

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Toxicologia e Análises Toxicológicas

CONTROLE TERAPÊUTICO DA EPILEPSIA POR
LAMOTRIGINA

(Padronização e Validação de uma Metodologia Analítica)

NÁDIA REZENDE BARBOSA

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Orientador:

Prof. Tit. Antônio Flávio Mídio

São Paulo

1998
15892

DEDALUS - Acervo - CQ



30100002027

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

B238c	<p>Barbosa, Nádia Rezende Controle terapêutico da epilepsia por lamotrigina (Padronização e Validação de uma Metodologia Analítica) / Nádia Rezende Barbosa. -- São Paulo, 1998. 113p</p>
	<p>Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Orientador: Mídio, Antônio Flávio</p>
	<p>I. Toxicologia I. T. II: Mídio, Antônio Flávio, orientador</p>
	<p>615.9 CDD</p>

NÁDIA REZENDE BARBOSA

CONTROLE TERAPÊUTICO DA EPILEPSIA POR LAMOTRIGINA

(Padronização e Validação de uma Metodologia Analítica)

Comissão Julgadora

Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre

Presidente e Orientador

1º Examinador

2º Examinador

São Paulo
1998

À Prof^a. DR^a Yara Araújo,
pelos ensinamentos e apoio.

Ao Prof^a. Dr. Antônio Flávio Mídio,
pela orientação científica, dedicação e viabilização deste trabalho.

Aos meus familiares,
pelo exemplo de força, dedicação e amor ao trabalho.

AGRADECIMENTOS

À direção e equipe técnica do Laboratório de Análises Clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - São Paulo - SP;

Aos médicos assistentes, bem como aos pacientes que possibilitaram esta investigação;

À Dr^a. Lolita M. Tsanaclis do *Cardiff Bioanalytical Services*, pela doação dos soros liofilizados, Lamotrigina e padrão interno;

À Fundação Pró-Sangue (Hemocentro de São Paulo), pela doação do plasma humano, utilizado como branco de referência.

À Sr^a. Moema Rodrigues Santos e Adriana de Almeida Barreiros, pela normatização das referências bibliográficas;

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho de pesquisa,

os meus agradecimentos.

RESUMO

A lamotrigina (LTG) é um derivado feniltriazínico que possui atividade anticonvulsivante. Em razão da sua possível faixa terapêutica (1,0 a 4,0 μ g/mL) e das variações interindividuais, a monitorização das concentrações plasmáticas do fármaco, com finalidade de controle terapêutico, tem sido sugerida. Assim, um método analítico sensível, específico, preciso e exato foi desenvolvido, empregando-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector por absorvância no ultravioleta ($\lambda=306$ nm). A LTG foi extraída sob condições alcalinas com acetato de etila, de amostras de plasma às quais foi adicionado o padrão interno (BW725C). Após evaporação do extrato em banho de água a 45°C e sob corrente de ar, o resíduo foi retomado utilizando-se uma mistura de ortofosfato de potássio 0,1M: metanol: trietilamina (560:453:0,1 v/v/v) e 50 μ L do resíduo reconstituído foram injetados na coluna Supelcosil™ LC-18 e o fármaco eluído com fluxo de 0,8mL/min. Este foi caracterizado pelo tempo de retenção de 2,19 relativo ao padrão interno. O método mostrou-se linear na faixa de 0,20 a 12,04 μ g/mL com coeficiente de correlação (r) igual a 0,99986. Coeficientes de variação, calculados a partir dos resultados dos estudos de precisão intra e interensaio foram 2,15% e 2,16%, respectivamente. A recuperação média da lamotrigina, encontrada nas análises das amostras enriquecidas foi de 86,14%. Os limites de detecção e quantificação do método foram 0,05 μ g/mL e 0,15 μ g/mL. A LTG manteve-se estável por 24 horas à temperatura ambiente; por 15 dias a 4°C e 60 dias a -20°C, com todas as amostras mantidas ao abrigo da luz.

Unitermos: lamotrigina; plasma; análise; cromatografia líquida de alta eficiência; controle terapêutico; epilepsia.

CONTEÚDO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	GENERALIDADES.....	5
	2.1 Epilepsia - conceitos básicos.....	6
	2.2 Lamotrigina - propriedades físico-químicas.....	11
	2.3 Esquema de dosagem.....	12
	2.4 Farmacocinética.....	14
	2.5 Farmacodinâmica.....	18
	2.6 Uso terapêutico.....	20
	2.7 Monitorização terapêutica.....	24
	2.8 Aspectos toxicológicos.....	25
	2.9 Interação medicamentosa.....	30
	2.10 Aspectos analíticos.....	36
	2.10.1 Cromatografia líquida de alta eficiência.(CLAE).....	36
	2.10.2 Imunoensaios.(IE).....	38
	2.10.3 Cromatografia gasosa.(CG).....	38
3	OBJETIVOS E PLANO DE TRABALHO.....	40
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
	4.1 Casuística.....	44
	4.2 Material.....	46
	4.2.1 Padrões.....	46
	4.2.2 Solventes e reagentes.....	46
	4.2.3 Soluções.....	46
	4.2.4 Calibradores.....	48
	4.2.5 Controles.....	49
	4.2.6 Equipamentos e acessórios.....	49
	4.2.7 Amostras.....	50
	4.3 Métodos.....	52
	4.3.1 Determinação de lamotrigina em plasma por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	52

	4.3.1.1 Otimização das condições cromatográficas.....	52
	4.3.1.2 Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido da lamotrigina em plasma.....	53
	4.3.2 Validação do método analítico.....	55
	4.3.2.1 Curva de calibração.....	55
	4.3.2.2 Limites de detecção e de quantificação.....	55
	4.3.2.3 Linearidade.....	56
	4.3.2.4 Recuperação Relativa do Método.....	57
	4.3.2.5 Precisão do Método.....	57
	4.3.2.6 Exatidão.....	58
	4.3.2.7 Interferentes.....	58
	4.3.2.8 Estabilidade da LTG na amostra biológica.....	59
	4.3.3 Determinação das concentrações plasmáticas de lamotrigina em pacientes com diferentes tipos de crises epilépticas.....	59
	4.3.4 Avaliação laboratorial.....	60
5	RESULTADOS.....	61
	5.1 Determinação das concentrações plasmáticas da lamotrigina por cromatografia líquida de alta eficiência..	62
	5.1.1 Otimização das condições cromatográficas.....	62
	5.1.2 Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido da lamotrigina em plasma.....	63
	5.2 Validação do método analítico.....	63
	5.2.1 Curva de calibração.....	63
	5.2.2 Limites de detecção e de quantificação.....	65
	5.2.3 Linearidade.....	65
	5.2.4 Recuperação Relativa do Método.....	65
	5.2.5 Precisão do Método.....	67
	5.2.6 Exatidão.....	68
	5.2.7 Estudo de interferentes.....	69

	5.2.8 Estabilidade.....	70
	5.3 Determinação das concentrações plasmáticas de lamotrigina em pacientes epiléticos.....	70
	5.4 Avaliação laboratorial.....	70
6	DISCUSSÃO.....	73
7	CONCLUSÕES.....	84
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
9	ANEXOS.....	103
	Anexo 1 Características dos pacientes.....	104
	Anexo 2 Informação Escrita.....	106
	Anexo 3 Consentimento Pós-Informação.....	109
	Anexo 4 Exames Laboratoriais complementares.....	112

1 Introdução

Muitos medicamentos têm sido introduzidos na terapêutica nos últimos anos. Os estudos prévios sobre a eficácia e a toxicidade de um fármaco, para que este possa ser aprovado, vêm se tornando cada vez mais rigorosos. Apesar disso, parte do conhecimento acerca de um novo medicamento só é adquirido com o acompanhamento clínico da população que o utiliza e pela evidência de certos efeitos adversos observados no paciente⁽⁴¹⁾.

A lamotrigina é um derivado feniltiazínico, o qual foi inicialmente desenvolvido como um composto anti-folato e que possui atividade anticonvulsivante^(03, 36); foi, em 1994, aprovada pela "Food and Drug Administration" (FDA) para uso no controle de convulsões parciais e generalizadas, porém vem sendo utilizada com relativo êxito em epilepsias refratárias parciais e severas, ataques do grande e pequeno mal, convulsões tônico-clônicas e Síndrome de Lennox-Gastaut^(11, 35, 85, 94). Tem sido utilizada, no Reino Unido e na Irlanda, como adjuvante terapêutico no tratamento das epilepsias refratárias⁽¹¹⁾ e naquelas não satisfatoriamente controladas por outros medicamentos^(27, 33, 70, 102).

O mecanismo de ação anticonvulsivante da lamotrigina ainda não foi determinado. No entanto, acredita-se que a mesma estabilize as membranas celulares atuando sobre os canais de sódio e modulando a liberação pré-sináptica de glutamato e aspartato^(71, 110).

A lamotrigina é rapidamente absorvida após administração por via oral e o efeito de primeira passagem é praticamente nulo. Picos de concentração plasmática ocorrem entre 1,4 a 4,8 horas após a administração do fármaco por esta via. É uniformemente distribuída pelo organismo com volume aparente de distribuição de 1,1 L/kg e sua ligação

às proteínas plasmáticas é de aproximadamente 55%. Apresenta meia-vida de aproximadamente 24 horas, mas interações clinicamente significantes com outros fármacos podem afetar a sua farmacocinética ⁽⁸⁰⁾.

Embora não exista uma faixa de concentração terapêutica definitiva para a lamotrigina plasmática, o intervalo de 1-4µg/mL tem sido proposto por alguns autores ^(03, 10, 80). Associada à possibilidade de uma estreita faixa terapêutica, a farmacocinética da lamotrigina é dependente das condições fisiopatológicas do paciente e da co-medicação. Logo, a individualização da dose muitas vezes se faz necessária ⁽¹¹²⁾. Portanto, a monitorização das concentrações plasmáticas da lamotrigina se torna de grande valia para se obter uma maior eficácia terapêutica e minimizar os riscos de aparecimento de efeitos tóxicos.

No Brasil, a lamotrigina está sendo comercializada como Lamictal[®], pela GLAXO-WELLCOME, na forma farmacêutica de comprimidos de uso adulto em doses de 25, 50 e 100mg ^(21, 42, 102) e já é usado com alguma freqüência e de maneira crescente. Entretanto, nenhuma metodologia foi ou está sendo aplicada por laboratórios nacionais no que diz respeito à monitorização terapêutica deste fármaco.

