximadamente 1000 mg/Kg) para que haja manifestação de prejuízos motores. Em vista disso, considera-se a ação do LEV mais específica do que a de outras DAEs sobre a atividade epileptiforme (MACDONALD; ROGAWSKI, 2008).

De acordo com Gower e colegas (1992), os primeiros trabalhos que caracterizaram o perfil da atividade antiepiléptica do ucb L059 já observaram que esta substância tinha um mecanismo de ação único, não identificado, aparentemente distinto dos mecanismos reconhecidamente envolvidos na farmacodinâmica da DAE (tabela 1.1). De fato, o não envolvimento do LEV com tais mecanismos tradicionalmente conhecidos foi evidenciado por estudos realizados ao longo dos anos seguintes (LUKYANETZ; SHKRYL; KOSTYUK, 2002; SILLS et al., 1997; ZONA et al., 2001).

Em um importante trabalho, Noyer et al. (1995) descreveram a ligação do sítio alvo ao qual se ligou o composto marcador [^3H]levetiracetam como sendo reversível, saturável e enantiosseletiva. A proteína de membrana então caracterizada como tendo peso molecular de 90 kDa e ampla distribuição no cérebro (localização nas vesículas sinápticas dos neurônios) foi posteriormente reconhecida como sendo a proteína 2 da vesícula sináptica, isoforma A (*Synaptic Vesicle protein 2 A* - SV2A) (LYNCH et al., 2004).

A família SV2 apresenta três isoformas: SV2A, SV2B e SV2C (LYNCH et al., 2004). Não somente todas as vesículas sinápticas expressam a isoforma A, mas também algumas células endócrinas, embora o [^3H]levetiracetam não se ligue especificamente a estes sítios (GOWER et al., 1992). A proteína SV2A foi primeiramente descrita por BAJJALIEH et al. (1992) como uma glicoproteína de 12 domínios transmembrânicos homóloga aos transportadores de membrana, embora SV2A não tenha atividade transportadora comprovada. Esta proteína interage com a sinaptotagmina, que acredita-se ser um sensor de cálcio no processo da exocitose e liberação de neurotransmissores (SCHIVELL et al., 2005). Trabalhos com camundongos cuja expressão de SV2 foi deletada argumentam a favor de um provável papel desta proteína como reguladora da susceptibilidade a crises (CROWDER et al., 1999), embora os mecanismos que explicam como a ligação do LEV a este sítio protege contra a ocorrência de crises ainda não tenham sido plenamente esclarecidos.

1.3.2.2 ENSAIOS CLÍNICOS DE TOLERABILIDADE E EFICÁCIA

Diferentes estudos avaliaram a tolerabilidade e eficácia do LEV em politerapia para pacientes adultos com epilepsia fármaco-resistente através de delineamento duplo-cego, randomizado e controlado por placebo (BEN-MENACHEM et al., 2000; CEREGHINO et al., 2000; SHORVON et al., 2000). Nestes três importantes trabalhos o perfil de eficácia e tolerabilidade do LEV em pacientes com crises focais refratárias foi considerado favorável quando comparado ao de outras DAEs para as doses diárias de 1000, 2000 e 3000 mg. Em todas estas doses, o LEV mostrou-se significativamente mais eficaz no controle de crises do que a administração de placebo. Houve também redução significativa na frequência de todos os subtipos de crises focais apresentadas.

Embora tratamentos por longo prazo (até cinco anos) com LEV não tenham revelado qualquer evento adverso idiossincrático ou inesperado (BIALER et al., 2002), trabalhos de acompanhamento por períodos mais curtos (inclusive os ensaios clínicos comentados acima) apontam os eventos adversos de incidência mais frequente como sendo sonolência, astenia, e vertigem. Sintomas comportamentais como irritabilidade, agressão, depressão e psicose têm sido relatados, os quais podem variar de intensidade leve a grave, justificando inclusive a descontinuidade do tratamento em alguns casos (HIRSCH et al., 2007).

Acerca das doses usualmente prescritas para adultos, Shorvon e Rijckevorsel (2002) comentam haver boa tolerabilidade e eficácia para doses alvos iniciais de 1000 a 2000 mg/dia. A manutenção do tratamento em geral preconiza doses entre 1000-3000 mg/dia em duas administrações diárias.

Trabalho realizado em população pediátrica (GLAUSER et al., 2006a) demonstrou resultados positivos de eficácia do LEV em relação ao placebo. A sonolência foi o efeito adverso reportado como mais significativo para esta população, resultando em descontinuação do tratamento em 23% dos casos.

Bazil et al. (2002) e Ferrendelli et al. (2003) concluíram que pacientes acima de 65 anos de idade respondem positivamente ao tratamento com LEV. Para esta faixa etária, a tontura mostrou-se como sendo o efeito adverso mais significativo.

Poucos são os dados disponíveis sobre tolerabilidade e segurança do LEV quando administrado a gestantes. Hunt et al. (2006) e Long (2003) sugerem que, apesar da baixa incidência, eventuais malformações fetais identificadas nos casos acompanhados não podem ser devidas exclusivamente ao LEV. De acordo com Tomson et al. (2007), o tratamento com LEV não contra-indica a amamentação, embora concentrações do fármaco possam ser encontradas no leite materno.

1.3.3 FARMACOCINÉTICA

Absorção: Após administração oral o LEV é absorvido rapidamente, com t_{MAX} em aproximadamente 1,3 h. As concentrações retornam ao nível basal em, no máximo, 48 horas, independentemente da dose administrada (figura 1.4) (PATSALOS, 2000; RADTKE, 2001).

Embora a administração concomitante de LEV e alimentos não altere a extensão da absorção do fármaco, a sua velocidade pode ser diminuída (PATSALOS et al., 2008).

De acordo com Abou-Khalil (2008) e Patsalos (2003, 2004), a disponibilidade do LEV pode ser considerada como sendo de 95% a 100%. Estudos de farmacocinética realizados em voluntários sadios e em pacientes não apontaram a existência de diferenças na disposição do LEV quando avaliadas diferentes etnias e distintas regiões do mundo (ZHAO et al., 2007).

Reproduzido de Patsalos (2000).

Figura 1.4: Concentrações plasmáticas de LEV após dose única administrada a voluntários sadios adultos.

A farmacocinética do LEV é linear para o intervalo de 500-5000 mg, independentemente da co-administração de outros fármacos (PATSALOS, 2000; PERUCCA; GIDAL; BALTES, 2003; TRINKA et al., 2002). Embora tenham encontrado resultados concordantes em relação à linearidade, Contin et al. (2004) e May, Rambeck e Jurgens (2003) ressaltam uma representativa variabilidade dos valores de concentração plasmática do LEV quando comparados diferentes pacientes com mesma dose em mg/Kg.

Distribuição: O Vd do LEV é de aproximadamente 0,5 a 0,7 L/Kg em voluntários sadios adultos (PATSALOS, 2000; STROLIN BENEDETTI et al. 2003), com taxa de ligação à albumina considerada mínima (< 10%).

Apesar da molécula com características hidrofílicas, estudos em modelos experimentais indicam que o LEV ultrapassa rapidamente a barreira hematoencefálica (t_{MAX} de 3-5 h) - provavelmente em virtude de seu tamanho e baixo peso molecular - para alcançar o líquido cefalorraquiano (LCR) e ser eficientemente distribuído no sistema nervoso central. Não apresenta ligação preferencial a nenhuma região cerebral (DOHENY et al., 1999; EDWARDS et al., 2004; TONG; PATSALOS, 1997).

Metabolismo e excreção: Após 24 horas, aproximadamente 90% da dose administrada oralmente pode ser recuperada na urina, sendo 66% como fármaco parental (inalterado) e cerca de 24% como o principal metabólito inativo do LEV, o ucb L057 (PATSALOS, 2000; STROLIN BENEDETTI et al., 2003).

O CI sistêmico do LEV é de aproximadamente 0,96 mL/min/Kg em adultos saudáveis (RADTKE, 2001), e cerca de 30 a 40% maior do que este valor quando mensurado em população pediátrica (PELLOCK et al., 2001). Em gestantes pode haver um decréscimo de 60% na concentração plasmática do LEV, de acordo com Tomson et al. (2007), devido ao CI aumentado também apresentado por este grupo.

Relativamente ao processo de eliminação do LEV, destaca-se que sua meia-vida varia de 6 a 8 h em adultos saudáveis, 16 a 18 h em neonatos, 5 a 7 h em crianças com idade entre 6 e 12 anos, e de 10 a 11 h em idosos (ALLEGAERT et al., 2006; JOHANNESSEN; HELDE; BRODTKORB, 2005; PATSALOS, 2000).

A conversão de LEV a ucb L057 não é mediada por enzimas do sistema CYP ou por UGT (PERUCCA; BIALER, 1996; SPINA; SCORDO, 2004). Este metabólito inativo é, na verdade, um ácido carboxílico resultante de hidrólise enzimática do grupo acetamida presente na molécula do fármaco (NICOLAS et al., 1999; PATSALOS, 2000; RADTKE, 2001). Segundo Coupez, Nicolas e Browne (2003) e Strolin Benedetti et al (2003), esta hidrólise pode ocorrer em vários tecidos, tais como sangue (provavelmente neste de forma mais significativa), rins, pulmões, cérebro e fígado, possivelmente pela ação de uma esterase tipo B distinta das clássicas colinesterases e carboxilesterases, de acordo com o perfil de inibição enzimática caracterizado pelos autores *in vitro*.

Outros dois metabólitos também farmacologicamente inativos correspondem a 2,5% da fração total recuperada na urina. Suas estruturas foram recentemente elucidadas, assim como as suas possíveis vias de produção, as quais, segundo Strolin Benedetti et al (2003), são

mediadas por enzimas oxidativas pertencentes ao sistema CYP. Além disso, 0,3% da dose administrada é eliminada nas fezes como compostos ainda não identificados (PATSALOS, 2004).

A figura 1.5 caracteriza os possíveis caminhos através dos quais o LEV pode ser convertido aos compostos 2 e 4 (resultantes de oxidação) e ao seu principal metabólito (ucb L057). Os compostos 3 e 5 identificados na figura são intermediários, não podendo ser quantificados como produtos finais de qualquer uma das possíveis vias de metabolismo do LEV.

Adaptado de Strolin Benedetti et al. (2003).

Figura 1.5. Possíveis vias de metabolismo do LEV em seres humanos saudáveis.

Faz-se importante enfatizarmos que estes dados relativos ao metabolismo do LEV correspondem a investigações realizadas *in vitro* (COUPEZ; NICOLAS; BROWNE, 2003) e em voluntários sadios (STROLIN BENEDETTI et al., 2003), o que implica na necessidade de

interpretação e extrapolação cautelosas para o contexto de pacientes com epilepsia cujos sistemas enzimáticos encontram-se induzidos por longos períodos.

A despeito da biotransformação sofrida pelo LEV, a excreção renal da sua forma inalterada é a via que contribui mais significativamente para sua eliminação irreversível. De acordo com Patsalos (2000), o valor do Cl_r do LEV (0,6 mL/min/Kg) é indicativo de ocorrência dos processos de filtração glomerular e reabsorção tubular parcial. Já o valor de Cl_r referente ao metabólito ucb L057 (4,2 mL/min/Kg) remete à ocorrência de filtração glomerular passiva com significativa secreção tubular ativa. Conforme previamente comentado em “1.2 Princípios de farmacocinética”, valores de *clearance* da creatinina (Cl_{cr}) têm importante correspondência com as informações sobre o Cl_r do LEV em virtude de ambos os compostos serem majoritariamente filtrados passivamente pelos glomérulos renais. Desta forma, o autor conclui que, em pacientes com doença renal ou síndrome hepato-renal (disfunção hepática severa que cursa em geral com importante alteração da função renal) a $t_{1/2\beta}$ do LEV tende a aumentar em resposta ao seu Cl_r diminuído, concordante com Cl_{cr} que também se encontra menor nestas situações patológicas. Diminuições na dose do fármaco devem ser indubitavelmente consideradas para pacientes em tais circunstâncias.

De forma semelhante, o Cl/F do LEV é de aproximadamente 0,93 L/kg/dia (0,64 mL/min/Kg) em idosos acima de 65 anos, o que, presumivelmente, é resultado da queda idade-dependente do *clearance* da creatinina (HIRSCH et al., 2007; LEPPIK et al., 2003).

Interações farmacocinéticas: O metabolismo do LEV não depende significativamente das enzimas do citocromo P450 classifica este fármaco como distinto das DAEs de primeira geração, porém semelhante às DAEs de segunda geração que também não são metabolizadas por sistemas oxidativos, tais como a GBP e a VGB. Esta característica, embora bastante favorável do ponto de vista clínico no que tange seu potencial para interações, não implica necessariamente que outras DAEs ou mesmo fármacos de outras

classes concomitantemente administrados com o LEV e que tenham propriedades inibidoras ou indutoras não vão afetar a sua disposição cinética (STROLIN BENEDETTI et al., 2003).

Embora alguns estudos defendam a semelhança entre o perfil farmacocinético do LEV em monoterapia e em politerapia com outras DAEs (COUPEZ, NICOLAS; BROWNE, 2003; PATSALOS, 2004; WELTY et al, 2002), diferentes trabalhos têm encontrado evidências de que o LEV, quando administrado concomitantemente a fármacos indutores enzimáticos, sofre um decréscimo em sua concentração plasmática (CONTIN et al., 2004; HIRSCH et al., 2007; MAY; RAMBECK; JURGENS, 2003; PERUCCA, 2003; PERUCCA; GIDAL; BALTES, 2003). Segundo os autores, estas interações podem ocorrer em diferentes magnitudes, em geral não expondo o paciente a riscos maiores e consequente necessidade de ajustes de posologia.

Em relação à influência de medicações de outras classes sobre a farmacocinética do LEV, um importante dado reporta a interação entre esta DAE e o fármaco probenecid (RADTKE, 2001). Após administração de dose única e doses múltiplas de LEV 2000 mg a pacientes em uso de probenecid 500 mg (quatro doses diárias), observou-se que, embora a disposição do LEV não tenha sido afetada, a concentração plasmática de seu metabólito ucb L057 apresentava-se aproximadamente 2,5 vezes maior do que a usualmente reportada por outros trabalhos. O autor comenta este achado como sendo possivelmente o resultado da redução de 61% na secreção tubular ativa do metabólito provocada pela ação do probenecid como inibidor da secreção tubular ativa de compostos ácidos (como o metabólito). Este dado pode ser considerado bastante relevante devido às informações elucidativas acerca do perfil de eliminação do LEV, embora altas concentrações plasmáticas de ucb L057 não tenham sido até então correlacionadas com potenciais efeitos benéficos ou tóxicos em humanos.