A possibilidade de determinar as concentrações plasmáticas de anticonvulsivantes, através de métodos sensíveis e reprodutíveis, tem levado ao uso mais racional deste grupo de agentes terapêuticos, com ênfase na terapia otimizada pela integração da medida das concentrações do fármaco no plasma juntamente com as observações clínicas ⁽²⁰⁾. Em conformidade, a monitorização das concentrações plasmáticas da

lamotrigina parece ser útil no esquema de dosagem, particularmente, naqueles pacientes que a recebem em combinação com um ou mais anticonvulsivantes estabelecidos, pois permite otimizar a farmacoterapia atingindo um máximo de benefício e minimizando os riscos de toxicidade (114).

Em fluidos biológicos, este novo fármaco pode ser determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), imunoenaios (IE) e cromatografia gasosa (CG)^(45, 80, 105).

Uma vez que a determinação plasmática da lamotrigina contribui para maior segurança de seu uso, e que a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência é acessível entre nós, o objetivo deste trabalho se prende à apresentação e padronização de um método analítico sensível, específico e reprodutível que a empregue para a determinação e quantificação plasmática da lamotrigina (LTG) com a finalidade de controle terapêutico da epilepsia.

2 Generalidades

2.1 Epilepsia - conceitos básicos

A epilepsia é uma doença crônica caracterizada por crises recorrentes, resultante de um distúrbio da atividade eletroquímica do cérebro causado pela descarga excessiva dos neurônios, com ou sem convulsões. O termo convulsão é usado para descrever contrações violentas e involuntárias de músculos voluntários ⁽³²⁾.

Considerada como uma das disfunções mais comuns do sistema nervoso central (SNC), a epilepsia afeta cerca de 1% da população mundial ⁽⁰³⁾, com prevalência estimada de mais de dois milhões de casos nos Estados Unidos ⁽⁵¹⁾.

Danos cerebrais podem resultar de traumas, tumores, hemorragias, infecções, anóxia ou desenvolvimento de anormalidades. Causas metabólicas como hipóxia, hipoglicemia, coma alcoólico ou por outras substâncias químicas, estimulantes e desequilíbrio iônico podem causar convulsões generalizadas ou multifocais ^(24, 30). Pacientes com convulsões provocadas por febre ou outros eventos reversíveis e passageiros não são considerados como sendo epiléticos ⁽⁵⁶⁾.

A idade do paciente por ocasião do início das crises pode ajudar a determinar a provável origem da mesma. A TABELA I descreve a etiologia da epilepsia em função da idade em que o paciente começou a manifestar as crises.

A classificação das crises epiléticas é relativamente complexa (TABELA II) e um grande número de fármacos pode ser usado no tratamento desta doença ⁽⁵⁷⁾.

Fármacos antiepiléticos tradicionais, tais como fenitoína, carbamazepina, fenobarbital, ácido valpróico e primidona têm falhado no controle adequado das crises epileptiformes em aproximadamente 25% dos pacientes. Portanto, investigações foram e estão sendo realizadas para a liberação de uma nova geração de anticonvulsivantes ⁽²⁹⁾. Alguns destes foram aprovados, recentemente, pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e dentre eles está a lamotrigina (LTG) (FIGURA 1).

TABELA I - PROVÁVEL ETIOLOGIA DA EPILEPSIA EM FUNÇÃO DA IDADE DO PACIENTE

Idade da manifestação epiléptica	Etiologia
Intra-uterina	Defeitos de migração cortical e metabólicos.
Neonatal	Asfixia; meningite; desordens metabólicas; mal formação cerebral; uso de drogas pela mãe durante a gestação.
Infância	Trauma encefálico; anóxia; meningite; idiopática.
Adolescência	Idiopática; traumatismo craniano; danos encefálicos; uso de drogas de abuso.
Adulta	Trauma encefálico; tumor cerebral; mal formação vascular; doenças degenerativas.

Fonte: DREIFUS, 1990

**TABELA II -CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL DAS CRISES
EPILEPTICAS**

I - Crises parciais (crises iniciais locais)

A - Crises parciais simples (sem prejuízo da consciência):

- 1 - com sintomas motores
- 2 - com sintomas sómato-sensoriais ou sensoriais especiais
- 3 - com sintomas autonômicos
- 4 - com sintomas físicos

B - Crises parciais complexas (com prejuízo da consciência):

- 1 - inicia com convulsões parciais simples e progride com prejuízo da consciência;
 - a - sem outras características
 - b - com características como em A-1 e A-4
 - c - com automatismos
- 2 - com prejuízo da consciência no início da crise;
 - a - com outras características
 - b - com características como em A-1 e A-4
 - c - com automatismos

C - Crises parciais generalizadas secundariamente

II - Crises generalizadas (simetria bilateral e sem foco localizado)

A - Ausências

- 1 -clássica
- 2 -atípica

B - Convulsões mioclônicas

C - Convulsões clônicas

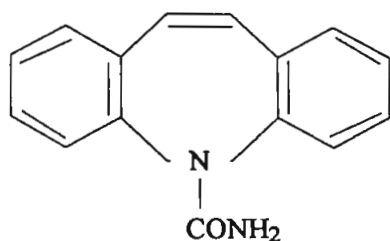
D - Convulsões tônicas

E - Convulsões tônico-clônicas

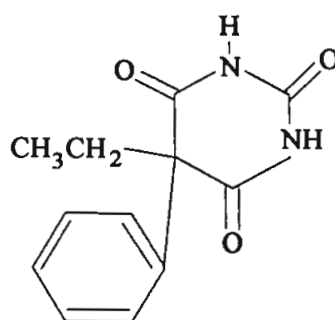
F - Convulsões atônicas

III - Crises epiléticas não classificadas (dados incompletos)

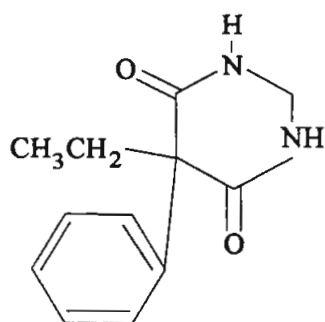
Fonte: MEYER et al., 1995 ⁽⁵⁷⁾



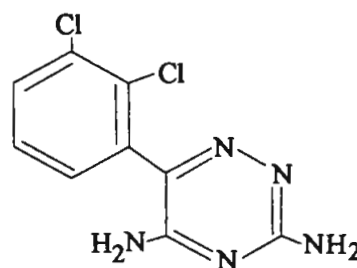
Carbamazepina



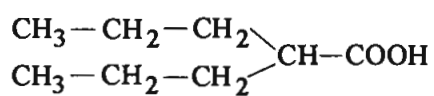
Fenobarbital



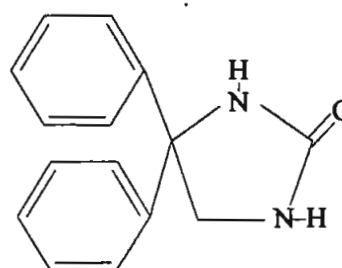
Primidona



LAMOTRIGINA



Ácido valpróico



Fenitoína

FIGURA 1 - Estrutura da lamotrigina e de alguns dos anticonvulsivantes de uso corrente.

2.2 Lamotrigina - propriedades físico-químicas

A lamotrigina, 3,5-diamino-6-(2-metoxifenil)-1,2,4-triazina, é um novo agente anticonvulsivante não relacionado quimicamente a qualquer outro fármaco de mesma finalidade em uso corrente ^(11, 61, 80). Derivada da feniltriazina, foi inicialmente desenvolvida como composto com atividade anti-folato e possui atividade anticonvulsivante ⁽⁰³⁾. Todavia, nas séries químicas feniltriazínicas, nas quais a LTG foi desenvolvida, não há correlação entre sua atividade anti-folato e anticonvulsivante ^(14, 55, 61).

Apresenta-se como um pó branco, quimicamente estável à temperatura ambiente e hidrolisável por ácidos e bases fortes a mono ou diidroxitriazina. Pode-se apresentar na forma de base livre ou de cloridrato. Sua fórmula química, bem como as propriedades físico-químicas encontram-se descritas na TABELA III.

TABELA III - FÓRMULA QUÍMICA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA LAMOTRIGINA

Fórmula química	C ₉ H ₇ Cl ₂ N ₅ (cloridrato)
pKa	5,7 a 25°C
Peso molecular	256,10 g
Ponto de fusão	216°C sem decomposição
Solubilidade	água: 0,017% m/v a 25°C NaOH 0,01M: 0,016% m/v HCl 0,1M: 0,41% m/v etanol: 0,41% clorofórmio: 0,11% <i>n</i> -octanol: 0,28%
Coefficiente de Partição	<i>n</i> -octanol/água: tampão pH 1,2 = 0,4 tampão pH 0,6 = 0,8

Fonte: Prod. Info. Lamictal[®], 1995.

2.3 Esquema de dosagem

No Brasil, a LTG está sendo comercializada como Lamictal[®], pela GLAXO-WELLCOME, na forma farmacêutica de comprimidos de 25, 50 e 100 mg⁽²¹⁾, apenas como adjuvante na terapia antiepiléptica.

É usada em doses iniciais de 500 mg, duas vezes ao dia durante duas semanas, passando para 200 a 400 mg ao dia, fracionadas em duas vezes. Para pacientes em uso concomitante com ácido valpróico, a dose inicial é de

500 mg por dia, durante as duas primeiras semanas ⁽⁴²⁾ e a dose de manutenção de 100 a 200 mg por dia, fracionada em duas vezes ^(21, 42, 102).

Esquemas de dosagens usuais de lamotrigina variam de 50 a 400 mg/dia, dependendo da co-medicação ser indutora ou inibidora enzimáticas ⁽⁸⁰⁾.

Para adultos e crianças acima de 12 anos de idade, a dose inicial de Lamictal[®] para os que não estejam tomando valproato de sódio é de 500 mg uma vez ao dia por duas semanas, seguidas por 100 mg/dia fracionadas em duas tomadas durante duas semanas. A partir daí, a dose usual de manutenção, para se obter o efeito terapêutico desejado, é de 200 a 400 mg/dia administrados em duas tomadas.

Para pacientes que recebem valproato de sódio, a dose inicial deve ser de 25 mg, em dias alternados, por duas semanas, seguida de 25 mg/dia durante duas semanas seguidas ⁽²¹⁾.