Outras investigações envolvendo fármacos diversos tais como digoxina, warfarina, antiácidos e contraceptivos monofásicos, não apresentaram dados significativos sobre uma

possível influência destes na farmacocinética do LEV (LEVY; RAGUENEAU-MAJLESSI; BALTES, 2001; PATSALOS, 2000; RAGUENEAU-MAJLESSI; LEVY; JANIK, 2002; RAGUENEAU-MAJLESSI; LEVY; MEYERHOFF, 2001).

Um estudo *in vitro* com microsossomas hepáticos humanos também não mostrou ação do LEV e nem de seu metabólito inativo sobre enzimas do CYP, epóxido hidrolases ou UGT (NICOLAS et al., 1999). Em concordância, não foram até então encontradas evidências de um potencial efeito do LEV sobre a disposição de outras DAEs como CBZ, CLB, CNZ, DZP, GBP, LTG, PB, PHT, PRM, VPA e VGB (GIDAL et al., 2005).

Diante destas evidências, o LEV tem sido considerado uma das DAEs de melhor perfil farmacocinético já disponibilizadas na prática clínica.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Analisar o perfil farmacocinético de dose única de levetiracetam administrada a pacientes adultos com epilepsia em uso de DAEs indutoras enzimáticas em comparação a pacientes em uso de DAEs sem influência sobre a atividade das enzimas de metabolismo hepático ou sem tratamento farmacológico.

2.2 OBJETIVOS GERAIS

- Estabelecer parâmetros farmacocinéticos (C_{MAX} , t_{MAX} , $t_{1/2\beta}$, K_{el} , Cl/F , Vd/F , AUC) do levetiracetam em plasma de 1) pacientes adultos em tratamento com DAEs indutoras enzimáticas; e 2) pacientes adultos sem tratamento farmacológico ou em tratamento com DAEs que sabidamente não influenciam a atividade das enzimas do sistema microssomal hepático;
- Avaliar o perfil de eliminação do levetiracetam em urina através dos cálculos de seu Cl_r e das frações eliminadas como fármaco inalterado e como metabólito inativo (ucb L057).

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. PACIENTES

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) (ANEXO 1 - Processo HCRP nº 11133/2008).

Trinta pacientes adultos (18-60 anos), de ambos os sexos, foram selecionados dentre os pacientes em seguimento ambulatorial regular no HCFMRP-USP (Ambulatório de Epilepsia de Difícil Controle - AEDC - ou Ambulatório de Epilepsia Adulto – AEPA).

A inclusão definitiva dos pacientes no protocolo clínico aconteceu após verificação de conformidade com os critérios de seleção comentados abaixo, explicação detalhada dos procedimentos clínicos a serem realizados e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).

3.1.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os 15 pacientes selecionados para compor o grupo tratado por “grupo indutor enzimático” deveriam estar em tratamento há pelo menos dois meses (com concentrações plasmáticas estáveis há pelo menos quatro semanas antes da realização do protocolo) com qualquer uma das DAEs indutoras enzimáticas (CBZ, PHT, PB ou PRM), em monoterapia ou associadas entre si e/ou com BZD (CLB ou CNZ).

Os 15 demais indivíduos selecionados para compor o grupo referido por “grupo controle” deveriam ser pacientes com epilepsia que não estivessem em tratamento farmacológico com nenhuma DAE ou pacientes com epilepsia em tratamento (de qualquer duração) com alguma das seguintes medicações: GBP, LTG, TPM (doses inferiores a 200 mg/dia), ESM, BZD ou PGB, independente se em monoterapia ou combinadas entre si.

3.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos da seleção pacientes que estivessem em tratamento na ocasião do estudo (ou pelo menos nas 6 semanas anteriores à realização do protocolo) com VPA, FBM, OXC, contraceptivos esteroidais ou qualquer outra medicação (a não ser as supracitadas em “3.1.1 Critérios de inclusão”) com reconhecida influência sobre a atividade de metabolização de fármacos exercida pelo sistema microssomal hepático. Tratamentos com OXC puderam ser permitidos no grupo indutor enzimático somente quando esta medicação encontrava-se associada a CBZ, PHT, PB ou PRM.

Mulheres gestantes ou com potencial para engravidar também não compuseram a seleção de pacientes.

Possíveis quadros vigentes de doenças metabólicas, hepáticas, renais, gastrointestinais, infecciosas ou progressivas foram determinados através de exame médico e realização dos seguintes exames laboratoriais (não mais do que três semanas antes do cumprimento do protocolo clínico): hemograma, glicemia, transaminases hepáticas (transaminase glutâmico oxalacética - TGO e transaminase glutâmico pirúvica - TGP), gama glutamil transferase (GGT), bilirrubina, fosfatase alcalina, sódio, potássio, uréia, creatinina e análise da urina. Qualquer alteração significativa no exame médico ou em algum dos exames laboratoriais foi considerada como justificativa para a não inclusão do paciente no estudo.

Histórico de hipersensibilidade conhecida ao LEV também foi considerado como critério para a não inclusão do paciente no protocolo.

3.2. PROTOCOLO CLÍNICO

Todos os pacientes foram admitidos na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) do HCFMRP-USP em jejum alimentar de no mínimo 8 horas. Para certificação de que nenhuma paciente estava grávida, na situação do protocolo clínico foi realizado, mediante

consentimento, teste de gravidez (em urina) em todas as participantes em idade fértil. Todas as outras medicações de uso regular dos pacientes, incluindo as demais DAEs, não tiveram o esquema posológico suspenso ou modificado.

A todos os pacientes foi administrada dose única oral de 1000 mg de LEV (Keppra[®], UCB Pharma, Bruxelas, Bélgica) juntamente com 50 mL de água. Todos os pacientes permaneceram em jejum por 4 horas após a administração do medicamento do estudo. Os horários e composições das refeições foram acompanhados pela equipe de pesquisa, não sendo permitido consumo de nenhum alimento fora da dieta regular oferecida pela UPC. Foi mantida observação médica após administração da dose única de LEV por todo o período de 24 horas correspondente à realização do protocolo clínico. Observa-se que o tempo de duração deste protocolo foi estipulado em 24 horas a partir da consideração de estudos prévios realizados em voluntários sadios que sugerem que a meia-vida do LEV é de, em média, 7 horas, possibilitando assim, após 24 horas, a recuperação de aproximadamente 90% da dose administrada (HIRSCH et al., 2007; RADTKE, 2001).

Foram colhidas amostras de sangue venoso (10 mL) para determinação da concentração plasmática do LEV em tubos contendo heparina sódica (BD Vacutainer[®]). As coletas ocorreram de acordo com o seguinte cronograma: primeira coleta imediatamente antes da ingestão do medicamento (T₀) e coletas subsequentes 1 h (T₁), 3 h (T₂), 6 h (T₃), 9 h (T₄), 12 h (T₅) e 24 h (T₆) após a administração da dose única oral de LEV. As amostras foram centrifugadas, não mais do que 4 horas após a coleta, a 1800 rpm por 10 min. Os volumes de plasma foram separados e armazenados a -20°C até análise.

Antes da administração oral do LEV também foi realizada coleta de 20 mL de urina de cada paciente (T₀), tendo sido o volume total medido e registrado. Após administração do fármaco de estudo foram obtidas coleções completas de urina durante os intervalos 0-12 h

(T₁) e 12-24 h (T₂). Uma amostra de 20 mL de cada intervalo foi armazenada a -20°C. O volume referente a cada intervalo foi igualmente medido e registrado.

Dados antropométricos, condições clínicas, medicações em uso e resultados de exames laboratoriais, entre outras informações, foram documentadas em formulário específico (ANEXO 3 - *Case Report Form*).

3.3. PROTOCOLO ANALÍTICO

Todos os procedimentos analíticos para quantificação de LEV em plasma e quantificação de LEV e ucb L057 em urina foram realizados no Laboratório de HPLC da Seção de Farmacologia e Toxicologia Celular e Molecular do Departamento de Medicina Interna e Terapêutica, Unidade de Farmacologia Clínica, Universidade de Pavia, Itália, sob a coordenação do Prof. Dr. Emilio Perucca.

Os procedimentos de validação de ambas as metodologias foram pautados nas recomendações do FDA para análises em fluidos biológicos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001). Como os métodos para quantificação dos analitos de interesse tanto em plasma quanto em urina já faziam parte das análises rotineiramente realizadas pelo referido laboratório, re-avaliações dos parâmetros que compõem o processo de validação não se fizeram necessárias. Aspectos relevantes serão discutidos ao longo deste trabalho conforme pertinência.

3.3.1. ANÁLISE DO LEVETIRACETAM EM PLASMA

A análise de LEV em plasma foi realizada através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC) com detecção ultravioleta (UV) a partir de adaptação do método proposto em literatura por Ratnaraj, Doheny e Patsalos (1996).

3.3.1.1 REAGENTES E SOLUÇÕES-PADRÃO

Levetiracetam e padrão interno (PI) (ucb 17025; α ,2,2-trimetil-5-oxo-1-pirrolidina acetamida) foram doados pela UCB Pharma (Bruxelas, Bélgica). Toda a água utilizada nos procedimentos foi purificada através do sistema Milli-Q Plus[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

A solução-mãe de LEV era diariamente preparada em plasma branco (proveniente de indivíduos sem tratamento farmacológico) na concentração 100 μ g/mL a partir de solução de LEV 1 mg/mL de água. Esta solução-mãe era então diluída para obtenção das soluções-padrão com concentrações de 1; 2; 5; 10; 20; 30 e 40 μ g/mL de plasma branco, de acordo com procedimento mostrado na figura 3.1. As soluções-padrão foram utilizadas para composição das curvas de calibração, determinadas também diariamente. A solução de PI foi preparada na concentração de 1 mg/mL de metanol (J.T. Baker, Phillipsburg, USA).

3.3.1.2 INSTRUMENTAÇÃO E ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

As análises foram executadas em cromatógrafo líquido Shimadzu composto por bomba modelo LC-10ADvp (Shimadzu Scientific Instrument Inc., Columbia, MD, USA), degaseificador *on-line* modelo DGU-14A e válvula de injeção manual modelo Rheodyne 7125. As análises de LEV foram realizadas em coluna LiChrospher[®] 60 RP-select B (250 mm x 4 mm i.d., partículas de 5 μ m; Merck, Damstadt, Alemanha) e pré-coluna LiChrospher[®] 100 RP-18 (10 mm x 4 mm i.d., partículas de 5 μ m; Merck, Damstadt, Alemanha) mantidas a 35°C por forno modelo T-6300 (Merck, Damstadt, Alemanha). A detecção UV era realizada a 220 nm por detector de comprimento de onda variável modelo Elite[®] Chrom L-2400 (Hitachi). A aquisição dos dados e quantificação das concentrações dos analitos eram realizadas utilizando-se o *software* residente Unicam 4880 em interface analógico-digital com o detector UV.

Figura 3.1. Preparo da solução-mãe LEV e das sete soluções-padrão utilizadas para determinação das curvas de calibração.

A fase móvel (FM) constituída de acetonitrila (Merck, Damstadt, Alemanha) e tampão fosfato 50 mM pH 5,6 (15:85, v/v) eluía pelo sistema cromatográfico em modo gradiente a 0,8 mL/min de acordo com a seguinte programação: 100% FM do início da análise (0 min) até 3 min; mistura 65% FM + 35% acetonitrila de 3 a 10 min, concluindo a análise com 100% FM de 10 a 20 min. A FM era submetida a filtração por filtro Millipore® HVLP 0,45 µm (Amicon, Stonehouse, UK) e degaseificação por 10 min previamente à análise. A solução tampão fosfato 50 mM utilizada na FM era preparada a partir da mistura de 950 mL de solução dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄) 50 mM (Honeywell Riedel-de Haën,

Alemanha) (6,8045 g/L) com 50 mL de solução de hidrogenofosfato dissódico (Na_2HPO_4) 50 mM (Honeywell Riedel-de Haën, Alemanha) (7,0980 g/L) (RATNARAJ; DOHENY; PATSALOS, 1996).

3.3.1.3 PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO

A extração líquido-líquido consistia na adição, em tubo de polipropileno de 1,5 mL (LP Italiana SPA, Itália), de 100 μL de plasma de paciente a 20 μL da solução PI e 20 μL de solução de hidróxido de sódio 5 M (Honeywell Riedel-de Haën, Alemanha). A mistura era agitada por 10 s em agitador tipo vórtex. Em seguida, eram adicionados 750 μL de diclorometano (Carlo Erba, Itália), e a mistura era mantida em agitador eletrônico vórtex por 1 min. A etapa seguinte consistia na centrifugação da mistura a 14000 g por 5 min (Microfuge[®] 18 Beckman Coulter, CA, USA), o que possibilitava a retirada, com ajuda de pipeta tipo Pasteur, da camada aquosa sobrenadante. A fase orgânica remanescente era retirada cuidadosamente com outra pipeta Pasteur e transferida para tubo de vidro, sendo então submetida à secagem sob fluxo de gás nitrogênio à temperatura ambiente. O resíduo final era reconstituído em 100 μL de FM, agitado por 1 min em vórtex e centrifugado a 2000 rpm por 2 min (Beckman TJ-6[®], Beckman Coulter, CA, USA)). Dez microlitros eram injetados no sistema cromatográfico em *loop* de 20 μL .

3.3.1.4 QUANTIFICAÇÃO DE LEVETIRACETAM EM PLASMA

As curvas de calibração eram determinadas a partir de oito diferentes pontos que contemplavam o intervalo de 0 a 40 μg de LEV por mL de plasma. Os dois primeiros pontos correspondiam cada a 100 μL de plasma branco submetidos ao processo de extração detalhado acima, sendo o primeiro ponto sem PI e o segundo ponto adicionado de 20 μL de PI. Os sete pontos subsequentes correspondiam a 100 μL de cada uma das sete soluções-

padrão acima reportadas acrescidas de 20 µL de solução PI e igualmente submetidas ao processo de extração. Amostras para controle de qualidade (CQ) nas concentrações 7.5, 17.5 e 35 µg/mL eram intercaladas ao longo das análises. As curvas de calibração eram realizadas todos os dias de análises, garantindo, através das informações de equação de regressão linear ($y = ax + b$) e coeficiente de determinação (R^2), a confiabilidade dos resultados obtidos.

3.3.2 ANÁLISE DO LEVETIRACETAM E UCB L057 EM URINA

As análises do LEV e de seu principal metabólito (ucb L057) na urina foram realizadas pela técnica de HPLC com detecção UV a partir de adaptação do método proposto em literatura por Isoherranen et al. (2003).

3.3.2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES PADRÃO

O metabólito ucb L057 foi doado pela UCB Pharma (Bruxelas, Bélgica). Demais soluções, reagentes e equipamentos já citados anteriormente não terão suas informações técnicas e de procedência repetidas a partir deste ponto em diante.

A solução-mãe contendo LEV e ucb L057 era preparada em urina branca (proveniente de indivíduos sem tratamento farmacológico) para os intervalos de concentrações de 25 a 600 µg LEV/mL urina e de 10 a 240 µg ucb L057/mL urina. O procedimento de diluição desta solução para geração das oito soluções-padrão empregadas na construção das curvas de calibração encontra-se explicitado na figura 3.2 a seguir. A solução PI era preparada na concentração de 1 mg/mL de metanol.

*urina diluída = 1 mL urina branca : 1 mL água; LEV: levetiracetam.

Figura 3.2. Preparo da solução-mãe e das oito soluções-padrão contendo LEV e ucb L057 utilizadas para determinação das curvas de calibração.

3.3.2.2 INSTRUMENTAÇÃO E ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Levetiracetam e metabólito eram analisados em coluna analítica (LiChroCART) LiChrospher RP-18 (250 mm x 4 mm i.d., partículas de 5 µm) mantida a 25°C. A eluição da FM se dava de forma isocrática a 1 mL/min. A detecção UV era realizada a 210 nm.

A FM (15% acetonitrila : 85% tampão fosfato + trietilamina) era preparada de acordo com o seguinte procedimento: a 0,75 mL de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4 , 11,1 mM) (Sigma-Aldrich, EUA, 85% pureza, densidade = 1,71 g/mL) eram adicionados 1000 mL de água e 1 mL de trietilamina (J.T. Baker, Phillipsburg, USA). Retiravam-se 850 mL dessa solução e adicionavam-se 150 mL de acetonitrila. Após filtração e degaseificação por 2,5 min, o pH final era ajustado a 2,6 com ácido ortofosfórico concentrado.

3.3.2.3 PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO

Uma alíquota de 1 mL de urina era inicialmente diluída em água (1:1 v/v). Em tubo de vidro cônico com tampa rosqueada eram colocados 50 µL desta urina diluída juntamente com 20 µL de solução PI (1 mg/mL) e 100 µL de ácido clorídrico 1 M (Carlo Erba, Itália), sendo esta mistura submetida a agitação em vórtex por 5 s. A mistura era lavada com 1 mL de éter de petróleo (Carlo Erba, Itália) sob ação do agitador vórtex por 30 s e subsequente centrifugação a 4000 rpm por 5 min, o que possibilitava a separação das fases orgânica e aquosa. A fase superior (orgânica) era então removida e desprezada com a ajuda de pipeta tipo Pasteur. À fase aquosa era adicionado 1 mL de éter de petróleo, sendo a mistura submetida a agitação em vórtex por 30 s e subsequente centrifugação a 4000 rpm por 5 min. O sobrenadante era descartado e 1 mL de clorofórmio (Merck, Damstadt, Alemanha) era utilizado para extração da fase aquosa sob agitação mecânica por 15 min em mesa agitadora e posterior centrifugação a 4000 rpm por 5 min. A camada inferior da mistura (fase orgânica, composta por clorofórmio) era removida por aspiração através de pipeta tipo Pasteur e

acondicionada em tubo de vidro a parte. A fase aquosa remanescente era então re-extraída com clorofórmio seguindo estes mesmos passos. As duas fases resultantes compostas por clorofórmio obtidas do processo eram combinadas e secadas sob fluxo de ar nitrogênio à temperatura ambiente. O resíduo final era reconstituído em 50 µL de FM e, após agitação em vórtex por 1 min e centrifugação também por 1 min, era realizada injeção de 10 µL da mistura + 10 µL de FM no sistema cromatográfico, em *loop* de 20 µL.

3.3.2.4 QUANTIFICAÇÃO DE LEVETIRACETAM E UCB L057 EM URINA

As curvas de calibração contemplavam o intervalo de 25 a 600 µg de LEV por mL de urina e de 10 a 240 µg de ucb L057 por mL de urina. O primeiro ponto referia-se a 50 µL de urina branca diluída em água (1:1) submetida ao processo de extração detalhado acima. O segundo ponto da curva resultava da injeção, após procedimento de extração, de 50 µL de urina diluída em água (1:1) juntamente com 20 µL da solução PI (1 mg/mL). Para geração dos oito pontos subsequentes, 50 µL de cada uma das oito soluções-padrão acima reportadas acrescidas de 20 uL de solução de PI eram igualmente submetidas ao processo de extração detalhado. Amostras para CQ nas concentrações 75, 325 e 575 µg LEV/mL e 30, 130 e 230 µg ucb L057/mL eram intercaladas ao longo das análises. As curvas de calibração eram realizadas todos os dias, garantindo, através das informações de equação de regressão linear e R^2 , a confiabilidade dos resultados obtidos.

3.4. ANÁLISES FARMACOCINÉTICAS E ESTATÍSTICAS

O cálculo do tamanho amostral foi feito a partir da consideração do Cl/F como principal parâmetro para determinação de diferença de disposição do LEV entre os dois grupos. Sendo o Cl/F do LEV igual a 0,85 mL/min/Kg no grupo controle e aumentado em $0,25 \pm 0,22$ mL/min/Kg no grupo indutor enzimático (COUPEZ; NICOLAS; BROWNE,

2003), uma amostra de 15 indivíduos por grupo pôde ser considerada ideal para fornecer 85% de poder de detecção de diferença com um valor de probabilidade (p) de 0,05 (ALTMAN, 1997).

A partir das informações de concentrações plasmáticas do LEV encontradas para cada paciente foram estabelecidos C_{MAX} e t_{MAX} através de inspeção visual direta dos dados.

A constante de velocidade de eliminação (Kel) foi considerada como numericamente corresponde ao *slope* (inclinação) da parte final do perfil de eliminação do LEV observado na curva resultante da plotagem dos dados de logaritmo da concentração plasmática *versus* tempo.

Com a informação de Kel foi possível realizar o cálculo da $t_{1/2\beta}$ através da seguinte equação (1):

$$\boxed{Kel = \frac{0,693}{t_{1/2\beta}}} \quad (1)$$

As AUCs de concentrações plasmáticas de LEV *versus* tempo foram calculadas através da regra trapezoidal para o intervalo 0-24 h (conforme explicado previamente em “1.2 Princípios de farmacocinética”).

O valor extrapolado de $AUC_{24h-\infty}$ foi então estimado a partir da equação (2) abaixo.

$$\boxed{\frac{C_{(t)}}{Kel}} \quad (2)$$

Onde:

$C_{(t)}$ corresponde à concentração plasmática de LEV (mg/L) quantificada na última coleta (T_6).

O valor de $AUC_{0-\infty}$ para cada paciente resultou, por sua vez, do somatório dos valores das duas AUC previamente calculadas conforme descrito.

O Cl/F do LEV foi calculado para cada paciente a partir da seguinte equação (3):

$$\frac{Cl}{F} = \frac{Dose}{AUC_{0-\infty}} \quad (3)$$

O Vd/F do fármaco foi quantificado de acordo com a equação (4):

$$\frac{Vd}{F} = \frac{Dose}{AUC_{0-\infty} \cdot Kel} \quad (4)$$

Somando-se as quantidades cumulativas de LEV encontradas em cada amostra de urina de cada paciente foi possível determinar a quantidade de LEV (mg) eliminada no período das 24 horas de realização do protocolo clínico (Xu_{LEV}). O mesmo foi válido para a molécula ucb L057 (Xu_{L057}). De posse destas duas informações pudemos então realizar inferências sobre a fração eliminada como LEV inalterado na urina (fe, em %) (equação 5) e sobre a fração eliminada na urina como metabólito ucb L057 (fm, em %) (equação 6). Ressaltamos que como o peso molecular do metabólito ucb L057 é muito semelhante ao do composto parental (171 e 170, respectivamente), não houve necessidade de correção das quantidades de miligramas para μmol .

$$fe = \frac{Xu_{LEV}}{Dose} \quad (5)$$

$$fm = \frac{Xu_{L057}}{Dose} \quad (6)$$

Por “balanço total das massas” compreende-se a fração total da dose recuperada na urina, independentemente se como fármaco inalterado ou metabólito. Matematicamente tem-se que (equação 7):

$$\text{Balanço total das massas} = f_e + f_m \quad (7)$$

Ainda avaliando o perfil de eliminação do fármaco, o Cl_r de LEV foi calculado para cada paciente a partir da seguinte equação (8):

$$Cl_r = \frac{Xu_{LEV}}{AUC_{0-\infty}} \quad (8)$$

Os dados de estatística descritiva preconizaram a apresentação de informações sobre tendência central (média e mediana) e dispersão (desvio padrão e intervalo expresso pelos valores mínimo e máximo - *range*).

Para estatística inferencial foram calculados, para cada grupo de pacientes, média e desvio padrão (DP) de cada um dos parâmetros farmacocinéticos descritos acima, assim como de parâmetros clínicos e demográficos, quando pertinente. Verificada a distribuição normal das variáveis pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade das variâncias pelo teste F, o teste t de Student ($p < 0,05$; bicaudal) foi aplicado para comparação das médias dos parâmetros avaliados. Para dados que apresentaram distribuição não-normal, as comparações entre medianas foram feitas pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney ($p < 0,05$; bicaudal). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software* GraphPAD Instat[®].

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

4.1.1 QUANTIFICAÇÃO DE LEVETIRACETAM EM PLASMA

A figura 4.1 apresenta uma curva de calibração referente ao método de análise de LEV em plasma por HPLC com respectiva equação de regressão linear e R^2 .

LEV: levetiracetam; PI: padrão interno; R^2 : coeficiente de determinação.

Figura 4.1. Curva de calibração referente ao método de quantificação de LEV em plasma humano (1 a 40 mg/L).

O limite de quantificação (LQ) apresentado pelo método é de 1 $\mu\text{g/mL}$, semelhante ao reportado por Ratnaraj, Doheny e Patsalos (1996) como sendo de 0,85 $\mu\text{g/mL}$. Este importante parâmetro diz respeito ao valor que representa a concentração mais baixa da substância que pode ser quantificada pelo método com confiabilidade, ou seja, com coeficientes de variação para cálculos de precisão e exatidão $\leq 20\%$ (SWARTZ; KRULL, 1998).

A figura 4.2 apresenta os cromatogramas referentes ao método de quantificação de LEV (tempo de retenção = TR). Observar que há um pico comum no plasma (TR = 4,6 min), mas que não interfere na separação e quantificação do pico de LEV.

LEV: levetiracetam; PI: padrão interno; TR: tempo de retenção.

Figura 4.2. Cromatogramas referentes à análise de LEV em plasma humano por HPLC. A) Plasma branco; B) Plasma adicionado de LEV 5 mg/L (TR = 5,0 min) e PI (TR = 6,5 min); C) Plasma de paciente coletado 1 h após administração oral de 1000 mg de LEV (27,5 mg/L).

4.1.2 QUANTIFICAÇÃO DE LEVETIRACETAM E UCB L057 EM URINA

A figura 4.3 apresenta as curvas de calibração relativas ao método de análise de levetiracetam e ucb L057 em urina por HPLC com referentes equação de regressão linear e R^2 .

A)

B)

LEV: levetiracetam; PI: padrão interno; R^2 : coeficiente de determinação.

Figura 4.3. Curvas de calibração referentes ao método de quantificação de LEV e ucb L057 em urina. A) Curva de calibração de LEV em urina (25 a 600 mg/L). B) Curva de calibração de ucb L057 em urina (10 a 240 mg/L).

LEV: levetiracetam; PI: padrão interno; TR: tempo de retenção.

Figura 4.4. Cromatogramas referentes às análises de LEV e ucb L057 em urina humana por HPLC. A) Urina branca; B) Urina adicionada de LEV 100 mg/L (TR = 4,5 min), PI (TR = 6,3 min) e ucb L057 40 mg/L (TR = 7,4 min). C) Urina de paciente referente ao intervalo 0-12 h após administração oral de 1000 mg de LEV. As concentrações quantificadas de LEV e ucb L057 são respectivamente 78 mg/L e 38 mg/L, as quais são, em realidade, 157 mg/L e 76 mg/L, respectivamente (a urina está diluída em água na razão 1:1).

4.2 PACIENTES

A tabela 4.1 apresenta resultados de comparações entre o grupo indutor enzimático e o grupo controle em relação a aspectos demográficos como idade, peso e proporção entre indivíduos do sexo masculino (M) e do sexo feminino (F) que compuseram os grupos em estudo. A tabela também traz informações sobre a normalização da dose de LEV (1000 mg) por peso (Kg) dos pacientes.

Tabela 4.1. Comparações entre características dos pacientes selecionados para o estudo (n=30).

	Grupo	Idade (anos)	Peso (kg)	M/F	Dose LEV (mg/Kg)
	Indutor enzimático (n=15)	39,4±9,8 [19-52]	64,8±11,7 [39-82]	8/7	15,9±3,4 [12,2-25,6]
	Controle (n=15)	39,3±10,1 [19-51]	64,5±9,2 [49-82]	8/7	15,8±2,3 [12,2-20,4]
p	-	0,98	0,93	NA	0,87

Dados expressos como média±DP [range]. M/F: razão entre número de pacientes do sexo masculino (M) e do sexo feminino (F) que compuseram os grupos. p: significância da comparação entre médias obtida por aplicação do teste t de Student. NA: não se aplica. LEV: levitiracetam.

A tabela 4.2 apresenta informações sobre as DAEs utilizadas regularmente pelos pacientes do estudo. O gráfico 4.1 complementa as informações da tabela explicitando quais os esquemas terapêuticos apresentados e a forma como estavam distribuídos quantitativamente entre os indivíduos.

Tabela 4.2. Características das DAEs de uso concomitante.

DAEs de uso concomitante (mg/dia)									
Grupo indutor enzimático					Grupo controle				
CBZ	CLB	PB	PHT	OXC	LTG	CLB	CNZ	GBP	ESM
1153±457 [400-1800]	28±11 [10-40]	150±70 [100-200]	200±0 [NA]	1200±0 [NA]	488±92 [400-600]	37±17 [10-60]	4±0 [NA]	2000±0 [NA]	1000±0 [NA]

Dados expressos como média±DP [range]. NA: não se aplica (tais casos justificam-se por haver apenas um paciente em uso de medicação em questão). As médias das doses de cada medicação em uso concomitante não discriminam politerapias de monoterapias (para maiores detalhes, ver gráfico 4.1 a seguir). DAEs: drogas antiepiléticas; CBZ: carbamazepina; CLB: clobazam; PB: fenobarbital; PHT: fenitoína; OXC: oxcarbazepina; LTG: lamotrigina; CNZ: clonazepam; GBP: gabapentina; ESM: etossuximida.

Todos os pacientes estavam ou em tratamento regular com DAEs de acordo com critério de seleção ou sem tratamento farmacológico. Em complemento às informações da tabela acima, o gráfico 4.1 evidencia quais eram os esquemas de tratamento concomitante apresentados pelos pacientes.