Segundo THOMSON & BRODIE, 1992, a dose inicial deve ser de 25mg duas vezes ao dia e a de manutenção 50 a 200 mg duas vezes ao dia, se administrada com ácido valpróico. Naqueles pacientes que não fazem uso daquele anticonvulsivante, a dose inicial deve ser de 50 a 100 mg duas vezes ao dia e a de manutenção 100 a 400 mg duas vezes ao dia. Com esse esquema de dosagem, as concentrações plasmáticas deverão estar compreendidas entre 1 e 4µg/mL, embora este intervalo não esteja confirmado como faixa terapêutica.

2.4 Farmacocinética

Estudos clínicos têm demonstrado uma boa aceitabilidade oral da lamotrigina ^(50, 86, 102). Após administração de uma dose de 240 mg, a concentração plasmática máxima é alcançada entre 1,4 e 4,8 horas, dependendo da co-medicação ^(45, 60, 80), com efeito de primeira passagem quase nulo, atingindo um nível plasmático de $\pm 3 \mu\text{g/mL}$.

A biodisponibilidade da formulação oral é de aproximadamente 98% ⁽¹¹³⁾, tornando-se discretamente mais lenta pela presença de alimentos, entretanto, este fato não é clinicamente importante em regime de doses múltiplas. Em um estudo cruzado de administração intra-venosa x oral em oito voluntários sadios, a média da biodisponibilidade absoluta após dose de 75 mg foi $98 \pm 5\%$ ⁽¹¹¹⁾.

A área sob a curva de concentração plasmática (AUC) x tempo x dose de lamotrigina (FIGURA 2) indica uma farmacocinética dose-linear na faixa de 30 a 240 mg ^(61, 69, 80) conforme modelo aberto de um compartimento com cinética de primeira ordem ^(18, 39, 81). Estudos subseqüentes mostraram que esta relação linear estende-se a 450 mg em voluntários sadios e a 700 mg em pacientes no estado de equilíbrio ⁽⁶⁹⁾.

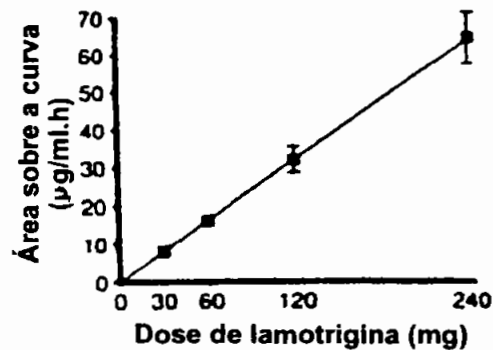


FIGURA 2 - Relação linear entre a dosagem de lamotrigina e a concentração plasmática

Fonte: RAMBECK & WOLF, 1993.

A lamotrigina é uniformemente distribuída pelo organismo com volume aparente de distribuição (V_d) de 1,1 L/kg em voluntários sadios ^(17, 61, 80).

A ligação às proteínas plasmáticas é cerca de 55% ^(61, 80) e essa, aparentemente, não é afetada pela presença de co-medicação ^(18, 61). Na saliva, a concentração da lamotrigina representa 46% da encontrada no plasma, sendo que a do cérebro é similar à total no plasma ⁽⁸⁰⁾.

A meia-vida biológica da lamotrigina (dose única ou múltiplas) em voluntários sadios bem como em pacientes com epilepsia, recebendo o fármaco associado ou não a outros anticonvulsivantes, variou de 13,5 a 40,7 horas. Para dose única via oral, a lamotrigina tem uma meia-vida de aproximadamente 24 horas. Segundo POSNER et al. (1991) e

MAGDALOU et al. (1992), em voluntários sadios há uma considerável variação interindividual na meia-vida de eliminação, mas pequena variação intra-individual. Ainda, de acordo com POSNER et al. (1991), os valores encontrados em pacientes idosos são similares àqueles em jovens.

A interação medicamentosa afeta substancialmente a biotransformação da LTG. O ácido valpróico inibe a biotransformação do fármaco, aumentando sua meia-vida, em pacientes epiléticos, para cerca de 60 horas^(07, 112) e 69,8 horas em voluntários sadios⁽¹⁰⁹⁾. A meia-vida do fármaco também é aumentada em pacientes com insuficiência renal; isso pode ser devido à inibição da sua biotransformação pelo acúmulo de glicuronídeo⁽⁸⁴⁾. Contrariamente, anticonvulsivantes indutores (ativadores enzimáticos), como a carbamazepina, fenitoína, fenobarbital e primidona aceleram a biotransformação da lamotrigina, produzindo valores de meia-vida próximos da metade daqueles encontrados em voluntários sadios (valores médios: 13,5 a 15 horas)^(06, 38, 39). Ácido valpróico co-administrado a fármacos indutores enzimáticos, em pacientes fazendo uso de LTG, gera uma meia-vida similar àquela encontrada em indivíduos sadios⁽³⁹⁾.

Em crianças sadias, parâmetros cinéticos não têm sido amplamente avaliados^(83, 103). Todavia, em alguns pequenos grupos de pacientes pediátricos avaliados, LTG foi bem absorvida pelo trato gastrintestinal após doses de 2 mg/kg^(09, 74).

Os valores de concentração máxima (C_{max}) variaram de 0,5 a 2,1 mg/L, 1 a 6 horas após a administração oral, em crianças de 6 meses a 5 anos e meio de idade⁽¹⁰⁰⁾. Em pacientes tratados com anticonvulsivantes indutores enzimáticos, concentrações plasmáticas de LTG variaram de 0,1 a

7,3 mg/mL, no estado de equilíbrio, para doses administradas oralmente entre 2 e 18 mg/kg/dia. Em pacientes inicialmente tratados com ácido valpróico, doses dadas por via oral entre 1 e 9 mg/kg/dia corresponderam a concentrações plasmáticas de LTG entre 0,1 a 12,1 mg/mL^(01, 92). A meia-vida da LTG, em pacientes pediátricos, varia de 8 a 45 horas e a principal razão para esta variabilidade tem sido a co-medicação.

Não há evidências de que a lamotrigina cause indução ou inibição clinicamente significativas de enzimas hepáticas oxidativas responsáveis pela biotransformação de fármacos e drogas. Pode induzir sua própria biotransformação, mas o efeito é modesto e provavelmente não apresenta consequências clínicas significativas^(13, 108).

Estudos controlados não têm demonstrado qualquer evidência de que a lamotrigina afete as concentrações plasmáticas de fármacos antiepilépticos administrados concomitantemente⁽⁶⁷⁾ e nem aquelas de anticoncepcionais de uso oral. Estudos *in vitro* indicam não deslocar outros anticonvulsivantes dos sítios de ligação nas proteínas plasmáticas⁽³⁷⁾.

A LTG, por si só, não tem influência na concentração plasmática de anticonvulsivantes administrados concomitantemente, exceto por causar um aumento nas concentrações de 10-11 epóxido de carbamazepina, o principal produto de biotransformação do fármaco^(80, 104).

Noventa e quatro por cento de uma dose radiomarcada de LTG administrada a voluntários sadios foram recuperados na urina sob forma inalterada e biotransformada em um período de 168 horas. Apenas 2% foram recuperados nas fezes. LTG é extensamente biotransformada e seu principal produto de biotransformação é um 2-N glicuronídeo^(77, 95) e responsável por

65% da dose recuperada na urina ⁽⁰⁵⁾. A detecção por cromatografia líquida de alta eficiência revelou a presença de outro produto de biotransformação N-glicurônico em mais ou menos um décimo da concentração do principal produto de biotransformação ⁽²⁵⁾. Os produtos de biotransformação parecem não ter atividade anticonvulsivante ^(25, 96).

Em ratos, a LTG parece ser excretada completamente inalterada na urina. Em primatas, aparecem como produtos de biotransformação: 2-N glicuronídeo ⁽⁹⁵⁾ e 5-N glicuronídeo ^(23, 49), sendo mais de 8% eliminada inalterada ⁽¹⁸⁾ e em cães, há um produto de biotransformação cardiotoxico: 2-N metil ⁽²⁵⁾. Em humanos, não têm sido encontrados o 5-N e nem o 2-N metil glicuronídeos ^(23, 25, 49).

2.5 Farmacodinâmica

A LTG é um potente inibidor da liberação do ácido gama aminobutírico, da acetilcolina, da nor-adrenalina e da dopamina, porém seu mecanismo de ação ainda não está completamente elucidado. No entanto, seu efeito anticonvulsivante dá-se, supostamente, pela inibição da liberação de glutamato ^(10, 18, 47, 54, 64, 75, 102), principal neurotransmissor excitatório ao lado do aspartato e análogos dos ácidos carboxílicos ⁽⁵⁴⁾. Mecanismo de estabilização de membranas, isto é, bloqueio pré-sináptico dos canais de sódio sensíveis às diferenças de potencial, deve estar também envolvido ^(10, 101). LTG bloqueia o influxo dos íons sódio, reduzindo, portanto, a liberação excessiva de glutamato e desta forma age estabilizando as membranas neuronais.

LTG inibe o metabolismo do ácido fólico, uma ação compartilhada por alguns outros anticonvulsivantes, mas não confirmado como um mecanismo de ação anticonvulsivante ⁽¹¹¹⁾.

Em animais de experimentação, concentrações plasmáticas de LTG de aproximadamente 3µg/mL possuem eficácia protetora similar às concentrações terapêuticas de fenitoína e carbamazepina no eletrochoque máximo e nos testes com pentilenotetrazol. LTG também reduz ou suprime a descarga induzida por estimulação focal da córtex ou hipocampus em modelos animais ⁽¹⁰⁶⁾.