CBZ: carbamazepina; CLB: clobazam; PHT: fenitoína; PB: fenobarbital; OXC: oxcarbazepina; LTG: lamotrigina; CNZ: clonazepam; GBP: gabapentina; ESM: etossuximida.

Gráfico 4.1. Distribuição das prescrições de DAEs concomitantes entre os pacientes do estudo.

À entrevista realizada na seleção dos indivíduos, e repetida imediatamente antes da internação referente ao protocolo clínico, foram reportados usos então vigentes das seguintes medicações não antiepiléticas: ácido fólico 5 mg/dia (por duas pacientes do grupo controle e uma paciente do grupo indutor enzimático) e maleato de enalapril 20 mg/dia (por um paciente do grupo controle). A utilização concomitante destas medicações foi julgada como não interferente sobre o estudo (PICCINELLI, 2003).

4.3 FARMACOCINÉTICA

4.3.1. ANÁLISES DE LEVETIRACETAM EM PLASMA

As médias das concentrações plasmáticas de LEV (mg/L) apresentadas pelos grupos ao longo do tempo (h) estão representadas na figura 4.5 como as respectivas curvas de logaritmo de concentração plasmática *versus* tempo após dose única oral de LEV 1000 mg. Comparações das curvas para cada par de pacientes podem ser encontradas em anexo (ANEXO 4), assim como os valores das concentrações plasmáticas de LEV encontradas a cada coleta para cada paciente (ANEXO 5).

LEV: levetiracetam. Dados relativos às médias; n=30.

Figura 4.5. Curvas das concentrações plasmáticas de levetiracetam (em logaritmo) *versus* tempo obtidas após administração de dose única oral do fármaco aos pacientes do grupo indutor enzimático e do grupo controle.

As concentrações plasmáticas de LEV nos dois grupos analisados geraram dados sobre a disposição cinética do fármaco após administração de dose oral única (tabela 4.3).

Tabela 4.3. Disposição cinética do LEV em plasma de pacientes do grupo indutor enzimático e do grupo controle após administração única oral de 1000 mg.

Parâmetro	Grupo indutor enzimático (n=15)	Grupo controle (n=15)	p
C_{MAX} (mg/L)	24,7±5,3 (23,8; 18,5-33,4)	27± 8,6 (24,1; 17,2-50,2)	**0,37
t_{MAX} (h)	1,3±0,7 (1,0; 1,0-3,0)	1,5±0,9 (1,0;1,0-3,0)	#0,53
Kel (h ⁻¹)	0,1169±0,0174 (0,1242; 0,086-0,1381)	0,0986±0,0202 (0,0931; 0,065-0,1425)	*0,01
$t_{1/2\beta}$ (h)	6,1±1 (5,6; 5,0-8,0)	7,3±1,5 (7,4; 4,9-10,6)	#0,01
$AUC_{0-\infty}$ (mg.h/L)	234,3±55 (212,8; 167,7-335,4)	295±86,1 (278,8; 200,5-561,9)	#0,02
Vd/F (L/Kg)	0,6±0,09 (0,6; 0,43-0,8)	0,57±0,09 (0,58; 0,43-0,68)	*0,45
Cl/F (mL min ⁻¹ Kg ⁻¹)	1,17±0,30 (1,19; 0,75-1,75)	0,93±0,22 (0,95; 0,58-1,3)	*0,01

Dados apresentados como média±DP (mediana; *range*). p: significância da comparação entre médias (quando da aplicação de * ou **) ou medianas (quando da aplicação de #). #: Teste de Mann-Whitney; *: Teste t de Student; **: Teste t de Student com correção de Welch, aplicada quando não é possível aceitar a igualdade das variâncias. C_{MAX} : concentração plasmática máxima; t_{MAX} : tempo necessário para atingir C_{MAX} ; Kel : constante da velocidade de eliminação; $t_{1/2\beta}$: meia-vida de eliminação; $AUC_{0-\infty}$: área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo de zero a infinito; Vd/F: volume de distribuição aparente; Cl/F: *clearance* oral aparente.

4.3.2 ANÁLISES DE LEVETIRACETAM E UCB L057 EM URINA

Dos 30 pacientes inicialmente incluídos no trabalho, 28 contribuíram com seus dados para as avaliações em urina de LEV e ucb L057 em decorrência da necessidade de descarte do material de um paciente de cada grupo por apresentarem-se inviáveis para utilização. A tabela 4.4 evidencia que a exclusão destes pacientes não alterou a normalidade da distribuição de variáveis intra-grupo ($p > 0,1$; Teste de Kolmogorov-Smirnov – dados não mostrados) nem as comparações das médias entre grupos ($p > 0,05$; Teste t de Student).

Tabela 4.4. Comparações entre características dos pacientes após exclusão de dois indivíduos para análises em urina.

	Grupo	Idade (anos)	Peso (kg)	M/F	Dose LEV (mg/Kg)
	Indutor enzimático (n=14)	38,8±9,9 [19-52]	65,1±12,1 [39-82]	7/7	15,9±3,6 [12,2-25,6]
	Controle (n=14)	39,1±10,4 [19-51]	63,8±9,2 [49-82]	7/7	15,9±2,3 [12,2-20,4]
p	-	0,92	0,75	NA	0,98

Dados expressos como média±DP [range]. M/F: razão entre número de pacientes do sexo masculino (M) e do sexo feminino (F) que compuseram os grupos. p: significância da comparação entre médias obtida por aplicação do teste t de Student. NA: não se aplica. LEV: levetiracetam.

A tabela 4.5 apresenta os parâmetros farmacocinéticos calculados a partir das quantificações de LEV e ucb L057 em urina dos pacientes do grupo indutor enzimático e do grupo controle.

Tabela 4.5. Parâmetros farmacocinéticos do LEV e seu metabólito ucb L057 calculados a partir de informações da urina dos pacientes do grupo indutor enzimático e grupo controle.

Parâmetro	Grupo indutor enzimático (n=14)	Grupo controle (n=14)	p
fe (%)	50±13	52±12	0,72
fm (%)	14±4	15±5	0,65
Balanço total das massas (%)	64±17	67±15	0,67
Cl_r (mL min⁻¹ Kg⁻¹)	0,63±0,20 (0,59; 0,27-0,99)	0,53±0,15 (0,55; 0,26-0,88)	0,12

Dados apresentados como média±DP. Informações de Cl_r também apresentam dados de (mediana; range). p: significância da comparação entre médias obtida pela aplicação do Teste t de Student. fe: fração do fármaco eliminado na urina em sua forma parental; fm: fração do fármaco eliminado na urina em forma de metabólito ucb L057; Cl_r: clearance renal.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Relativamente ao protocolo analítico delineado, temos que as metodologias realizadas para quantificação dos analitos de interesse tanto em plasma quanto em urina, previamente validadas pelo laboratório responsável pelas análises, preconizaram curvas de calibração construídas diariamente com 7 pontos não-brancos para plasma e 8 pontos não-brancos para urina (tanto para LEV quanto para ucb L057). Tais curvas foram consideradas adequadas (isto é, definiam apropriadamente a relação entre as concentrações das amostras analisadas e a resposta gerada pelo equipamento) por terem apresentado valores de R^2 sempre superiores a 0,99, conforme exemplificado nas figuras 4.1 e 4.3. Valores de $R^2 \geq 0,95$ são aceitos como suficientes para assegurar a linearidade do método para o intervalo proposto (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001). Também relevante é o fato de que o intervalo de concentrações de LEV utilizado durante as análises em plasma e o respectivo LQ (1 mg/L) são compatíveis com a realização do método tanto para propósitos de estudos de farmacocinética quanto para monitorizações terapêuticas úteis para pacientes em tratamento regular com o LEV (RATNARAJ; DOHENY; PATSALOS, 1996).

O fármaco Keppra[®] foi inicialmente aprovado pelo FDA para ser utilizado, em adultos, como terapia adjuntiva para crises epilépticas focais, com ou sem evolução para crise convulsiva bilateral (BRODIE et al., 2007; PATSALOS, 2004). Este tipo de crise epiléptica é tratado, em geral, com CBZ como monoterapia de primeira escolha, sendo este consenso amplamente difundido e aceito não apenas no Brasil (BETTING et al., 2003), mas em todo o mundo (GLAUSER et al., 2006b). Logo, a frequente associação entre LEV e CBZ é, além de prevista, comprovadamente bem sucedida por estudos de eficácia e tolerabilidade (ABOU-KHALIL; HEMDAL; PRIVITERA, 2003; GRANT; SHORVON, 2000). No presente

trabalho, o número expressivo de pacientes do grupo indutor enzimático em uso de CBZ (gráfico 4.1 e tabela 4.2) mostra-se, desta forma, compatível com a realidade atual da rotina clínica e concordante com a situação antevista para o perfil de associações do LEV. Outros trabalhos que objetivaram avaliar a farmacocinética do LEV em associação com diferentes DAEs também reportam maior proporção de pacientes em tratamento regular com CBZ em relação às outras DAEs comercialmente disponíveis e amplamente prescritas (CONTIN et al., 2004; HIRSCH et al., 2007; PERUCCA; GIDAL; BALTES, 2003).

Embora May, Rambeck e Jurgens (2003) não tenham identificado influência de diferentes doses ou concentrações plasmáticas das DAEs de uso regular sobre a disposição do LEV, faz-se importante ressaltarmos que as doses diárias das DAEs prescritas aos pacientes incluídos no presente trabalho são concordantes com o estabelecido pela World Health Organization (2008) como *Defined Daily Dose* (DDD), isto é, a dose de manutenção diária média para adultos em uso de determinada medicação em sua principal indicação. Embora a indução enzimática seja um mecanismo que se estabelece de forma mais lenta do que a inibição enzimática (SPINA; SCORDO, 2004), as doses das DAEs indutoras enzimáticas utilizadas pelos pacientes, assim como o tempo de tratamento regular estabelecido como critério de inclusão no protocolo (2 meses), são indicativos de que, nestes pacientes, a indução das enzimas do citocromo P450 já estava estabelecida.

Parâmetros demográficos tais como idade (anos), peso (Kg) e gênero (expresso pela proporção M/F), assim como o parâmetro relativo à dose de LEV normalizada para o peso corporal de cada paciente, mostraram-se distribuídos de acordo com a normalidade (Teste de Kolmogorov-Smirnov; $p > 0,1$; dado não exposto). A aplicação do Teste t de Student bicaudal para comparação das médias evidenciou quão pareados estavam os grupos em relação a tais parâmetros ($p > 0,05$; tabela 4.1). Semelhanças entre os indivíduos a serem comparados é fator relevante em estudos de farmacocinética, uma vez que idade, sexo e peso são, dentre

outras, potenciais fontes de variabilidade na disposição sistêmica de fármacos (BIRKETT, 2002).

Embora estudos de farmacocinética com dose única oral não objetivem a avaliação da ocorrência de efeitos adversos, durante as observações clínicas deste trabalho foi registrado um relato de cefaléia persistente de intensidade moderada (evento já presente no histórico da paciente), tendo sido administrados dipirona sódica e fármaco composto por tartarato de ergotamina, cafeína, paracetamol, sulfato de hiosciamina e sulfato de atropina (Ormigrein[®]). Qualquer outra eventual queixa reportada não apresentou justificativa para ser associada à ingestão do Keppra[®].

De acordo com Cereghino et al. (2000), Patsalos (2000) e Shorvon et al. (2000), doses de 1000 mg do LEV são usualmente prescritas como doses iniciais efetivas em diversas situações, considerando-se que tratamentos crônicos para epilepsia preconizam o intervalo de 500-5000 mg/dia deste fármaco. Desta forma, a dose determinada para investigação no presente estudo, embora em administração única, é condizente com práticas clínicas adotadas rotineiramente.

As quantificações de LEV em plasma após administração da dose única oral possibilitaram cálculo e comparação dos parâmetros farmacocinéticos evidenciados na tabela 4.3 e discutidos a seguir.

Parâmetros tais como C_{MAX} (mg/L) e t_{MAX} (h) são indicativos do comportamento da fase de absorção de um fármaco, na qual a evolução do aumento da concentração plasmática prevalece sobre processos de distribuição e eliminação caracterizados pelo padrão descendente da curva de concentração plasmática *versus* tempo (YACUBIAN, 2004). A diferença não significativa ($p > 0,05$) entre os dois grupos avaliados em relação a estes dois parâmetros sugere a semelhança do processo de absorção entre ambos relativamente à extensão (quantidade absorvida, evidenciada pelo valor de C_{MAX}) e taxa (quantidade de

fármaco absorvida em função do tempo decorrido, evidenciado por t_{MAX}). As médias de C_{MAX} encontradas (24,7 e 27,0 mg/L) assemelham-se à indicada por Patsalos (2000) como comparável entre indivíduos adultos saudáveis e com epilepsia (aproximadamente 31 µg/mL após dose única de LEV 1000 mg).

As estimativas de t_{MAX} dos dois grupos se mostraram não divergentes estatisticamente ($p > 0,05$) através da aplicação de teste não-paramétrico de Mann-Whitney (tabela 4.3). Em termos de médias (1,3 vs 1,5 h), nossos achados mostraram-se concordantes com dados reportados na literatura para pacientes adultos (PATSALOS, 2000, 2003; PERUCCA; JOHANNESSEN, 2003). Porém, julgamos relevante a realização de Teste Exato de Fisher (dados não mostrados) ante o perfil dicotômico da variável t_{MAX} . Esta ferramenta estatística evidenciou que embora haja uma proporção ligeiramente maior de pacientes que atingem t_{MAX} em 3 horas no grupo controle em relação ao grupo indutor enzimático, não é possível estabelecer correlação entre DAEs de uso concomitante e t_{MAX} ($p > 0,05$). Os resultados de C_{MAX} e t_{MAX} corroboram a amplamente discutida robustez da absorção do LEV quando avaliada em função de diferentes doses (mg/Kg) e co-medicações. Fármacos com perfil de absorção favorável, como o LEV, são importantes especialmente no contexto da epilepsia, em que as frequentes politerapias podem influir na absorção do fármaco tanto em termos de extensão quanto de taxa, comprometendo o sucesso da terapêutica.

Embora tenhamos encontrado concordância com a literatura em respeito a dados relativos à absorção da dose oral de LEV, optamos por manter o parâmetro farmacocinético F como uma incógnita nos cálculos em que sua presença se faz necessária para caracterizar que a administração do fármaco foi feita por via oral. Consideramos que embora usualmente adote-se a biodisponibilidade do LEV como sendo de 95% a 100% (ABOU-KHALIL, 2008; PATSALOS, 2003, 2004), mais estudos são necessários para que este parâmetro possa ser

adotado indiscriminadamente como equivalente a 1 (100%), e consequentemente suprimido de certas equações.

A partir do momento em que os processos de distribuição e eliminação do fármaco em análise passam a ser mais significativos para a sua disposição cinética do que os processos de absorção, observa-se que os respectivos valores de concentração plasmática passam a decair em função do tempo (YACUBIAN, 2004). Inicialmente, processos de distribuição do fármaco pelos diferentes compartimentos corporais explicam um decaimento que pode ser bastante pronunciado, característico de fármacos com ampla distribuição tecidual ($V_d \geq 1 \text{ L/Kg}$), ou praticamente indistinto do decaimento referente à eliminação fármaco, característico de fármacos com menor valor de V_d . De acordo com Patsalos (2000) e Strolin Benedetti et al. (2003), o V_d do LEV (entre 0,5 e 0,7 L/Kg) assemelha-se ao V_d da água corporal total (cerca de 0,55 L/Kg), o que permite-nos interpretar sua distribuição como sendo monocompartimental. Os dados de V_d/F encontrados no presente estudo ($0,57 \pm 0,09$ vs $0,6 \pm 0,09 \text{ L/kg}$; tabela 4.3) são condizentes com o reportado previamente na literatura, e a não diferença entre as médias ($p > 0,05$) deste parâmetro para cada grupo avaliado sugere que a fase de distribuição do LEV é indiferente entre pacientes em uso de medicações indutoras e não indutoras enzimáticas.

A etapa farmacocinética mais determinante neste perfil de decaimento das concentrações plasmáticas do fármaco é a sua eliminação irreversível, seja por conversão a metabólito estruturalmente distinto do composto parental ou por eliminação de sua forma inalterada da circulação sistêmica via excreção, sendo a renal a mais significativa para grande parte dos fármacos (BIRKETT, 2002). A partir das curvas mostradas na figura 4.5 foi possível obter os valores de K_{el} , conforme explicado em “Casuística e métodos”. As médias calculadas para os grupos indutor enzimático e controle mostraram-se diferentes significativamente ($p < 0,05$) ao serem comparadas ($0,1169$ vs $0,0986 \text{ h}^{-1}$ respectivamente;

tabela 4.3). Logo, é possível interpretarmos que o fármaco foi eliminado ao longo do tempo em proporções diferentes por cada grupo, ou seja, surge uma primeira evidência de que alguma característica intrínseca ao grupo tem poder para exercer influência significativa sobre a eliminação irreversível do fármaco.

A meia-vida de eliminação ($t_{1/2\beta}$), sendo uma função recíproca de K_{el} (equação 1) e um parâmetro determinado por V_d e Cl (conforme equação 9 abaixo), pode também ser interpretada como um dado indicativo de informações sobre a eliminação de um fármaco, embora não seja considerada um parâmetro fundamental da farmacocinética (BIRKETT, 2002):

$$t_{1/2\beta} = \frac{0,693 \cdot V_d}{Cl} \quad (9)$$

Em virtude da distribuição não Gaussiana dos valores de $t_{1/2\beta}$ (h), optamos pela aplicação do teste não-paramétrico de Mann-Whitney para comparação das medianas referentes a cada grupo avaliado, tendo sido encontrada diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$; tabela 4.3) entre tais valores. Para analisarmos estes resultados em relação ao comentado na literatura sobre o LEV, o cálculo das médias de $t_{1/2\beta}$ (h) mostra-se mais adequado, tendo sido encontradas $6,1 \pm 1,0$ h para o grupo indutor enzimático e $7,3 \pm 1,5$ h para o grupo controle. Observa-se que, mesmo em pacientes em uso de DAEs indutoras enzimáticas, o valor médio de $t_{1/2\beta}$ situa-se dentro do intervalo reportado por estudos prévios realizados em voluntários adultos sadios (6-8 h) (PATSALOS, 2000; RADTKE, 2001). Este achado é concordante com o relatado por Perucca, Gidal e Baltes (2003) a partir da análise do perfil farmacocinético do LEV (em doses múltiplas) em pacientes adultos em tratamento regular com outras DAEs (agrupadas de acordo a existência ou ausência de potencial para indução enzimática). É importante observarmos, a partir da equação 9 acima, que, em comparação ao grupo controle, o menor valor de $t_{1/2\beta}$ apresentado pelo grupo indutor

enzimático pode decorrer ou de Vd diminuído ou de Cl aumentado. Conforme previamente discutido, os valores de Vd/F (L/Kg) não diferem estatisticamente entre os grupos avaliados, sugerindo, desta forma, que o parâmetro farmacocinético Cl/F possa ser um fator determinante para a diferença de $t_{1/2\beta}$ observada entre os grupos de pacientes.

Os cálculos de AUC efetuados a partir de informações individuais (ANEXOS 4 e 5) possibilitam o estabelecimento de um importante panorama sobre a disponibilidade sistêmica do fármaco em termos de grupos de indivíduos. De acordo com a equação 3, o perfil da $AUC_{0-\infty}$ é determinado exclusivamente pela dose administrada (mg) e pelo Cl/F (BIRKETT, 2002). Sabendo que a dose administrada aos dois grupos foi a mesma (1000 mg), os perfis de disponibilidade do LEV divergentes ($AUC_{0-\infty}$ 212,8 vs 278,8 mg.h/L; $p < 0,05$, tabela 4.3) passam a ter como o Cl/F o principal fator potencialmente modificador da disposição farmacocinética, corroborando a sugestão anteriormente discutida a partir dos dados de $t_{1/2\beta}$ encontrados.

Dispondo dos valores de $AUC_{0-\infty}$ foi então possível calcular o Cl/F ($\text{mL min}^{-1}\text{Kg}^{-1}$) do LEV para cada paciente. Os resultados encontrados confirmaram consistentemente as hipóteses outrora aventadas de que o Cl/F seria o principal fator divergente entre os dois grupos com potencial para alterar significativamente o perfil de disposição farmacocinética do medicamento ($1,17 \pm 0,3$ vs $0,93 \pm 0,22 \text{ mL min}^{-1}\text{Kg}^{-1}$, $p < 0,05$; tabela 4.3).

De acordo com Contin et al. (2004) e Perucca, Gidal e Baltes (2003), a diferença de gêneros entre os pacientes alocados em um mesmo grupo de estudo pode ser uma importante fonte de variabilidade sobre resultados de parâmetros farmacocinéticos. Objetivando avaliar o potencial impacto deste fator inerente aos indivíduos sobre os dados de Cl/F encontrados em nosso trabalho realizamos a comparação deste parâmetro entre gêneros, não tendo sido encontradas diferenças significativas (dados não mostrados) tanto para a comparação de Cl/F

de homens *versus* mulheres do grupo indutor enzimático (teste t de Student, $p = 0,97$) quanto para o grupo controle (teste t de Student, $p = 0,99$).

A diferença da disposição cinética do LEV constatada quando da comparação entre indivíduos em tratamento com DAEs indutoras enzimáticas e com DAEs sem esta característica foi também evidenciada por Contin et al., (2004), Hirsch et al., (2007) e Perucca, Gidal e Baltes (2003) através do cálculo de depuração em pacientes em tratamento regular com LEV, conforme discutidos a seguir. May, Rambeck e Jurgens (2003), pautados em cálculos de LDR (*level-to-dose ratio*, $(\mu\text{g/mL})/(\text{mg/Kg})$), também relatam semelhante achado.

Em um importante trabalho (*pooled analysis*), Perucca, Gidal e Baltes (2003) avaliaram informações de quatro estudos duplo-cegos fase III de adição de LEV ou placebo como terapia adjuntiva a um total de 1023 pacientes adultos com epilepsia fármaco-resistente. Destes, 590 preenchiam os critérios para inclusão nos estudos farmacocinéticos do LEV, tendo sido então agrupados de acordo com as medicações de que já faziam uso prévio (um grupo com DAEs que não afetam as funções das enzimas de oxidação do sistema P450: GBP, LTG, VGB; um grupo com DAEs indutoras enzimáticas: CBZ, PB, PHT, PRM, as quais poderiam estar associadas às drogas do primeiro grupo; e outros dois grupos caracterizados pela presença de VPA, sendo um com pacientes em monoterapia ou com VPA associado às medicações do primeiro grupo e o outro grupo de pacientes com VPA associado às drogas do segundo grupo). Os autores encontraram o Cl/F do LEV ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{Kg}^{-1}$) aumentado em 20-30% quando este fármaco estava associado às DAEs indutoras enzimáticas. Em concordância, Contin e colaboradores (2004), em estudo com 100 pacientes adultos com epilepsia em tratamento regular com LEV, encontraram o Cl/F ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{Kg}^{-1}$) deste fármaco aproximadamente 30% maior nos pacientes em uso de DAEs indutoras enzimáticas quando comparados aos pacientes em tratamento com DAEs não indutoras enzimáticas. Em relação à

influência do VPA sobre a cinética do LEV, os autores de ambos os trabalhos avaliam uma possível inibição enzimática caracterizada pelo aumento das concentrações plasmáticas e da meia-vida do LEV. Ao delinear o presente estudo descartamos a inclusão de qualquer paciente em uso de VPA ante a divergência das informações encontradas na literatura sobre a potencial influência deste fármaco sobre a cinética do LEV (CONTIN et al., 2004; COUPEZ; NICOLAS; BROWNE, 2003; MAY; RAMBECK; JURGENS, 2003; PERUCCA; GIDAL; BALTES, 2003; STROLIN BENEDETTI et al., 2003).

Já Hirsch e colegas (2007) analisaram não apenas os efeitos das DAEs concomitantes, mas também a influência da idade sobre a disposição do LEV em pacientes com epilepsia. Em relação às medicações, seus grupos foram divididos de acordo com o uso de indutores enzimáticos tradicionais e não indutores, não estando claro se pacientes com VPA foram incluídos nesta última amostra. Além de encontrarem Cl/F do LEV (mL/h/Kg) 24% maior no grupo de pacientes em tratamento com indutores enzimáticos, os autores estabeleceram, através do cálculo de regressão linear, o fator “co-medicação com DAE indutora enzimática” como sendo um preditor significativo do aumento do *clearance* do LEV. Os autores também avaliaram possíveis diferenças do perfil farmacocinético deste medicamento em amostras pareadas, ou seja, em um mesmo paciente quando em uso regular de DAEs indutoras enzimáticas concomitantemente ao LEV e após a retirada de tais medicações. Interessantemente, o impacto da indução enzimática sobre a disposição do LEV mostra-se ainda maior neste caso, sendo o *clearance* cerca de 37% maior durante o período de tratamento com indutores enzimáticos quando comparado ao período de tratamento sem estes.

De acordo com os trabalhos discutidos acima, as comparações (em %) entre os valores de Cl/F do LEV dos grupos de pacientes avaliados mostram-se maiores do que o resultado encontrado pelo nosso estudo, de aproximadamente 20%. É possível que este fato se deva ao delineamento adotado pelos demais trabalhos, os quais preconizaram o cálculo de

concentrações plasmáticas a partir de amostras únicas coletadas antes da administração de nova dose do LEV, o qual se encontrava sendo administrado em doses múltiplas. Segundo Hirsch e colaboradores (2007), cálculos assim realizados tendem a superestimar valores de *clearance*.

Em abordagem mais específica, é importante lembrarmos, de acordo com o exposto previamente, que o Cl/F (chamado também de *clearance* sistêmico ou total), adotado no presente estudo como o principal parâmetro indicativo de diferenças na disposição cinética do LEV entre os dois grupos, é, na realidade, a soma de todos os processos de depuração sofridos pelo fármaco, incluindo-se Cl_r e todos os demais *clearances* que originam metabólitos primários (abaixo tratados genericamente por *clearances* de formação, Cl_f), independentemente do tecido em que ocorrem (BIALER, 2005; BIRKETT, 2002), conforme equação 10 abaixo:

$$Cl = Cl_r + Cl_{f1} + Cl_{f2} + Cl_{f3} + \dots + Cl_{fn} \quad (10)$$

Neste contexto, as análises realizadas em amostras de urina permitem uma melhor compreensão dos fatores que podem alterar o perfil de disposição cinética do LEV com impacto direto sobre os valores de Cl/F. Ademais, não há até então descritas na literatura análises de amostras de urina provenientes de pacientes adultos com epilepsia após administração de dose única do LEV tais quais as realizadas por este estudo.

Embora todos os pacientes selecionados tenham finalizado o protocolo clínico sem intercorrências, as comparações envolvendo dados de urina foram feitas a partir da retirada de um paciente de cada grupo em decorrência da inviabilidade técnica de utilização de suas amostras. A tabela 4.4 mostra que esta decisão não afetou o pareamento dos grupos.

De acordo com o apresentado na tabela 4.5, não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os dois grupos no que diz respeito à fração de droga eliminada

inalterada na urina (fe) nem à fração da droga eliminada como metabólito (fm). A comparação do balanço total das massas também não mostrou haver diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$). A porcentagem total da dose administrada recuperada na urina mostrou-se, para ambos os grupos (64 vs 67 %), inferior ao relatado na literatura, de aproximadamente 90% (PATSALOS, 2000; STROLIN BENEDETTI et al., 2003). Este dado, porém, foi obtido a partir de amostras de voluntários sadios, e, sabidamente, esta situação pode não ser representativa do contexto clínico tanto em relação à presença da doença *per se* quanto em relação aos efeitos do tratamento farmacológico de longo prazo a que estão submetidos os pacientes.

Informações sobre a quantidade de LEV eliminada inalterada na urina ($X_{u,LEV}$) e sua disposição plasmática ($AUC_{0-\infty}$) possibilitam o cálculo de Cl_r , conforme equação 8. Este parâmetro também se mostrou não significativamente diferente entre os grupos ($p > 0,05$), embora seja numericamente maior no grupo indutor enzimático do que no grupo controle.

Diante deste panorama farmacocinético contextualizado pelos resultados obtidos, em que o Cl/F do fármaco é estatisticamente diferente entre os dois grupos embora ambos eliminem tanto o composto parental quanto o metabólito em quantidades semelhantes, duas principais teorias podem ser consideradas para compreensão e explicação dos dados encontrados.

1) Aumento da conversão de levetiracetam a ucb L057 e interações competitivas em túbulo renal proximal

Embora a principal via de eliminação do LEV continue sendo a renal (RADTKE, 2001; STROLIN BENEDETTI et al., 2003; WELTY et al., 2002), a formação do metabólito ucb L057 é a segunda via de maior contribuição para a eliminação irreversível do fármaco da circulação sistêmica.