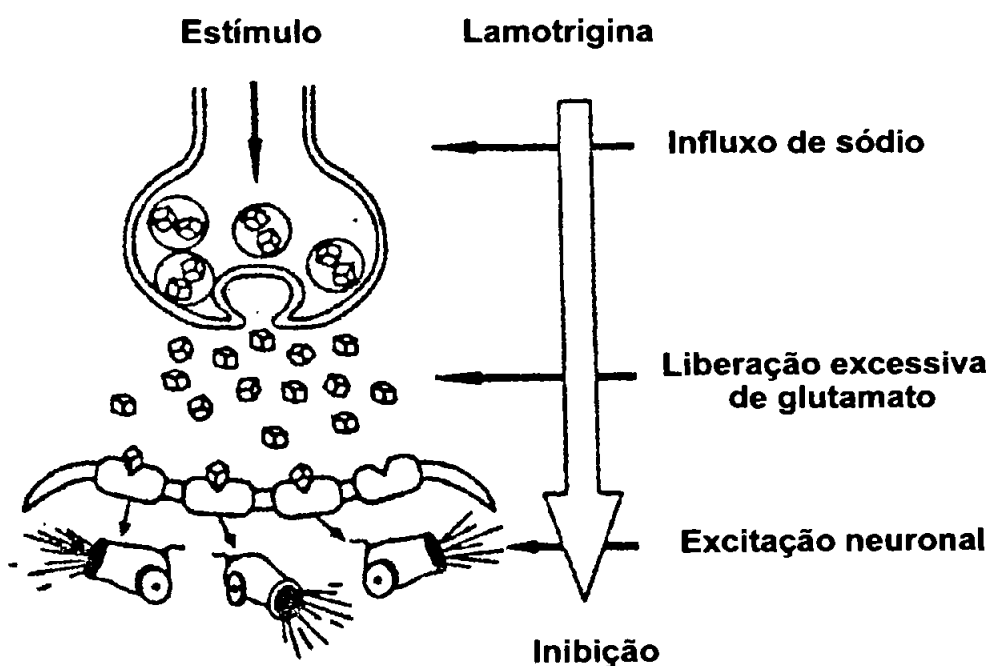


FIGURA 3 - Possível mecanismo de ação da Lamotrigina.

Fonte: BRODIE, 1992.

Evidências adicionais nas quais a LTG inibe a liberação de glutamato são demonstradas em um modelo animal (rato), no qual a neurotoxicidade do ácido caínico, mediada pela liberação de glutamato, é inibida. Todavia, o mesmo não acontece com a neurotoxicidade dos ácidos quinolínico e ibotênico, mediada pelo receptor de excitação *n*-metil-*d*-aspartato (NMDA) ^(53, 63).

O perfil farmacológico da LTG é similar àquele da fenitoína. Estudos animais *in vitro* têm demonstrado que a lamotrigina inibe a liberação de glutamato e aspartato induzidos em tecido cerebral pela veratrina, sem nenhum efeito na liberação de aminoácido induzido pelo potássio. Isso sugere que o fármaco atua nos canais de sódio sensíveis à voltagem para estabilizar as membranas neuronais e inibir a liberação de glutamato ⁽⁴⁴⁾.

Doses únicas de LTG causam uma redução e/ou supressão aguda da fotossensibilidade em pacientes com epilepsia ^(07, 38).

2.6 Uso terapêutico

LTG parece ser útil no tratamento da epilepsia não satisfatoriamente controlada por outros anticonvulsivantes. Isso foi bem documentado em um estudo com 10 crianças, as quais apresentavam crises convulsivas, já em tratamento com um ou mais anticonvulsivantes. A LTG foi administrada em doses superiores a 2 mg/kg/dia a pacientes que faziam uso de ácido valpróico e 10 mg/kg/dia para aqueles em tratamento com fenitoína, fenobarbital ou carbamazepina. Após três meses, a dose foi aumentada em 50%. O número total de convulsões decresceu em 8 de 10 pacientes; a

freqüência média do número total de convulsões decresceu de 168/mês (21 a 916) para 46/mês (6 a 644), após seis meses de tratamento. As crianças que apresentavam crises generalizadas clássicas e crises parciais complexas obtiveram as melhores respostas, com 100% e 29% dos casos, respectivamente, experimentando uma redução de mais de 50% na freqüência das convulsões. Convulsões mioclônicas diminuíram em 2 crianças, uma das quais conseguiu remissão completa. Entretanto, 4 delas tiveram um aumento na freqüência das convulsões mioclônicas. Convulsões tônico-clônicas diminuíram em mais de 50% em um dos pacientes. Um único e significativo efeito adverso notado foi a sonolência em 3 pacientes. Todavia, isso não exigiu uma redução na dosagem de nenhum deles ⁽³³⁾.

Doze crianças com epilepsia severa ou com risco de vida receberam LTG (250 a 900 mg/dia). Sete delas responderam ao tratamento e permaneceram no mesmo por 12 a 61 meses, sendo 4 em monoterapia. Nenhum paciente foi hospitalizado com estado epiléptico e nenhum efeito adverso foi relatado ⁽⁶²⁾.

Treze pacientes com Síndrome de Lennox-Gastaut (idade compreendida entre 5,5 a 27 anos) receberam LTG (100 a 400 mg/dia) em um estudo realizado por OLLER et al., 1991. Cinco delas retornaram completamente livres de convulsões após 2 meses a 2 anos de tratamento e oito obtiveram controle de pelo menos um tipo de convulsão. Seis pacientes também demonstraram melhoria na função cognitiva ⁽⁶⁵⁾.

LTG é efetiva no tratamento das convulsões parciais refratárias a outros regimes múltiplos de medicamentos. Redução na freqüência das convulsões tem sido demonstrada em pacientes com convulsões resistentes a

várias combinações com carbamazepina, fenobarbital, fenitoína e primidona^(34, 38, 59). Sete estudos duplo-cego, placebo-controlados de LTG como adjuvante terapêutico (n=457) demonstraram que a mesma é eficaz no tratamento das convulsões parciais refratárias. Seis estudos cruzados (n=241) avaliaram LTG como adjuvante terapêutico nas doses de 150 a 400 mg por 8 a 14 semanas. A redução média na frequência das convulsões, comparada com placebo variaram de 17% a 59%. Estas diferenças foram estatisticamente significativas em 5 estudos e uma significância estatística no 6º estudo. Em todos eles, a LTG produziu uma redução na frequência das convulsões de 26% ou mais em 48% dos pacientes e uma redução de 50% ou mais em 25% dos pacientes. No 6º mês de um estudo paralelo (n=216), observou-se uma redução média nas convulsões relativas à linha de base de 8%, 20% e 36% em pacientes recebendo placebo, LTG 300 mg/dia e LTG 500 mg/dia, respectivamente⁽⁵⁰⁾. Em adição, dados preliminares indicam que LTG pode ser útil no tratamento de convulsões primárias generalizadas^(08, 89).

TIMMING & RICHENS (1992) observaram que 15 de 19 pacientes adultos recebendo LTG tiveram redução de mais de 50% na frequência das convulsões; alguns foram capazes de interromper o uso de um ou mais anticonvulsivantes enquanto mantinham melhora no controle das convulsões. Sucesso no controle dos estados epiléticos foi relatado em um caso refratário a diazepam intravenoso⁽⁷³⁾; entretanto, mais dados são necessários para verificar o papel da LTG na terapia das desordens convulsivas.

Em um estudo duplo-cego, placebo-controlado e cruzado, 21 pacientes refratários a múltiplos anticonvulsivantes, incluindo fenobarbital,

fenitoína, primidona e carbamazepina, receberam LTG, por via oral, 50 a 100 mg/dia (dosagem ajustada para produzir concentrações plasmáticas de 1,5 a 2 μ g/mL) por duas semanas. Dezoito dos 21 pacientes apresentaram melhora com o tratamento com LTG; a redução média na frequência das convulsões foi 59% (intervalo de confiança=34 a 76%). Dezesesseis dos 17 pacientes tiveram melhora nas crises parciais simples e complexas; 8 dos 15 exibiram melhora nas convulsões secundariamente generalizadas. A LTG foi bem aceita com reações adversas mais comuns que incluíam fadiga, diplopia, sonolência, ataxia e dor de cabeça. Estas reações, no entanto, não foram consideradas severas ⁽³⁸⁾.

LTG foi estudada por SANDER et al. (1990) ⁽⁸⁹⁾, como adjuvante terapêutico em um estudo aberto, em 125 pacientes com epilepsia refratária severa. Dezenove pacientes foram excluídos do estudo devido ao aparecimento de efeitos adversos incluindo diplopia, dor de cabeça, ataxia, sonolência e erupção cutânea ou devido a um aumento na frequência das crises. Vinte e cinco por cento dos pacientes remanescentes no estudo, durante uma média de 11 meses, demonstraram redução de 50% ou mais na frequência das crises epileptiformes.

LOISEAU et al. (1990) estudaram a eficácia e segurança da LTG como adjuvante terapêutico em um estudo duplo-cego, placebo-controlado em 23 pacientes adultos com crises epiléticas parciais refratárias. Quinze pacientes experimentaram melhora com LTG, sendo que 7 destes alcançaram redução de 50% ou mais na frequência das convulsões. Os níveis sanguíneos de anticonvulsivantes administrados concomitantemente não foram alterados e nenhum efeito adverso foi notado.

LTG pode ser um importante adjuvante no tratamento do estado epilético. Uma jovem de 17 anos de idade cujas convulsões estavam parcialmente controladas com carbamazepina (1.200 mg/dia) e fenobarbital (200 mg/dia) apresentou um aumento inexplicado na frequência das convulsões. Essas progrediram a estado epilético convulsivo generalizado refratário a múltiplas preparações farmacêuticas e contínuas infusões de diazepam. Foi administrado 1g de LTG por 24 horas, seguido por 200 mg duas vezes ao dia, obtendo-se imediata regressão do estado epilético e resultando num decréscimo na frequência das convulsões para 2 ou 3/dia ⁽⁷³⁾.

LTG é contra-indicada para indivíduos com conhecida história de hipersensibilidade à lamotrigina, a insuficiências hepática e renal ⁽²⁸⁾, na gravidez e lactação e para crianças menores de 12 anos de idade ^(21, 42, 102).

2.7 Monitorização terapêutica

A possibilidade de se medir concentrações plasmáticas de fármacos antiepiléticos e a divulgação do uso desse procedimento têm evidenciado uma melhoria no tratamento de pacientes durante as últimas duas décadas. A dose terapêutica usual pode ter pequeno efeito em certos pacientes, causar efeito tóxico sério em alguns e ser satisfatória para outros ⁽²⁰⁾.

Em conformidade, a monitorização das concentrações plasmáticas da lamotrigina parece ser útil no esquema de dosagem, particularmente, naqueles pacientes que recebem o fármaco em combinação com um ou mais anticonvulsivantes estabelecidos, pois permite otimizar a farmacoterapia atingindo um máximo de benefício e minimizando os riscos de toxicidade,

uma vez que os efeitos terapêuticos e tóxicos são mais bem relacionados à concentração plasmática do que à dose administrada ^(31, 114).