O composto ucb L057 é, sabidamente, um ácido carboxílico formado por hidrólise enzimática do grupo acetamida presente na molécula do LEV (RADTKE, 2001). Apesar de não haver, até o momento, conclusões sobre qual seria a enzima específica mediadora desta reação, diferentes trabalhos têm sido realizados com o propósito de esclarecer esta questão. O primeiro estudo *in vitro* realizado nesta área avaliou o perfil de inibição apresentado pela enzima em investigação quando exposta a diferentes compostos com reconhecida capacidade inibitória. Os resultados apontaram para a potencial contribuição de uma esterase tipo B presente majoritariamente no sangue e que cuja ação seria independente do sistema microsomal hepático (COUPEZ; NICOLAS; BROWNE, 2003). A identificação da enzima como pertencente à família das esterases tipo B já figurou importante contribuição para o avanço do entendimento do metabolismo do LEV, embora a sua caracterização definitiva possa ter sido dificultada pelo fato de que a especificidade das ligações envolvendo esterases é, em geral, bastante genérica, incluindo-se vários fármacos de diferentes classes na gama de potenciais substratos (ALDRIDGE, 1993). Strolin Benedetti e colaboradores (2003), em estudo *in vivo*, corroboraram os achados de Coupez, Nicolas e Browne (2003), acrescentando, ainda, se tratar possivelmente de uma esterase presente comprovadamente em eritrócitos e tecido hepático.

Conforme comentado por Hirsch e colegas (2007), não é possível afirmar incontestavelmente que a atividade da hidrolase envolvida no metabolismo do LEV sofra indução provocada por fármacos tais como as DAEs indutoras enzimáticas comumente prescritas na prática clínica. De fato, quando comparadas a outras enzimas metabolizadoras de xenobióticos, tais como as pertencentes ao sistema P450, as esterases de modo geral apresentam menor propensão a terem sua atividade aumentada (STROLIN BENEDETTI et al., 2003). Os autores, porém, reconhecem a importância dos trabalhos que evidenciam, *in vitro*, que hidrolases envolvidas no metabolismo de fármacos podem ter sua atividade

aumentada, sendo inclusive o PB considerado um potente agente indutor de tais enzimas, especialmente quando administrado em altas doses e por longos períodos (KAUR; ALI, 1983; NOUSIAINEN; HÄNNINEN, 1981; SATOH; HOSOKAWA, 2006; SATOH; MOROI, 1977; SCHWARK; ECOBICHON, 1968; TYBRING et al., 1981). Embora conclusões acerca da real indução sofrida por esterases ainda não tenham sido estabelecidas (KAUR; ALI, 1983; PUCHE et al., 1989), a possibilidade de que elas tenham sua atividade catalítica aumentada pela administração de DAEs indutoras enzimáticas não deve ser negligenciada.

Desta forma, considerando-se que a indução da atividade conversora de LEV a ucb L057 pode estar presente no contexto dos pacientes aqui classificados como pertencentes ao grupo indutor enzimático, esperaríamos que a maior formação do metabólito se refletisse em maior quantidade deste composto na urina em relação ao mensurado para o grupo controle, o que, entretanto, não é condizente com os resultados encontrados (tabela 4.5).

Conforme previamente discutido neste trabalho, a eliminação do metabólito ucb L057 ocorre principalmente via secreção tubular ativa (PATSALOS, 2004), processo este que se dá no túbulo renal proximal e é mediado por transportadores que deslocam, com gasto de energia, determinados compostos da circulação sistêmica para o interior do túbulo renal de acordo principalmente com suas características de ionização (BIRKETT, 2002). Duas importantes características do mecanismo de transporte ativo são sua capacidade de saturação e a possibilidade de ocorrência de interações competitivas entre os compostos que são substratos de um mesmo transportador, sendo esta última característica uma potencial fonte de interações medicamentosas (BIRKETT, 2002).

A *Multidrug Resistance Protein 2 (MRP2)* é um importante transportador expresso na barreira hematoencefálica, rins e intestino que age significativamente na extrusão de xenobióticos do LCR e circulação sanguínea (GERK; VORE, 2002). De acordo com estes

autores, a atividade deste transportador é fortemente inibida pelo probenecid, o que nos sugere que esta proteína pode também ter atuação na eliminação do ucb L057 em nível renal.

Interessantemente, algumas DAEs são avaliadas como substratos de transportadores ativos. Faz-se importante ressaltarmos que a maior parte dos trabalhos discutidos a seguir foi realizada objetivando principalmente inferências sobre este mecanismo de transporte ativo na barreira hematoencefálica. Estudos envolvendo tecido renal ainda são escassos, embora haja resultados consolidados na literatura especialmente no que diz respeito a inibições provocadas por probenecid.

A CBZ é considerada por muitos autores um substrato de várias proteínas transportadoras expressas não somente nos rins, mas também no fígado e na barreira hematoencefálica, dentre elas a *MRP2* e a glicoproteína P (Pgp), o que aponta para seu potencial para competição com outros substratos destes transportadores (KIMURA et al., 2007; MARTIN et al., 2000; POTSCHKA; FEDROWITZ; LOSCHER, 2001, 2003; RIZZI et al., 2002). Hung et al. (2008) e Weiss et al. (2003) argumentam, entretanto, que a CBZ não é transportada pela Pgp, embora possa ser considerada uma inibidora fraca de sua atividade. De acordo com Gutmann et al. (1999), inibidores de Pgp podem também inibir outros transportadores, conforme comprovado *in vitro* para *MRP2*.

Potschka, Fedrowitz e Loscher (2003) discutem que o PB também é substrato da *MRP2*, fato este evidenciado inclusive por trabalho em que a administração de probenecid provocou alteração direta na mensuração da ação farmacodinâmica do PB.

Em um recente estudo cuja metodologia inovadora possibilitou desconsiderar a permeabilidade de membranas biológicas na passagem de moléculas entre dois meios de gradientes distintos (avaliando assim de forma mais precisa o papel das proteínas no transporte ativo), Luna-Tortos, Fedrowitz e Loscher (2008) concluíram que *MRP2* e Pgp estão

envolvidas no transporte de drogas como PB, PHT e do próprio LEV, cuja molécula é estruturalmente muito semelhante à do ucb L057.

Diante destas evidências, consideramos a hipótese de que o ucb L057, provavelmente produzido em maior quantidade pelas enzimas hidrolíticas induzidas, não tenha conseguido passar pelos carreadores renais já inibidos e/ou saturados pelas moléculas das DAEs indutoras enzimáticas, justificando, desta forma, o fato de não termos encontrado um maior valor de “fm” quando da análise das amostras de urina do grupo em uso de tais fármacos. Embora o real papel e a importância destas proteínas transportadoras ainda seja uma problemática complexa e com opiniões controversas no que tange análises envolvendo DAEs (BRANDT et al., 2006; GIESSMANN et al., 2004; VAN VLIET et al., 2006), é fato que esta área tem sido cada vez mais investigada e considerada como clinicamente relevante.

Nosso trabalho mostra uma limitação em avaliar com maior precisão este cenário por não ter realizado quantificações de ucb L057 em plasma. Em posse deste dado, e caso confirmada a esperada diferença entre os grupos, seria possível afirmar de forma contundente que os pacientes do grupo indutor enzimático de fato converteram mais LEV a ucb L057, embora tal achado não tenha se refletido nos dados obtidos a partir das amostras de urina.

Em concordância com as hipóteses infra dispostas, a maior formação de ucb L057 pelos pacientes do grupo indutor enzimático implicaria na menor quantidade de LEV mensurável na urina dos indivíduos deste grupo, o que não condiz com o encontrado nas análises (tabela 4.5). Conforme discutida na introdução deste trabalho, a eliminação renal do LEV em sua forma inalterada ocorre principalmente por filtração glomerular (PATSALOS, 2004), processo cuja eficiência pode ser estimada através do cálculo do *clearance* da creatinina (Cl_{cr}) a partir de dados de creatinina presente em soro ou urina. Quando a eliminação de um fármaco é diretamente proporcional às taxas de Cl_{cr} , como no caso do LEV, esta abordagem é útil para ajuste de doses em situações, por exemplo, de comprometimento

da função renal ou idade do paciente superior a 65 anos (FRENCH, 2001; HIRSCH et al., 2007). Como dispúnhamos dos valores de creatinina sérica de todos os pacientes (exame realizado quando da seleção para inclusão no protocolo), calculamos o Cl_{cr} para cada indivíduo de acordo com o proposto por Cockcroft e Gault (1976) (equação 11), ressaltando que, em se tratando de pacientes do sexo feminino, o resultado obtido para Cl_{cr} foi multiplicado por 0,85:

$$Cl_{cr} = \frac{(140 - \text{idade em anos}) \cdot (\text{peso em Kg})}{72 \cdot \text{creatinina sérica em mg/dL}} \quad (11)$$

Os resultados encontrados em termos de média para cada grupo foram então comparados pelo teste t Student bicaudal, não tendo sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre ambos ($p = 0,0664$; grupo indutor enzimático: 109,9 vs grupo controle: 93,7 mL/min).

Entretanto, é importante observarmos que a produção de creatinina depende da massa muscular do indivíduo, fator este que se relaciona estreitamente a dados de altura e peso. Os pacientes incluídos no protocolo não estavam pareados para altura, o que pode justificar dados de Cl_{cr} abaixo do normal (< 60 mL/min) encontrados em pacientes de baixa estatura que todavia apresentavam creatinina sérica normal e idade abaixo de 60 anos, ou seja, sem indícios de comprometimento das funções renais. Com isto, uma opção avaliada foi a normalização dos resultados individuais de Cl_{cr} pela informação de área de superfície corporal (*Body Surface Area* – BSA), obtida a partir da aplicação da fórmula de DuBois e DuBois (1916) (equação 12, sendo “P” o peso corporal em Kg e “A” a altura em centímetros). Esta normalização consiste em multiplicar o valor obtido para Cl_{cr} pela razão entre $1,73 \text{ m}^2$ (BSA adotada como padrão para indivíduos adultos) e a BSA fornecida pela equação de DuBois e DuBois.

$$BSA = (P^{0,425} \cdot A^{0,725}) \cdot 0,007184 \quad (12)$$

A comparação entre as médias então apresentadas pelos grupos foi realizada por teste t de Student bicaudal, tendo sido encontrada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,02$) para este parâmetro, com a média maior apresentada pelo grupo indutor enzimático ($110,5 \pm 19,2$ vs $94,6 \pm 16,6$ mL/min). Embora não tenhamos objetivado estabelecer uma relação entre Cl_{cr} e tratamento farmacológico, estes resultados são sugestivos de que a filtração glomerular aumentada evidenciada pelo maior *clearance* da creatinina (somente quando da sua normalização para dados de superfície corporal) pode ter influenciado a eliminação do LEV inalterado no grupo indutor enzimático, resultando em quantidades do fármaco parental em urina equiparáveis entre os dois grupos.

2) *Indução da atividade das enzimas conversoras do fármaco aos metabólitos 2 e 4*

Uma segunda teoria para interpretação dos dados obtidos baseia-se no trabalho realizado por Strolin Benedetti e colaboradores (2003) com 4 voluntários sadios do sexo masculino aos quais foi administrada dose única oral de LEV 500 mg marcado com ^{14}C objetivando principalmente traçar o perfil de metabolismo do fármaco. A avaliação da urina dos voluntários evidenciou, após 48 h de acompanhamento, dois principais componentes radioativos, o LEV inalterado (66%) e o ucb L057 (24%).

Os autores identificaram também a ocorrência de metabolismo oxidativo mediado por enzimas do citocromo P450 gerando dois metabólitos referidos por 2 e 4 (figura 1.5). Embora a contribuição de ambos para a eliminação total do LEV não ultrapasse 2,5% da dose administrada, a influência de DAEs indutoras enzimáticas sobre as suas taxas de formação, e consequentemente sobre o perfil de disposição do fármaco, não deve ser negligenciada. Desta forma, apesar de não termos quantificado a produção destes metabólitos em nosso estudo, a

formação deles provavelmente aumentada no grupo indutor enzimático pode ter cooperado, em certa extensão, para o perfil farmacocinético diferenciado do LEV apresentado por tais pacientes.

Comportamento farmacocinético semelhante ao apresentado pelo LEV ante a associação com DAEs indutoras enzimáticas também foi identificado em estudos sobre a disposição cinética do TPM a partir de análises do fármaco inalterado e seus metabólitos em plasma e urina (MIMROD et al., 2005). O TPM, assim como o LEV, também é uma DAE minimamente metabolizada, em voluntários sadios, pelas enzimas do sistema microssomal hepático. Ao avaliarem o perfil farmacocinético deste medicamento quando associado à CBZ, os autores encontraram seus valores de Cl_r e Cl/F maiores do que os identificados em voluntários sadios ou em pacientes adultos em tratamento com DAEs não indutoras enzimáticas. Porém, no caso do TPM, diferentemente do LEV, os metabólitos comprovadamente originados por intermédio de enzimas oxidativas contribuem em maior extensão para o perfil farmacocinético desta DAE, podendo esta ser, ao menos em parte, uma justificativa plausível para o perfil farmacocinético diferenciado do TPM quando associado à CBZ.

O principal objetivo do estudo apresentado foi a comparação dos perfis farmacocinéticos do LEV apresentados por pacientes em utilização de DAEs com diferentes características farmacológicas em um delineamento envolvendo pacientes adultos e administração de dose única oral da medicação. Nossos dados farmacocinéticos não divergem amplamente dos apresentados por outros trabalhos, embora nossas análises em urina tenham possibilitado a construção de teorias consubstanciadas para a explicação do processo que vemos refletido especialmente no decurso das concentrações plasmáticas de LEV em pacientes em uso de DAEs indutoras enzimáticas.

A utilização do LEV tende a aumentar cada vez mais na prática clínica, haja vista que seus benefícios em termos de eficácia e tolerabilidade são comprovados (SHORVON; RIJCKEVORSEL, 2002). Apesar de sua ocorrência já ter sido previamente evidenciada, a alteração na farmacocinética do LEV é alvo constante de discussões clínicas, sendo a sua relevância para o sucesso do tratamento amplamente questionada e por vezes assumida como insignificante (CONTIN et al., 2004; COUPEZ; NICOLAS; BROWNE, 2003; MAY; RAMBECK; JURGENS, 2003; PATSALOS, 2000, 2003, 2004; RADTKE, 2001; STROLIN BENEDETTI et al., 2003; WELTY et al., 2002). Porém, considerando-se que o LEV foi aprovado primordialmente para prescrição como terapia adjuntiva, e que em grande parte dos casos ele estará associado a pelo menos uma DAE indutora enzimática, o impacto clínico do seu perfil de disposição alterado mostra-se relevante para os pacientes que vierem a fazer uso de tais associações. Faught (2001) e Perucca, Gidal e Baltes (2003) alertam para o fato de que sempre que uma associação medicamentosa se fizer necessária, a atenção clínica deve ser redobrada, sendo isto válido particularmente para o contexto da epilepsia, em que as associações que resultam em interações medicamentosas são bastante frequentes (PATSALOS et al., 2002).

Embora as limitações do trabalho e a complexidade dos sistemas envolvidos na disposição cinética do LEV não tenham possibilitado elucidacões claras dos mecanismos que explicam o perfil farmacocinético observado, situações de associação deste medicamento a regimes pré estabelecidos com DAEs indutoras enzimáticas, independentemente se estas serão mantidas ou retiradas posteriormente, não podem, indubitavelmente, ter sua importância clínica diminuída ou negligenciada (HIRSCH et al., 2007; PERUCCA; GIDAL; BALTES, 2003). Um aumento no Cl/F do LEV implica em menores concentrações plasmáticas ao longo do tempo, e, embora a janela terapêutica deste fármaco seja ampla, cada paciente responde de maneira única às flutuações nas concentrações plasmática dos medicamentos de que faz uso.

Expor o paciente ao risco de recorrência de crises pode, desta forma, ter consequências importantes tanto sobre aspectos psico-sociais quanto clínicos, especialmente para os pacientes que necessitam de politerapia, ou seja, que já apresentam certo grau de dificuldade de controle de crises. Ainda, alterações farmacocinéticas não acompanhadas cuidadosamente e esclarecidas ao paciente podem prejudicar a adesão ao tratamento, usualmente gerando a falsa interpretação de que o medicamento não está sendo eficaz (RADTKE, 2001).

O perfil farmacocinético do LEV o classifica, indubitavelmente, como uma DAE com claras vantagens clínicas em termos de tolerabilidade, eficácia e segurança. Entretanto, o seu metabolismo pouco dependente de vias hepáticas oxidativas não implica necessariamente que outras DAEs com propriedades inibidoras ou indutoras enzimáticas não possam afetar a sua disposição cinética. Esta questão assume maior relevância ao considerarmos que o LEV será, na maior parte dos casos, prescrito associado a outra(s) DAE(s). Desta forma, para que a qualidade de vida do paciente seja objetivo de importância maior no contexto da terapêutica da epilepsia, a conduta clínica deve ser pautada tanto em considerações individuais quanto em conhecimentos farmacológicos específicos, tais quais os aqui elucidados para o caso do levetiracetam.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem que:

- O perfil de absorção do LEV independe das características e doses das medicações utilizadas concomitantemente;
- Sua distribuição tecidual é indistinta entre os dois grupos de pacientes avaliados;
- A diferença na disposição plasmática do LEV reflete a alteração em *clearance* oral aparente observada em pacientes em tratamento com medicações indutoras enzimáticas;
- Em decorrência do *clearance* acelerado em pacientes que utilizam medicações indutoras enzimáticas, a meia-vida de eliminação do LEV encontra-se diminuída, embora ainda concordante com o identificado normalmente na literatura para indivíduos sadios;
- Embora o *clearance* oral aparente seja significativamente diferente entre os dois grupos avaliados, a excreção renal do LEV continua sendo a contribuição mais importante para o seu perfil de eliminação;
- O LEV é uma medicação antiepiléptica aprovada para utilização como terapia adjuntiva. Sua indicação para tratamento de crises focais em adultos implica que, na maior parte dos casos, ele será associado a esquema terapêutico prévio com medicação indutora enzimática. Desta forma, seu potencial para interação farmacológica de diferentes naturezas (envolvendo metabolismo e/ou excreção), se negligenciado, pode comprometer a eficácia da terapêutica proposta, expondo o paciente a situações tanto clínica quanto psico-socialmente prejudiciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-KHALIL, B. Levetiracetam in the treatment of epilepsy. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v.4, n.3, p.507-523, 2008.

ABOU-KHALIL, B.; HEMDAL, P.; PRIVITERA, M.D. An open-label study of levetiracetam at individualised doses between 1000 and 3000 mg day(-1) in adult patients with refractory epilepsy. **Seizure**, v.12, n.3, p.141-149, 2003.

ALDRIDGE WN. The esterases: perspectives and problems. **Chemico-biological Interactions**, v.87, p.5-13, 1993.

ALEXANDRE, V. Jr. **Um estudo sobre fármaco-resistência e a potencial utilidade de uma intervenção para reduzir os efeitos adversos em pacientes com epilepsia refratária**. 113 f. Tese (Doutorado em Neurologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

ALLEGAERT, K. et al. Levetiracetam pharmacokinetics in neonates at birth. **Epilepsia**, v.47, p.1068–1069, 2006.

ALTMAN, D.G. How large a sample? In: GORE, S.M.A.D. (Ed). **Statistics in practice**. Blackwell Science, 2ed, 1997.

ARAIN, A. Medical therapy of epilepsy. **Expert Opin Ther Pat**, v.17, n.8, p.955-964, 2007.

BAJJALIEH, S.M. et al. SV2, a brain synaptic vesicle protein homologous to bacterial transporters. **Science**, v.257, p.1271-1273, 1992.

BAZIL, C.W. et al. Levetiracetam may be more effective for late-onset partial epilepsy. **Arch Neurol**, v. 59, p.1905-1908, 2002.

BEN-MENACHEM, E.; FALTER, U.; (The European Levetiracetam Study Group). Efficacy and tolerability of levetiracetam 3000 mg/d in patients with refractory partial seizures: a multicenter, double-blind, responder-selected study evaluating monotherapy. **Epilepsia**, v.41, p.1276–1283, 2000.

BERG, A.T. et al. How long does it take epilepsy to become intractable? A prospective investigation. **Ann Neurol**, v.60, p.73–79, 2006.

BERG, A.T. et al. Remission of epilepsy after 2 drug failures in children: a prospective study. **Ann Neurol**, v.65, p.510–519, 2009.

BERG, A.T. et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. **Epilepsia**, v.51,n.4,p.676-685, 2010.

BETTING, L.E. et al. Tratamento de epilepsia. Consenso dos especialistas brasileiros. **Arq Neuropsiquiatr.**, v.61, n.4, p.1045-1070, 2003.

BIALER, M. The pharmacokinetics and interactions of new antiepileptic drugs. An overview. **Ther Drug Monit**, v.27, n.6, p.722-726, 2005.

BIALER, M. et al. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Sixth Eilat Conference (EILAT VI). **Epilepsy Res**, v.51, p.31-71, 2002.

BIRKETT, D.J. **Pharmacokinetics made easy**. Sydney: McGraw-Hill, 2002.

BORGES, M.A. et al. Urban prevalence of epilepsy. Populational study in São José do Rio Preto, a medium-sized city in Brazil. **Arq Neuropsiquiatr**, v.62, n.2-A, p.199-205, 2004.

BRANDT, C. et al. The multidrug transporter hypothesis of drug resistance in epilepsy: proof-of-principle in a rat model of temporal lobe epilepsy. **Neurobiol Dis**, v.24, p.202-211, 2006.

BRODIE, M.J. Building new understandings in epilepsy: maximizing patient outcomes without sacrificing seizure control. **Epilepsia**, v.44, n.4, p.1-2, 2003.

BRODIE, M.J. et al. Comparison of levetiracetam and controlled-release carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. **Neurology**, v.68, n.6, p.402-408, 2007.

BUXTON, I. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics – The Dynamics of drugs absorption, distribution, action and elimination. In: BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. (Eds). **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. New York: McGraw-Hill, 11ed, 2006.

CABOCLO, L.O.S.F. Epilepsias refratárias. In: YACUBIAN, E.M.T (Ed). **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Lemos Editorial, 2ed, 2004, p.267-274.

CALLAGHAN, B.C. et al. Likelihood of seizure remission in an adult population with refractory epilepsy. **Ann Neurol**, v.62, p.382–389, 2007.

CAMPOS, C.J.R; ALONSO, N.B. Adesão ao tratamento e fracassos na terapêutica medicamentosa das epilepsias. In: DA COSTA, J.C. et al. (Eds). **Fundamentos neurobiológicos das epilepsias**. São Paulo: Lemos Editorial, v.2, 1998, p.789-805.

CANEVINI, M.P. et al. Relationship between adverse effects of antiepileptic drugs, number of coprescribed drugs, and drug load in a large cohort of consecutive patients with drug-refractory epilepsy. **Epilepsia**, v.51, n.5, p.797-804, 2010.

CEREGHINO J.J. et al (The US levetiracetam study group). Levetiracetam for partial seizures. Results of a double-blind, randomized clinical trial. **Neurology**, v.55, p.236-242, 2000.

COCKCROFT, D.W.; GAULT, M.H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron**, v.16, n.1, p.31-41, 1976

CONTIN, M. et al. Levetiracetam therapeutic monitoring in patients with epilepsy. Effects of concomitant antiepileptic drugs. **Ther Drug Monit**, v.26, n.4, p.375-379, 2004.

COUPEZ, R.; NICOLAS, JM; BROWNE, T.R. Levetiracetam, a new antiepileptic agent: lack of in vitro and in vivo pharmacokinetic interaction with valproic acid. **Epilepsia**, v.44, n.2, p.171-178, 2003.

CRAMER, J.A. et al. New antiepileptic drugs: comparison of key clinical trials. **Epilepsia**, v.40, p.590-600, 1999.

CROWDER, K.M. et al. Abnormal neurotransmission in mice lacking synaptic vesicle protein 2A (SV2A). **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v.96, n.26, 1999.

DeSMEDT, T. et al. Levetiracetam: the profile of a novel anticonvulsant drug – Part I: preclinical data. **CNS Drugs Reviews**, v.13, n.1, p.43-56, 2007.

DOHENY, H.C. et al. Blood and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of the novel anticonvulsant levetiracetam (ucb LO59) in the rat. **Epilepsy Research**, v.34, p.161-168, 1999.

DUBOIS, D.; DUBOIS, E.F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight are known. **Arch Intern Medicine**, v.17, p.863-871, 1916.

EDWARDS, K.R. et al. Levetiracetam levels in human cerebrospinal fluid : a controlled, dose ranging pharmacokinetic study [abstract]. **Neurology**, v.62, n.5, p.A118, 2004.

ENGEL, J.; PEDLEY, T.A (Eds). **Epilepsy: a comprehensive textbook**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008.

FAUGHT, E. Pharmacokinetic considerations in prescribing antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v.42, p.19-23, 2001.

FERRENDELLI, J.A. et al. Use of levetiracetam in a population of patients aged 65 years and older: a subset analysis of the KEEPER trial. **Epilepsy Behav.**, v.4, p.2-9, 2003.

FISHER, R.S. et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v.46, p.470-472, 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US Department of Health and Human Services). **Guidance for industry**. Bioanalytical methods validation. Rockville, 2001.

FRENCH, J.A. Use of levetiracetam in special populations. **Epilepsia**, v.42, n.4, p.40-43, 2001.

FRENCH, J.A. Refractory epilepsy: clinical overview. **Epilepsia**, v.48, n.1. p.3-7, 2007.

FRENCH, J.A.; GIDAL, B.E. Antiepileptic drug interactions. **Epilepsia**, v.41, n.8, p.30-36, 2000.

GERK, P.M.; VORE, M. Regulation of expression of the multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) and its role in drug disposition. **J Pharmacol Exp Ther**, v.302, p.407-415, 2002.

GIDAL, B.E. et al. Effect of levetiracetam on the pharmacokinetics of adjunctive antiepileptic drugs: a pooled analysis of data from randomized clinical trials. **Epilepsy Research**, v.64, p.1-11, 2005.

GLAUSER, T. et al. Double-blind placebo-controlled trial for adjunctive levetiracetam in pediatric partial seizures. **Neurology**, v.66, p.1654-1660, 2006a.

GLAUSER, T. et al. ILAE Treatment Guidelines: Evidence-based Analysis of Antiepileptic Drug Efficacy and Effectiveness as Initial Monotherapy for Epileptic Seizures and Syndromes. **Epilepsia**, v.47, n.7, p.1094-1120, 2006b.

GLIEN, M. et al. Effects of the novel antiepileptic drug levetiracetam on spontaneous recurrent seizures in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 43, n.4, p.350-357, 2002.

GOMES, M.M. Epidemiologia: distribuição, fatores de risco e considerações prognósticas. In: GUERREIRO, C.A.M. et al (Eds) **Epilepsia**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

GONZALEZ, F.J.; TUKEY, R.H. Drug metabolism. In: BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. (Eds). **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. New York: McGraw-Hill, 11ed, 2006.

GOWER, A.J. et al. Ucb L059, a novel anti-convulsant drug : pharmacological profile in animals. **European Journal of Pharmacology**, v.222, p.193-203, 1992.

GRANT, R.; SHORVON, S.D. Efficacy and tolerability of 1000–4000 mg per day of levetiracetam as add-on therapy in patients with refractory epilepsy. **Epilepsy Research**, v.42, p.89–95, 2000.

GUENGERICH, F.P. Role of cytochrome P450 enzymes in drug-drug interactions. **Adv Pharmacol**, v.43, p.7-35, 1997.

GUERREIRO, C.A.M.; PALMINI, A. Tratamento medicamentoso das epilepsias. In: GUERREIRO, C.A.M. et al (Eds) **Epilepsia**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

GUTMANN, H. et al. Interactions of HIV protease inhibitors with ATP-dependent drug export proteins. **Molecular Pharmacology**, v.56, p.383-389, 1999.

HAUSER, W.A.; HESDORFFER, D.C. (Eds). Incidence and prevalence. In: **Epilepsy: frequency, causes and consequences**. New York: Demos Medical Pub, 1990. p.1-50.

HIRSCH, L.J. et al. Effect of age and comedication on levetiracetam pharmacokinetics and tolerability. **Epilepsia**, v.48, n.7, p. 1351-1359, 2007.

HUNG, C.C. et al. Functional evaluation of polymorphisms in the human ABCB1 gene and the impact on clinical responses of antiepileptic drugs. **Pharmacogenet Genom.**, v.18, p.390-402, 2008.

HUNT, S. et al. Levetiracetam in pregnancy: preliminary experience from the UK Epilepsy and Pregnancy Register. **Neurology**, v.67, p.1876-1879, 2006.

ILAE COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. **Epilepsia**, v.22, p.489-501, 1981.

ILAE COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. **Epilepsia**, v.30, n.4, p.389-399, 1989.

ISOHERRANEN, N. et al. Developmental outcome of levetiracetam, its major metabolite in humans, 2-pyrrolidinone N-butyric acid, and its enantiomer (R)- α -ethyl-oxo-pyrrolidine acetamide in a mouse model of teratogenicity. **Epilepsia**, v.44, n.10, p.1280-1288, 2003.

JOHANNESSEN, S.I.; HELDE, G.; BRODTKORB, E. Levetiracetam concentrations in serum and breast milk at birth and during lactation. **Epilepsia**, v.46, p.775-777, 2005.