Embora não exista uma faixa de concentração terapêutica definida para a lamotrigina plasmática, o intervalo de 1 a 4µg/mL tem sido proposto por alguns autores ^(03, 10, 80). No entanto, alguns estudos indicaram que alguns pacientes podiam tolerar concentrações superiores (>10µg/mL) sem exibir toxicidade clínica ^(02, 52, 82). A farmacocinética da lamotrigina, associada à possibilidade de uma estreita faixa terapêutica, é dependente das condições fisiopatológicas do paciente e da co-medicação. Logo, a individualização da dose muitas vezes se faz necessária ⁽¹¹⁰⁾. Portanto, a monitorização das concentrações plasmáticas da lamotrigina se torna de grande valia para se obter uma maior eficácia terapêutica e minimizar os riscos de toxicidade.

2.8 Aspectos toxicológicos

Os efeitos colaterais da LTG mais comumente observados em estudos placebo-controlados são: vertigens, sonolência, diplopia, cefaléia, ataxia, astenia, náusea, vômitos, erupção cutânea, cansaço, falta de firmeza de movimentos, angioedema, Síndrome de Stevens-Johnson (rara), irritabilidade e comportamento agressivo ^(02, 42, 91, 102). A relação entre o risco do aparecimento de efeitos tóxicos e o benefício farmacológico deve ser avaliada em situações clínicas em que haja comprometimentos hepático e/ou renal ⁽¹⁰²⁾.

Se a dose recomendada para o início da terapia for em excesso, pode haver um aumento na incidência de erupções cutâneas requerendo a redução ou escalonamento das doses do fármaco ^(21, 57).

Nenhuma mudança foi observada no ritmo cardíaco e na pressão arterial. Parece não haver relação entre o uso de lamotrigina e o impedimento da função cognitiva (atenção e concentração, eficiência cerebral geral, função de memória imediata), nem na memória de curto prazo e habilidade para novos aprendizados ⁽⁵⁸⁾.

A suspensão abrupta do fármaco pode causar crises de rebote; para evitar este risco, a dose deve ser reduzida gradualmente pelo período de duas semanas ⁽²¹⁾.

Efeitos hematológicos

LTG tem demonstrado possuir uma fraca ação inibitória, *in vitro*, sobre a diidrofolato redutase ⁽⁰²⁾; entretanto este efeito não tem sido provado clinicamente significativo. Leucopenia, anemia macrocítica, diminuição nos tempos de protrombina e tromboplastina, além de um aumento dos valores para fibrinogênio, têm sido relatados ^(57, 58, 78).

Efeitos sobre o sistema nervoso central

Vertigens, ataxia, sonolência e dor de cabeça são as reações adversas mais comumente relatadas com a terapia com LTG. Estes efeitos geralmente não são severos e raramente levam à interrupção do tratamento. Logastenia,

vertigem, confusão, irritabilidade, depressão, falta de coordenação e hostilidade também têm sido relatadas ^(02, 38). Todas as reações adversas foram relatadas por pacientes recebendo outros fármacos concomitantemente.

Efeitos gastrintestinais

Em estudos clínicos, náuseas e vômitos têm ocorrido com a administração oral de LTG, sendo estes efeitos dose dependente ^(38, 78). A incidência de náusea com lamotrigina x placebo foi 18,6% x 9,5%, respectivamente. Anorexia, dor e aumento do abdômen têm sido relatados em um pequeno número de pacientes ⁽⁰²⁾.

Efeitos geniturinários

Hematúria foi relatada em 5% dos pacientes recebendo LTG em um estudo clínico ⁽³⁸⁾; entretanto, nenhuma relação causal tem sido determinada.

Hepatotoxicidade

Pequenas elevações na bilirrubina plasmática têm sido observadas com LTG ^(18, 78); entretanto, o valor biológico deste achado é desconhecido.

Efeitos sobre a visão

Em estudos clínicos, a diplopia e visão obscura têm sido relatadas em pacientes recebendo LTG. Estes efeitos são dose dependentes e ocorrem, mais freqüentemente, em pacientes aos quais são administrados, concomitantemente, a CBZ ^(02, 42, 78, 102).

Nistagmo raramente tem ocorrido durante o tratamento com LTG ⁽⁷⁸⁾.

Efeitos dermatológicos

A incidência de erupções cutâneas em estudos placebo-controlados foi de 10% para LTG x 5% para placebo. A incidência cumulativa em 3015 pacientes que participaram de todos os estudos clínicos (controlados e não controlados) foi 11,2% (339/3015). Foi ainda o efeito mais freqüentemente descrito como morbiliforme, de aparência maculopapular, de natureza não severa e sanado sem interrupção do tratamento com LTG. Noventa e cinco dos 3015 pacientes (3,2%) interromperam o tratamento devido ao aparecimento de erupções cutâneas. Trinta e um (1%) foram classificados como severos pelo investigador, incluindo 3 relatos de Síndrome de Stevens-Johnson. Todos os pacientes que apresentaram erupção cutânea considerada severa obtiveram recuperação sem seqüelas ⁽⁷⁸⁾.

A incidência deste efeito é maior naqueles pacientes que fazem uso concomitante de ácido valpróico e parece ser maior ainda naqueles que recebem doses iniciais elevadas de LTG ou têm uma rápida alteração do

regime de dosagem ⁽⁷⁸⁾. A terapia adjuvante (2 mg/k/dia) no ácido valpróico deve ser iniciada com uma pequena dose como recomendado ⁽⁷⁸⁾.

Mortes súbitas inexplicadas em pacientes epiléticos em uso de LTG têm sido relatadas. A taxa de tais mortes, entretanto, é consistente com a população geral de pacientes com epilepsia ⁽⁵⁸⁾.

Efeitos músculo-esqueléticos

Astenia, neuropatias periféricas, calafrios, tremores e dores musculares e torácicas são reações adversas que raramente ocorrem com LTG ^(02, 38); apesar de não ter sido estabelecida uma relação causal.

Teratogênese

Segundo o FDA, lamotrigina está classificada na categoria C e não há informações suficientes a respeito dos seus efeitos teratogênicos para que se recomende ou não o seu uso durante a gravidez.

Este fármaco é um fraco inibidor da diidrofolato-redutase; há, portanto, um risco teórico de deformações fetais em seres humanos quando a mãe for tratada com um inibidor de folato durante a gravidez. Todavia, estudos de efeitos tóxicos na reprodução com Lamictal[®], em animais de experimentação, com doses que excediam às terapeuticamente indicadas para seres humanos, não mostraram efeitos teratogênicos ^(21, 58, 79).

RICHEMS (1994) relatou a análise de 42 gestações sem qualquer evidência clara de teratogenicidade induzida pela lamotrigina.

Carcinogênese e mutagênese

Nenhuma evidência de carcinogenicidade foi relatada em três estudos, a longo prazo, em ratos e camundongos ^(21, 58, 79) e os resultados de toda uma gama de testes mutagênicos indicam que a lamotrigina não apresenta risco genético ao homem ^(21, 58, 79).

Gravidez e lactação

São insuficientes os dados disponíveis sobre o uso de lamotrigina na gravidez humana, para que se avalie sua segurança na mesma. Como ocorre com a maior parte dos fármacos, lamotrigina não deve ser usada durante a gravidez, a menos que, na opinião do médico, os benefícios potenciais do tratamento para a mãe superem quaisquer possíveis riscos ao organismo em desenvolvimento ^(21, 58, 78).

Não há informação disponível sobre as concentrações de lamotrigina ou de seus produtos de biotransformação que possam aparecer no leite materno após a administração de Lamictal® ^(21, 58, 78).

2.9- Interação medicamentosa

A terapia antiepiléptica tradicional está associada a inúmeras interações farmacocinéticas. Mecanismos padrão de interação como indução e inibição enzimáticas, além de deslocamento da ligação às proteínas plasmáticas podem ser responsáveis por importantes alterações nas

concentrações sanguíneas de anticonvulsivantes ⁽⁷⁹⁾. Interações, clinicamente relevantes, envolvendo anticonvulsivantes novos e convencionais, têm sido descritas e revisadas por PATSALOS & DUNCAN (1993).

O conhecimento de interações farmacocinéticas é especialmente importante para o julgamento da eficácia clínica de novos anticonvulsivantes. Usualmente, esses são, a princípio, utilizados como adjuvantes terapêuticos em pacientes nos quais a epilepsia é refratária aos tratamentos convencionais.

Do ponto de vista farmacocinético, a monoterapia deveria ser considerada como regime de tratamento de escolha para avaliar conseqüências negativas de interações medicamentosas, como efeitos adversos decorrentes do aumento das concentrações plasmáticas ou ineficiência da terapia causada por concentrações diminuídas ⁽⁷⁹⁾.

Anticoncepcionais de uso oral

Estudos preliminares sugerem que a LTG não afeta os níveis plasmáticos de baixas doses de etinilestradiol ou levonorgestrel de uso oral ^(37, 79). Apesar de serem necessários mais estudos, LTG pode ser um anticonvulsivante alternativo para mulheres que utilizam este tipo de método para contracepção ⁽³⁷⁾.

HOLDICH et al. (1991) realizaram um estudo com 12 voluntárias saudáveis, em que a lamotrigina não afetou, de modo significativo, as concentrações plasmáticas do etinilestradiol e do levonorgestrel, após a administração da pílula anticoncepcional. Este estudo foi conduzido no

decorrer de 3 ciclos (150 mg de LTG foi administrada diariamente a partir do 22º dia do 1º ciclo até o 7º dia do 2º ciclo) e nenhuma mudança no padrão de sangramento foi relatada.

Paracetamol (Acetaminofeno)

DEPOT et al. (1990) realizaram um estudo aleatório no qual avaliaram os efeitos farmacocinéticos decorrentes da administração oral, em doses múltiplas, de acetaminofeno (900 mg de acetaminofeno três vezes ao dia) a voluntários sadios, antes ou após a administração de 300 mg de LTG em dose única. Esta associação resultou em uma diminuição na área sobre a curva (AUC) e $t_{1/2}$ sérica de 20% e 15%, respectivamente, comparada à administração de placebo. A depuração renal da lamotrigina aumentou em 7%, após dose única do anticonvulsivante, porém a significância clínica e o mecanismo deste efeito não são conhecidos. Nenhuma diferença no pico de concentração plasmática ou no tempo necessário para atingir o mesmo foi observada. A porcentagem de LTG recuperada na urina também foi maior quando o fármaco foi administrado associado ao acetaminofeno. Este fato sugere que este último pode aumentar a remoção da LTG da circulação ⁽²²⁾.