KAUR, S.; ALI, B. The effects of phenobarbital, 3-methylcholanthrene and benzo(a)pyrene on the hydrolysis of xenobiotics in the rat. **Biochem Pharmacol**, v.32, p.3479-3480, 1983.

KIMURA, Y. et al. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. **Cancer Sci**, v.98, p.1303-1310, 2007.

KLITGAARD, H. et al. Evidence for a unique profile of levetiracetam in rodent models of seizures and epilepsy. **European Journal of Pharmacology**, v.353, p.191-206, 1998.

KWAN, P.; BRODIE, M.J. Early identification of refractory epilepsy. **N Engl J Med.**, v.342, p.314-319, 2000.

KWAN, P. et al. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. **Epilepsia**, p.1-9, 2009.

LEPPIK, I.E. et al. Doses and serum concentrations of levetiracetam in the elderly. **Epilepsia**, v.44, n.8, p.158, 2003.

LEVY, R.H.; RAGUENEAU-MAJLESSI, I.; BALTES, E. Repeated administration of the novel antiepileptic agent levetiracetam does not alter digoxin pharmacokinetics and pharmacodynamics in healthy volunteers. **Epilepsy Res**, v.46, p.93-99, 2001.

LIGA BRASILEIRA DE EPILEPSIA, 2009. Normas para o tratamento medicamentoso das epilepsias. Produzido pela Comissão de Drogas Antiepilépticas da Liga Brasileira de Epilepsia. Disponível em www.epilepsia.org.br. Acessado em 23/11/2009.

LIN, J.H.; LU, A.Y.H. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. **Clin Pharmacokinet**, v.35, p.361-390, 1998.

LONG, L. Levetiracetam monotherapy during pregnancy: a case series. **Epilepsy Behav**, v.4, p.447-448, 2003.

LUCIANO, A.L.; SHORVON, S.D. Results of treatment changes in patients with apparently drug-resistant chronic epilepsy. **Ann Neurol**, v.62, p.375-381, 2007.

LUKYANETZ, E.A.; SHKRYL, V.M.; KOSTYUK, P.G. Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam. **Epilepsia**, v.43, n.1, p.9-18, 2002.

LUNA-TORTOS, C.; FEDROWITZ, M.; LOSCHER, W. Several major antiepileptic drugs are substrates for human P-glycoprotein. **Neuropharmacology**, v.55, p.1364-1375, 2008.

LYNCH, B.A. et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.101, p.9861-9866, 2004.

MACDONALD, R.L.; ROGAWSKI, M.A. Cellular effects of antiepileptic drugs. In: ENGEL, J.; PEDLEY, T.A (Eds). **Epilepsy: a comprehensive textbook**; v.2. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008.

MACKICHAN, J.J. Protein binding drug displacement interactions: fact or fiction? **Clin Pharmacokinet**, v.16, p.65-73, 1989.

MARTIN, C. et al. Communication between multiple drug binding sites on P-glycoprotein. **Mol. Pharmacol.**, v.58, p.624-632, 2000.

MATTSON, R.H. Selection of anti-epileptic drug therapy. In: LEVY, R.H.; MATTSON, R.H.; MELDRUM, B.S.(Eds). **Antiepileptic drugs**. New York: Raven Press, 4ed, 1995.

MATTSON, R.H. Medical management of epilepsy in adults. **Neurology**, v.51, p.15-20, 1998.

MAY, T.W.; RAMBECK, B.; JURGENS, U. Serum concentrations of levetiracetam in epileptic patients: the influence of dose and co-medication. **Ther Drug Monit**, v.25, n.6, 2003.

MIMROD, D. et al. A comparative study of the effect of carbamazepine and valproic acid on the pharmacokinetics and metabolic profile of topiramate at steady state in patients with epilepsy. **Epilepsia**, v.46, n.7, p.1046-1054, 2005.

NELSON, D.R. et al. P450 superfamily : update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. **Pharmacogenetics**, v.6, p.1-42, 1996.

NICOLAS, J.M. et al. In vitro evaluation of potential drug interactions with levetiracetam, a new antiepileptic agent. **Drug Metab Dispos**, v.27, p.250-254, 1999.

NIESPODZIANY, I.; KLITGAARD, H.; MARGINEANU, D.G. Desynchronizing effect of levetiracetam on epileptiform responses in rat hippocampal slices. **Neuroreport**, v.14, p.1273-1276, 2003.

NOUSIAINEN, U.; HANNINEN, O. On the inducibility of cytosolic and microsomal carboxylesterase by phenobarbital in rat tissues. **Acta Pharmacol Toxicol**, v.49, p.77-80, 1981.

NOYER, M. et al. The novel antiepileptic drug levetiracetam (ucb L059) appears to act via a specific binding site in CNS membranes. **Eur J Pharmacol**, v.286, p.137-146, 1995.

PATSALOS, P.N. Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics. **Pharmacology & Therapeutics**, v.85, p.77-85, 2000.

PATSALOS, P.N. The pharmacokinetics characteristics of levetiracetam. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v.25, p.123-129, 2003.

PATSALOS, P.N. Clinical pharmacokinetics of levetiracetam. **Clin Pharmacokinet**, v.43, n.11, p.707-724, 2004.

PATSALOS, P.N. et al. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. **Epilepsia**, v.43, p.365-385, 2002.

PATSALOS, P.N., PERUCCA, E. Clinically important drug interactions in epilepsy: general features and interactions between antiepileptic drugs. **Lancet Neurol**, v.2, p.347–356, 2003.

PATSALOS, P.N. et al. Antiepileptic drugs – best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. **Epilepsia**, v.49, n.7, p.1239-1276, 2008.

PELLOCK, J.M. et al. Pharmacokinetic study of levetiracetam in children. **Epilepsia**, v.42, p.1574–1579, 2001.

PERUCCA, E. The new generation of antiepileptic drugs: advantages and disadvantages. **B J Clin Pharmacol.**, v.42, p.531-543, 1996.

PERUCCA, E. Clinical pharmacology and therapeutic use of the new antiepileptic drugs. **Fund Clin Pharmacol.**, v.15, p.405-417, 2001.

PERUCCA, E. Overtreatment in epilepsy: adverse consequences and mechanisms. **Epilepsy Res**, v.52, p.25-33, 2002.

PERUCCA, E. Current trends in antiepileptic drug therapy. **Epilepsia**, v.44, n.4, p.41-47, 2003.

PERUCCA, E. General principles of medical treatment. In: SHORVON, S. et al. (Eds). **The treatment of epilepsy**. Oxford: Blackwell Publishings, 2004. p.139-160.

PERUCCA, E. An introduction to antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v.46, n.4, p.31–37, 2005

PERUCCA, E. et al. A comparative study of the relative enzyme-inducing properties of anticonvulsant drugs in epileptic patients. **Br J Clin Pharmacol** v.18, p.401–410, 1984.

PERUCCA, E.; BIALER, M. The clinical pharmacokinetics of the newer antiepileptic drugs. Focus on topiramate, zonisamide and tiagabine. **Clin Pharmacokinet.**, v.31, n.1, p.29-46, 1996.

PERUCCA, E.; GIDAL, B.E.; BALTES, E. Effects of comedication on levetiracetam pharmacokinetics: a pooled analysis of data from randomized adjunctive therapy trials. **Epilepsy Research**, v.53, p.47-56, 2003.

PERUCCA, E.; JOHANNESSEN, S.I. The ideal pharmacokinetics properties of an antiepileptic drug: how close does levetiracetam come? **Epileptic Disord**, v.5, n.1, p.17-26, 2003.

PICCINELLI, M. **Interazioni farmacologiche dei farmaci antiepilettici**. Em italiano. Roma: CIC Edizioni Internazionali, 2003.

POTSCHKA, H.; FEDROWITZ, M.; LOSCHER, W. P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein are involved in the regulation of extracellular levels of the major antiepileptic drug carbamazepine in the brain. **Neuroreport**, v.12, p.3557-3560, 2001.

POTSCHKA, H.; FEDROWITZ, M.; LOSCHER, W. Multidrug resistance protein MRP2 contributes to blood-brain barrier function and restricts antiepileptic drug activity. **J Pharmacol Exp Ther**, v.306, p. 124-131, 2003.

PUCHE, E. et al. Serum aspirin-esterase activity in epileptic patients receiving treatment with phenobarbital, phenytoin, carbamazepine and valproic acid. **Int J Clin Pharmacol Res**, v.9, p.55-58, 1989.

RADTKE, R.A. Pharmacokinetics of levetiracetam. **Epilepsia**, v.42, n.4, p.24-27, 2001.

RAGUENEAU-MAJLESSI, I; LEVY, R.H.; JANIK, F. levetiracetam does not alter the pharmacokinetics of an oral contraceptive in healthy volunteers. **Epilepsia**, v.43, p.697-702, 2002.

RAGUENEAU-MAJLESSI, I; LEVY, R.H.; MEYERHOFF, C. Lack of effect of repeated administration of levetiracetam on the pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles of warfarin. **Epilepsy Res**, v.47, p.55-63, 2001.

RANG, H.P. et al. Absorção e distribuição de fármacos. In: RANG, H.P. et al. (Eds). **Farmacologia**. Elsevier, 6ed, p.98-112, 2007.

RATNARAJ, N.; DOHENY, H.C.; PATSALOS, P.N. A micromethod for the determination of the new antiepileptic drug levetiracetam (ucb L059) in serum or plasma by High Performance Liquid Chromatography. **Ther Drug Monit**, v.18, p.154-157, 1996.

REGESTA, G.; TANGANELLI, P. Clinical aspects and biological bases of drug-resistant epilepsies. **Epilepsy Res.**, v.34, p.109-122, 1999.

REYNOLDS, E.H.; SHORVON, S.D. Monotherapy or polytherapy for epilepsy? **Epilepsia**, v.22, p.1-10, 1981.

RIZZI, M. et al. Limbic seizures induce P-glycoprotein in rodent brain: functional implications for pharmacoresistance. **J Neurosci**, v.22, p.5833-5839, 2002.

SANDER, J.W. The epidemiology of epilepsy revisited. **Curr Opin Neurol**, v.16, p.165-170, 2003

SATOH T, HOSOKAWA M. Structure, function and regulation of carboxylesterases. **Chemico-biological Interactions**, v.162, p.195-211, 2006.

SATOH, T.; MOROI, K. Effect of pretreatment with tricresylphosphates and phenobarbital on the metabolism and toxicity of procaine in rats. **Jpn J Pharmacol**, v.27, p.233–237, 1977.

SCHIVELL, A.E. et al. SV2A and SV2C contain a unique synaptotagmin-binding site. **Mol Cell Neurosci**, v.29, p.56-64, 2005.

SCHMIDT, D. Drug treatment of epilepsy: options and limitations. **Epilepsy Behav**, v.15, p.56-65, 2009.

SCHWARK, W.S.; ECOBICHON, D.J. Subcellular localization and drug-induced changes of rat liver and kidneys esterases. **Can J Physiol Pharmacol**, v.46, p.207–212, 1968.

SCOTT, D.F. **The history of epileptic therapy**. The Parthenon Publishing Group, 1993.

SHORVON, S.D. et al. (European levetiracetam study group). Multicenter double-blind, randomized, placebo-controlled trial of levetiracetam as add-on therapy in patients with refractory partial seizures. **Epilepsia**, v.41, p.1179-1186, 2000.

SHORVON, S.D.; RIJCKEVORSEL, K. A new antiepileptic drug. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.72, p.426-428, 2002.

SILLS, G.J. et al. Neurochemical studies with the novel anticonvulsant levetiracetam in mouse brain. **Eur J Pharmacol**, v.325, n.1, p.35-40, 1997.

SPINA, E.; SCORDO, M.G. Drug interactions in epilepsy. In: SHORVON, S. et al. (Eds). **The treatment of epilepsy**. Oxford: Blackwell Publishings, 2004. p.120-136.

STABLES, J.P. et al. Therapy discovery for pharmaco-resistant epilepsy and for disease-modifying therapeutics: summary of the NIH/NINDS/AES models II workshop. **Epilepsia**, v.44, p.1472-1478, 2003.

STROLIN BENEDETTI, M. et al. Pharmacokinetics and metabolism of ^{14}C -levetiracetam, a new antiepileptic agent, in healthy volunteers. **Eur J Clin Pharmacol**, v.59, p.621-630, 2003.

SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharm. Tech.**, p.12-18, 1998.

TOMSON, T. et al. Pharmacokinetics of levetiracetam during pregnancy, delivery, in the neonatal period, and lactation. **Epilepsia**, v.48, n.6, p.1111-1116, 2007.

TONG, X.; PATSALOS, P.N. Microdialysis study of levetiracetam in rat frontal cortex and hippocampus. **Epilepsia**, v.38, n.8, p.110, 1997.

TRINKA E. et al. One-year postmarketing experience with levetiracetam for treatment of drug-resistant epilepsy: a cross-sectional study [abstract]. **Epilepsia**, v.43, n.7, p.192, 2002.

TYBRING, G. et al. Metabolism of carbamazepine and its epoxide metabolite in human and rat liver in vitro. **Drug Metabolism and Disposition**, v.9, p.561-564, 1981.

VAN VLIET, E.A. et al. Inhibition of the multidrug transporter P-glycoprotein improves seizure control in phenytoin-treated chronic epileptic rats. **Epilepsia**, v.47, p.672-680, 2006.

WALKER, M.C.; SANDER, J.W.A.S. The impact of new antiepileptic drugs on the prognosis of epilepsy: seizure freedom should be the ultimate goal. **Neurology**, v.46, p.912-914, 1996.

WEISS, J. et al. Interaction of antiepileptic drugs with human P-glycoprotein in vitro. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.307, p.262-267, 2003.

WELTY, T.E. et al. Levetiracetam: a different approach to the pharmacotherapy of epilepsy. **Ann Pharmacother**, v.36, p.296-304, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Epilepsy. Fact Sheet nº999, January 2009. Acessado em 02 de Outubro de 2009. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/print.html>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2008). About the ATC/DDD system. Acessado em 10 de Março de 2010. Disponível em www.whocc.no/atcddd.

YACUBIAN, E.M.T. Farmacocinética das drogas antiepilépticas. In: YACUBIAN, E.M.T (Ed). **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Lemos Editorial, 2ed, 2004, p.33-46.

YAN, H.D. et al. Separation of antiepileptogenic and antiseizure effects of levetiracetam in the spontaneously epileptic rat (SER). **Epilepsia**, v.46, p.1170-1177, 2005.

ZHAO, Q. et al. Single-dose pharmacokinetics of levetiracetam in healthy Chinese male subjects. **Br J Clin Pharmacol.**, v.63; p.614-617, 2007.

ZONA, C. et al. Levetiracetam doses not modulate neuronal voltage-gated Na⁺ and T-type Ca²⁺ currents. **Seizure**, v.10, p.279-286, 2001.