Portanto, deve-se controlar a eficácia da terapia com LTG quando esta for administrada concomitantemente com o acetaminofeno, uma vez que a diminuição da eficácia do tratamento pode ocorrer. No entanto, um aumento na dosagem de LTG parece não ser necessário, a menos que ocorra diminuição do efeito terapêutico. Doses ocasionais de acetaminofeno, aparentemente, não representariam um problema ⁽⁵⁸⁾.

Anticonvulsivantes

Potentes indutores enzimáticos, incluindo a carbamazepina (CBZ), aumentam a biotransformação da lamotrigina ^(07, 38, 42, 69). Enquanto a LTG possui, no estado de equilíbrio, uma meia-vida de eliminação de aproximadamente 24 horas, quando co-administrada a CBZ, esta meia-vida é reduzida para cerca de 15 horas ^(07, 38, 69, 97).

A ação da LTG na biotransformação da carbamazepina resultando em um aumento nas concentrações plasmáticas do principal produto de biotransformação, o 10,11 epóxido de carbamazepina (10,11 ECBZ), foi relatada por WARNER et al. (1992). Em 9 pacientes, concentrações médias de 10,11 ECBZ aumentaram 45% após a introdução de LTG 100 a 300 mg/dia, enquanto a relação 10,11 ECBZ/CBZ aumentou 19%. Em 4 pacientes, estas alterações foram associadas à toxicidade, provavelmente, relacionada ao produto de biotransformação.

A biotransformação da lamotrigina é aumentada pelo fenobarbital (FB) e pela fenitoína (FN) ^(38, 42, 69). A co-administração tanto do FB como da FN reduz a meia-vida da LTG para aproximadamente 15 horas ^(07, 38, 69).

Elevadas doses de LTG são necessárias quando são co-administrados potentes indutores enzimáticos como a fenitoína e a carbamazepina.

O ácido valpróico (VA) interfere com a biotransformação da lamotrigina, aumentando a meia-vida dessa para cerca de 60 horas ^(07, 42, 69, 72). Um aumento do efeito terapêutico da LTG com esta combinação tem sido sugerido por PANAYIOTOPOULOS et al. (1993), mas maiores investigações são necessárias. Ajustes adicionais da dose são

requeridos se a LTG for administrada em combinação com ácido valpróico ⁽⁷⁸⁾. O fabricante recomenda a redução da dose de LTG, se o paciente estiver recebendo, concomitantemente, o ácido valpróico ⁽⁷⁸⁾.

Concentrações plasmáticas de ácido valpróico, fenitoína, carbamazepina, fenobarbital ou primidona, em 23 pacientes, não foram alteradas pela administração de LTG (75 a 250 mg/dia), durante uma semana ⁽³⁹⁾.

LOUISEAU et al. (1990) realizaram um estudo controlado no qual LTG foi administrada como adjuvante terapêutico (150 a 300 mg/dia), por via oral, a 23 pacientes que faziam uso concomitante de fenitoína, carbamazepina e fenobarbital. Neste grupo de pacientes, as concentrações de fenitoína, carbamazepina e fenobarbital permaneceram inalteradas.

SANDER et al. (1990)⁽⁸⁹⁾ também realizaram um estudo controlado no qual LTG (100 a 200 mg/dia) foi administrada, por via oral, a 21 pacientes com epilepsia e que também faziam uso de carbamazepina, fenitoína, ácido valpróico e fenobarbital. Os resultados encontrados demonstraram que as concentrações plasmáticas destes anticonvulsivantes não foram afetadas pelo tratamento com LTG.

SCHAPEL et al. (1991) também administraram LTG (150 a 300 mg/dia), como adjuvante terapêutico, a 41 pacientes e as concentrações plasmáticas dos anticonvulsivantes administrados concomitantemente (CBZ, FN, VA) não foram alteradas.

Os efeitos anticonvulsivantes da LTG (75 a 400 mg/dia) foram medidos em um estudo cruzado em 24 pacientes adultos ⁽³⁸⁾ e alterações, estatisticamente significativas, nas concentrações de fenitoína,

carbamazepina, primidona ou fenobarbital não foram encontradas entre 2 períodos de tratamento.

Inibidores de folato (IF)

Por ser inibidora, embora fraca, da diidrofolato-redutase, a LTG poderá interferir com o metabolismo dos folatos. Portanto, deve-se ter cautela quando prescrever outros fármacos que também possam inibir o metabolismo fólico ⁽⁷⁸⁾.

Outros fármacos

POSNER et al. (1991), realizaram uma investigação na qual participaram 18 voluntários sadios e aos quais foram administrados 200 mg/dia de LTG ou placebo, ambos por via oral, por 14 dias. A depuração da fenazona (antipirina) e as concentrações urinárias de 6-beta-hidroxycortisol foram avaliadas como uma medida da indução de enzimas microssômicas e essas não sofreram alteração durante o período em que a lamotrigina foi administrada. No decorrer do estudo, 4 voluntários tiveram que interromper o tratamento com LTG devido ao aparecimento de erupções cutâneas.

A administração concomitante de LTG com inibidores da protease, segundo BROOKS et al. (1998), parece não ocasionar a redução dos níveis séricos destes.

2.10- Aspectos analíticos

O controle da epilepsia tem sido grandemente influenciado pela introdução de testes rápidos e reprodutíveis para se determinar os níveis plasmáticos de anticonvulsivantes. Isso tem levado ao uso mais racional deste grupo de agentes terapêuticos, com ênfase na terapia otimizada pela integração da medida das concentrações do fármaco juntamente com as observações clínicas ⁽⁹⁸⁾.

A cromatografia em fase gasosa, a cromatografia líquida de alta eficiência e os imunoenaios homogêneos são as técnicas analíticas mais comumente utilizadas para medidas rotineiras de concentrações plasmáticas de anticonvulsivantes, assim como as técnicas de diálise de equilíbrio, ultracentrifugação e ultrafiltração para a determinação da fração não ligada ⁽²⁰⁾. A lamotrigina pode ser determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), imunoenaios (IE) e cromatografia gasosa (CG) em fluidos biológicos ^(45, 80, 105).

2.10.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Alguns métodos empregando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para a determinação das concentrações de lamotrigina em plasma humano, têm sido relatados.

Estes procedimentos incluem CLAE de fase normal e reversa, após extração do analito por fase líquida, sob condições alcalinas ^(18, 26), bem como ensaios com par iônico, após extração em fase sólida ^(40, 95) algumas

vezes com possibilidade de se determinar simultaneamente outros anticonvulsivantes.

Um dos primeiros métodos de cromatografia líquida de alta eficiência em amostras de soro para lamotrigina foi desenvolvido por LAND et al. (1987) usando extração com acetato de etila, de amostras alcalinizadas, e separação numa coluna de sílica-gel. Os métodos de pré-tratamento da amostra e separação por cromatografia líquida de alta eficiência foram modificados por JUERGENS (1988), que usaram coluna de fase reversa para a separação do analito e extração em fase sólida com colunas C-18, ou extração líquido-líquido com colunas Extrelut[®]. A separação da lamotrigina de outros anticonvulsivantes por cromatografia em fase reversa com tampão fosfato básico (pH = 9,0) contendo trietilamina ou n-butilamina foi executada por JUERGENS (1988).

COCIGLIO et al. (1991) descreveram uma metodologia por cromatográfica líquida com coluna de fase reversa para a estimativa da lamotrigina. O fármaco e um padrão interno foram extraídos do plasma com acetonitrila, separados pela coluna LiChrospher[®] 100CN e determinados no ultravioleta a 280 nm.

SINZ & REMMEL (1991)⁽⁹⁶⁾ descreveram as análises da lamotrigina e da lamotrigina 2-N-glicuronídeo em sangue total e urina de porcos por cromatografia líquida em fase reversa e par iônico. Foi empregado o dodecilsulfato de sódio como um reagente de par iônico para separar seletivamente a lamotrigina e lamotrigina 2-N-glicuronídeo de componentes endógenos do sangue, de outros anticonvulsivantes e seus produtos de

biotransformação. Idêntico sistema de análise tem sido aplicado para urina, sangue e cérebro humanos.

FAZIO et al. (1992) desenvolveram um método sensível, específico e rápido empregando cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação da lamotrigina. O fármaco e um padrão interno foram extraídos com acetato de etila após a alcalinização da amostra e analisados usando-se coluna de alta eficiência. O comprimento de onda utilizado foi 313 nm.

2.10.2 Imunoensaios (IE)

SAILSTADT & FINDLAY (1991) desenvolveram um método imunofluorimétrico para análise de lamotrigina em amostras de plasma coletadas durante testes clínicos.

Um imunoensaio para a determinação de lamotrigina em plasma humano foi descrito por BIDDLECOME et al. (1990). O método é um procedimento direto, duplo, que emprega, inicialmente, anticorpos policlonais de coelho, anticorpos cultivados para a conjugação da albumina sérica bovina à lamotrigina e ao iodinato tirosina metil éster de lamotrigina como o traçador.

2.10.3 Cromatografia gasosa (CG)

WATELLE et al. (1997) descreveram um método que empregava a cromatografia gasosa com detector de nitrogênio-fósforo para a determinação de lamotrigina em soro. O método descrito requer preparação

mínima da amostra, é competitivo com os procedimentos de CLAE relatados em termos de precisão e sensibilidade e, também, pode ser empregado em testes de triagem. Este método foi derivado, com pequenas modificações, do procedimento descrito por CALDWELL & CHALLENGER (1989) utilizado para a identificação de drogas de abuso em amostras de urina e por COX et al. (1989) para triagem de drogas básicas em sangue total.

3 Objetivos e Plano de Trabalho

Durante as últimas duas décadas, a possibilidade de se medir concentrações plasmáticas de anticonvulsivantes e a difusão da importância deste procedimento para estabelecer a individualização da dose têm, marcadamente, melhorado o tratamento de pacientes com epilepsia.

Através deste estudo, estamos propondo um método sensível, específico, preciso e exato que possa ser aplicado à monitorização das concentrações plasmáticas de **lamotrigina** com a finalidade de controle terapêutico, em pacientes sob terapia antiepiléptica, visando sua otimização.

Para cumprir tais objetivos, elaboramos o seguinte plano de trabalho:

- Padronizar e validar um método analítico que possa ser aplicado à monitorização das concentrações plasmáticas de **lamotrigina**, com a finalidade de controle terapêutico, utilizando-se extração líquido-líquido e cromatografia líquida de alta eficiência;
- Aplicar a metodologia proposta a amostras de plasma obtidas de pacientes epiléticos submetidos à politerapia, na qual a **lamotrigina** foi utilizada como adjuvante terapêutico;

- Correlacionar as concentrações plasmáticas da **lamotrigina** com efeitos terapêuticos e/ou tóxicos;
- Verificar a existência de uma possível faixa de concentrações terapêuticas que possa ser recomendada para o fármaco;
- Detectar possíveis alterações bioquímicas e/ou hematológicas decorrentes do tratamento prolongado com a **lamotrigina** como adjuvante terapêutico.

4 Material e Métodos

4.1 Casuística

Foram investigados 19 (dezenove) pacientes, com diferentes tipos de crises epilépticas, de consultórios particulares, fazendo uso prolongado (crônico) de lamotrigina associada a outros anticonvulsivantes.

Participaram do estudo, indivíduos ($n = 19$) de ambos os sexos e de faixa etária entre 12 e 30 anos, cujas características foram anotadas segundo modelo apresentado no Anexo 1 e descritas na TABELA IV.

Os pacientes e/ou seus responsáveis legais foram informados, em detalhes, oralmente e por escrito (Anexo 2) sobre o estudo a ser realizado e forneceram o consentimento de participação por escrito conforme modelo apresentado no Anexo 3.

Exames laboratoriais complementares em sangue total, soro e urina (Anexo 4) foram realizados para uma melhor avaliação clínica.

A identificação, características do tratamento (medicamentos associados) relativos aos participantes do estudo encontram-se, também, na TABELA IV.

TABELA IV - Identificação, características do tratamento relativos aos participantes do estudo

Número	Paciente	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (metros)	Medicamentos Associados*
01	R.S.B.	M	25	65,00	1,72	CBZ
02	J.R.C.	M	18	73,45	1,80	VA
03	D.P.B.	F	23	56,70	1,60	FB, VA
04	I.T.M.S.	F	20	42,90	1,53	FN, PC
05	O.G.P.	F	26	63,90	1,70	FN
06	S.M.	F	28	71,80	1,68	VA
07	J.F.A.	M	25	69,00	1,78	FN, VA
08	A.V.M.	M	30	68,50	1,69	FN
09	M.S.F.	F	29	71,80	1,65	CBZ, VA, PC
10	M.A.P.	F	30	58,60	1,58	PR
11	L.S.C.	F	24	69,00	1,70	VA
12	C.R.P.	F	22	63,00	1,66	FN, PC
13	F.J.R.O.	M	19	76,00	1,73	CBZ
14	M.A.J.S.	M	20	69,00	1,70	FB, VA
15	P.A.	F	21	57,00	1,63	VA
16	A.C.R.	F	22	54,00	1,60	CBZ, PC
17	E.G.C.	M	15	52,00	1,62	VA
18	M.M.D.	M	12	50,00	1,56	FN
19	M.F.L.	M	21	90,00	1,80	FN

*CBZ = carbamazepina, FN = fenitoína, FB = fenobarbital, VA = ácido valpróico, PR = primidona, PC = paracetamol

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

4.2 Material

4.2.1 Padrões

- .BW725C (padrão interno - PI) - *Cardiff Bioanalytical Services*
- .Lamotrigina (LTG) - *Cardiff Bioanalytical Services*
- .Carbamazepina - *Biogalênica*
- .10, 11 epóxido de carbamazepina - *Ciba-Geigy*
- .Fenobarbital - *Rhodia S.A.*
- .Fenitoína - *UCI-Farma*
- .Primidona - *UCI-Farma*

4.2.2 Solventes e reagentes

- .Metanol Ohminisolv[®] - *EM Science*
- .Acetato de etila Ohminisolv[®] - *EM Science*
- .Trietilamina (para análise) - *Merck*
- .Água ultrapura Milli-Q[®] - *Millipore*
- .Ortofosfato diácido de potássio (para análise) - *Merck*
- .Hidróxido de sódio (para análise)- *Merck*

4.2.3 Soluções

- .Solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M em água ultrapura.

.Solução de ortofosfato diácido de potássio, metanol e trietilamina.

Fase móvel constituída por uma solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M, metanol e trietilamina nas proporções 560: 435: 0,1 v/v/v, foi preparada, filtrada e desgaseificada sob pressão através de filtro *Millipore* de 0,22 μ m.

.Solução de hidróxido de sódio 5M em água ultrapura.

.Solução estoque de BW725C (padrão interno) a 1mg/mL de metanol.

.Solução trabalho de BW725C a 20 μ g/mL de metanol.

Esta solução trabalho foi preparada pela diluição adequada da solução estoque de padrão interno.

.Solução trabalho de BW725C a 20 μ g/mL de hidróxido de sódio 5M. Esta solução trabalho foi preparada pela diluição da solução estoque de padrão interno com hidróxido de sódio 5M.

.Solução estoque de lamotrigina a 1mg/mL de metanol.

Alíquotas da solução estoque de lamotrigina foram diluídas em metanol a fim de se obter soluções padrão nas concentrações a 100, 10 e 1 μ g/mL de metanol.

.Solução trabalho de lamotrigina a 100 μ g/mL de plasma branco de referência (4.2.7.1). A solução estoque de lamotrigina foi diluída em plasma branco de referência.

.Solução-padrão de carbamazepina 12,50 μ g/mL de plasma branco de referência.

.Solução-padrão de 10, 11 epóxido de carbamazepina (10,11 ECBZ) 2,50 μ g/mL de plasma branco de referência.

.Solução-padrão de fenobarbital 12,50 μ g/mL de plasma branco de referência.

.Solução-padrão de fenitoína 15 μ g/mL de plasma branco de referência.

.Solução-padrão de primidona 25 μ g/mL de plasma branco de referência.

4.2.4 Calibradores

Alíquotas da solução trabalho de lamotrigina (4.2.3) foram convenientemente diluídas com plasma branco de referência (4.2.7.1) para obtenção de calibradores nas concentrações 0,5;

1,0; 5,0 e 10µg/mL. Após a preparação dos calibradores, os mesmos foram divididos em tubos devidamente rotulados.

4.2.5 Controles

Aliquotas da solução trabalho de lamotrigina (4.2.3) foram apropriadamente diluídas com plasma branco de referência (4.2.7.1) para a obtenção de controles nas concentrações 0,3; 4,0 e 9,0µg/mL. Após a preparação dos controles, os mesmos foram divididos em tubos devidamente identificados.

Observação: todas as soluções, calibradores e controles foram armazenados a -20°C e ao abrigo da luz.

4.2.6 Equipamentos e acessórios

- Cromatógrafo a líquido *LKB* modelo 2152 -LC (alça de 20µL);
- Detector de absorvância no UV operando em 306 nm (1,28 aufs) modelo 2151;
- Integrador *LKB* modelo 2220;
- Bomba *LKB* modelo 2150;
- Coluna Supelcosil™ LC-18 (150x4,6 mm), partículas de 5,0µm - *Supelco*;
- Pré-coluna Supelguard™ (2cmx4,6 mm) - *Supelco*;
- Balança analítica modelo R 200D - *Dräger do Brasil*;

- Ultra-som modelo T7 - *Thorton*;
- Sistema de evaporação em banho de água com termômetro modelo S1399 - *Precision Scientific Co*;
- Agitador mecânico horizontal - *Ética Equipamentos Científicos S.A.*;
- Agitador mecânico tipo vortex modelo AD 8850 - *Donner*;
- Centrífuga Clínica Spin IV[®] - *Incibrás*;
- Bomba a vácuo - *Fabbe*;
- Destilador - desionizador de água Milli-Q[®] - *Millipore*;
- Filtro Durapore tipo GVWP04700 - 0,22 µm - *Millipore*;
- Tubos de vidro cônicos, com tampa esmerilhada;
- Micropipetas automáticas, com volumes reguláveis, Finnpiquette[®] - *Labsystems*;
- Microseringa com capacidade para 50µL - *Hamilton*;
- Ponteiros;
- Vidraria para filtração da fase móvel e em geral;
- Freezer e refrigerador.

4.2.7 Amostras

Plasma

Plasma humano, sorologicamente negativo para hepatite B, hepatite C, HIV, Chagas, sífilis, HTLV-I, doado pela Fundação

Pró-Sangue (Hemocentro de São Paulo). Este plasma foi usado como branco de referência, após análise negativa quanto à presença de lamotrigina.

Sangue

Amostras de sangue de 19 (dezenove) pacientes em tratamento com a lamotrigina foram coletados com tubos Vacuntainer® em três alíquotas adequadas para cada tipo de análise a ser realizada. A coleta de sangue foi realizada com jejum de 12 horas e 90 min após a administração da última dose do fármaco. Para a obtenção de plasma, utilizou-se a heparina como anticoagulante. Duas alíquotas de sangue foram centrifugadas (10 minutos a 1800g) e as frações plasma e soro foram separadas. O plasma foi armazenado a -20°C até o momento da análise cromatográfica e o soro e o sangue total (adicionado de EDTA) analisados imediatamente.

Urina

Para a realização das análises de urina tipo I, utilizou-se a primeira urina da manhã, coletada de jato médio e obtidas pelos próprios pacientes (dezenove) em tratamento com lamotrigina.

Soro liofilizado

Soros liofilizados contendo anticonvulsivantes em concentrações variadas (AA1292; BB1292; CC1292; DD1292; EE1292; FF1292; GG1292 e HH1292) provenientes do "Heath Control External Quality Assessment Scheme for Therapeutic Drug Assays - Cardiff, Wales - Bioanalytical Services, U.K." (HEQAS) foram reconstituídos com 5,0 mL de água ultrapura, para o estudo da exatidão do método a ser validado.

4.3 Métodos

4.3.1 Determinação de lamotrigina em plasma por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

4.3.1.1 Otimização das condições cromatográficas

Para otimização das condições cromatográficas, calibradores (4.2.4) (1mL) nas concentrações 1µg/mL e 10µg/mL de plasma branco de referência, foram transferidas para tubos cônicos de tampa esmerilhada e a cada um foram adicionados 50µL da solução trabalho de BW725C em hidróxido de sódio 5M (20µg/mL). As amostras foram submetidas ao procedimento de extração que será descrito a seguir (4.3.1.2).

Foram avaliados os seguintes parâmetros: colunas cromatográficas, composição e fluxo da fase móvel.

Para detecção da LTG empregou-se detector de absorvância na região do UV em comprimento de onda fixo de 306nm. As atenuações usadas na leitura do sinal emitido pelo detector foram de 4 a 6 aufs.

4.3.1.2 *Padronizaçãodo procedimento analítico de extração líquido-líquido da lamotrigina em plasma*

Um mililitro de plasma foi transferido para tubo cônico de tampa esmerilhada, ao qual foram adicionados 50µL da solução de BW725C a 20µg/mL de hidróxido de sódio 5M (padrão interno - PI). A amostra foi submetida a procedimento de extração com acetato de etila (10 mL), agitação por 15 min em agitador mecânico horizontal e centrifugação (10 minutos a 1800g). Após a evaporação do extrato em banho de água, à temperatura de 45°C e mediante fluxo de ar, foram adicionados ao resíduo 100µL da solução testada como fase móvel (4.2.3) injetados 50µL do resíduo reconstituído no cromatógrafo.

O fluxograma do procedimento analítico de extração da lamotrigina em amostras de plasma está apresentado na FIGURA 4.

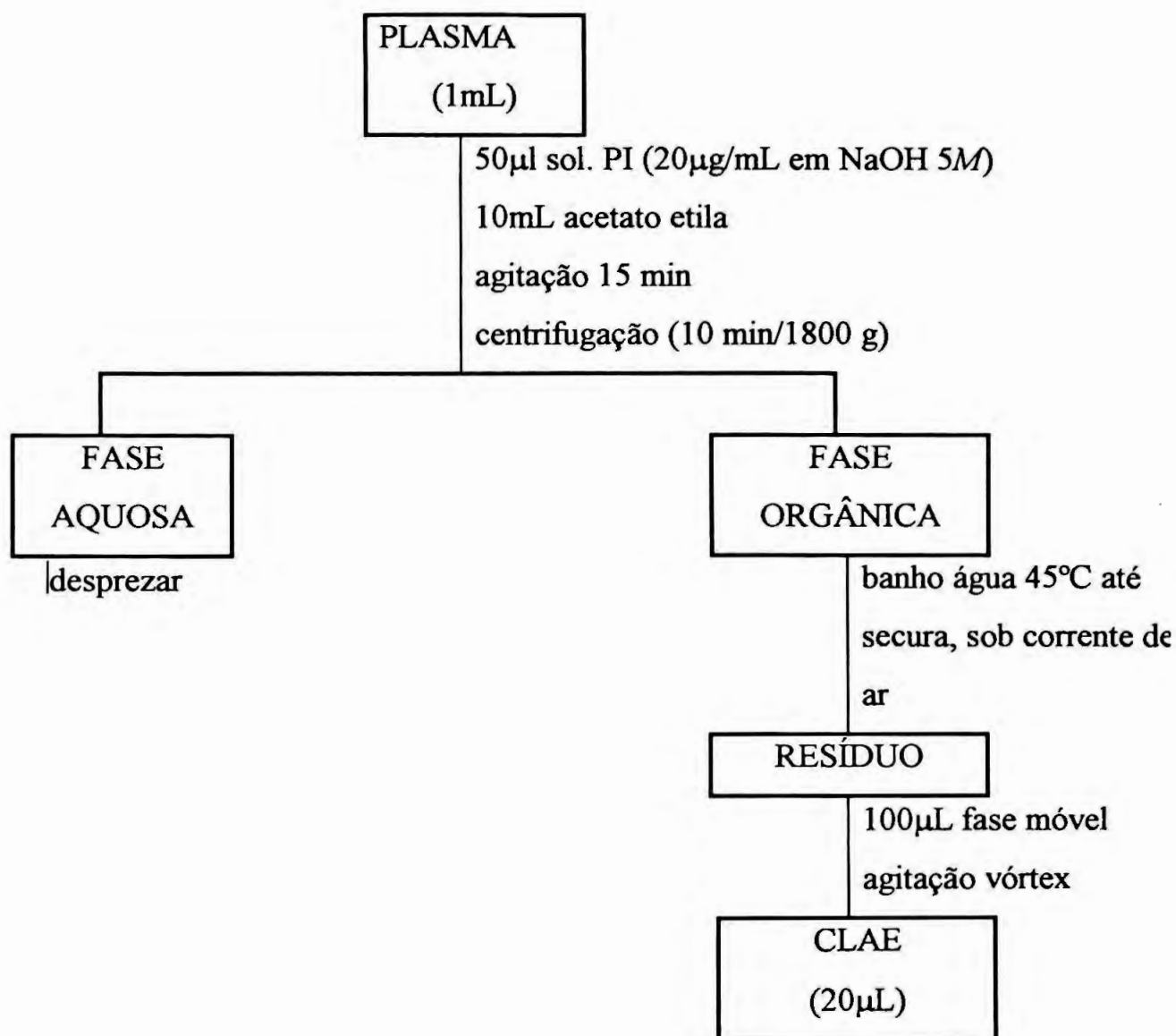


FIGURA 4 - Fluxograma do procedimento analítico de determinação de lamotrigina em plasma

Coluna: Supelcosil™ LC-18 (150 x 4,6mm), partículas de 5,0µm

Pré-coluna: Supelguard™ (20 x 4,6 mm)

Fase móvel: solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M, metanol e trietilamina (560: 435: 0,1 v/v/v)

Detector: por absorvância no UV (306nm)

4.3.2 Validação do método analítico

4.3.2.1 Curva de calibração

A curva de calibração foi elaborada a partir de amostras de plasma calibradores (4.2.4), contendo LTG nas concentrações de 0,5 a 10 μ g/mL, os quais foram submetidos a procedimentos de extração conforme descrito em 4.3.1.2.

Foi construída, projetando-se no eixo das abcissas as concentrações plasmáticas de lamotrigina (μ g/mL) e no eixo das ordenadas as relações de áreas obtidas entre os picos da lamotrigina e do padrão interno. A análise de regressão linear foi efetuada para obtenção da equação da reta.

Paralelamente à construção de cada curva de calibração, foram analisados controles (4.2.5): alto (9,0 μ g/mL), médio (4,0 μ g/mL) e baixo (0,3 μ g/mL).

Os ensaios foram realizados em duplicata.

4.3.2.2- Limites de detecção e de quantificação

O limite de detecção (LOD), considerado como a menor concentração que pode ser diferenciada do ruído de base ⁽⁹⁴⁾, foi calculado por diluições sucessivas das soluções trabalho de lamotrigina, em diversas concentrações, as quais foram transferidas para tubos

cônicos com tampa esmerilhada e submetidas ao procedimento de extração conforme descrito no item 4.3.1.2.

O limite de quantificação (LOQ), considerado a menor concentração onde o coeficiente de variação obtido foi inferior a 10% ⁽⁹⁴⁾, em cinco determinações, foi obtido em amostras de plasma calibradores diluídas, apresentando diferentes concentrações de lamotrigina, as quais foram submetidas aos procedimentos de extração e quantificação conforme descrito em 4.3.1.2 e 4.3.2.1, respectivamente. A relação das áreas da lamotrigina e do padrão interno foi empregada no cálculo do coeficiente de variação.

Os ensaios foram efetuados em quintuplicata.

4.3.2.3 Linearidade

Para avaliação da região linear de resposta do detector a diferentes concentrações do fármaco, alíquotas de 1mL das soluções de lamotrigina nas concentrações 0,20 a 12,04 μ g/mL, preparadas a partir da solução trabalho de LTG (4.2.3), foram transferidas para tubos cônicos com tampa esmerilhada, juntamente com 50 μ L do PI (20 μ g/mL de hidróxido de sódio 5M) e submetidas aos procedimentos de extração (4.3.1.2) e quantificação (4.3.2.1). Os ensaios foram realizados em triplicata e, a análise de regressão linear foi elaborada para obtenção da equação da reta.

4.3.2.4 *Recuperação Relativa do Método*

No estudo da recuperação relativa do método foram empregadas amostras de plasma calibradores (4.2.4) contendo lamotrigina nas concentrações 1 e 10µg/mL, as quais foram submetidas aos procedimentos de extração e quantificação do fármaco, conforme descrito nos itens 4.3.1.2 e 4.3.2.1. Aliquotas de 1mL das soluções de LTG nas concentrações de 1µg/mL e 10µg/mL (4.2.4) foram transferidas para tubos cônicos, juntamente com 50µL da solução de BW725C 20µg/mL de metanol e submetidas à evaporação em banho de água à temperatura de 45°C, sob corrente de ar, até resíduos. Estes foram ressuspensos e cromatografados conforme condições cromatográficas otimizadas (4.3.1.1).

A comparação da relação de áreas da lamotrigina e do padrão interno extraídos com a relação das áreas da lamotrigina e do padrão interno não extraídos permitiu a determinação da recuperação relativa.

Foram analisadas 10 amostras de cada uma das concentrações acima citadas.

4.3.2.5 *Precisão do Método*

Para a avaliação da precisão do procedimento analítico, amostras de plasma controles (4.2.5) contendo lamotrigina nas concentrações 0,3; 4,0 e 9,0µg/mL foram submetidas a procedimentos de extração e quantificação do fármaco, conforme descrito nos itens 4.3.1.2 e 4.3.2.1,

respectivamente. Os ensaios foram realizados em sextuplicata e em 3 dias alternados.

4.3.2.6 Exatidão

A exatidão do método foi averiguada através da comparação dos resultados das análises das amostras de soros liofilizados (4.2.7) obtidos pelo método proposto com a quantidade de lamotrigina adicionada e o valor das médias obtidas pelos vários laboratórios participantes do “Heath Control External Quality Assessment Scheme for Therapeutic Drug Assays”.

4.3.2.7 Interferentes

Para detectar possíveis interferências de fármacos administrados em associação com a lamotrigina para o tratamento dos vários tipos de epilepsia, submeteu-se as soluções padrão dos fármacos de interesse (4.2.3) descritos na TABELA V, em concentrações iguais e/ou superiores às terapêuticas, à técnica cromatográfica proposta, aguardando-se tempo de desenvolvimento cromatográfico de 30 min.

TABELA V - Fármacos testados como possíveis interferentes e suas concentrações

FÁRMACO	CONCENTRAÇÃO (µg/mL)
carbamazepina	12,50
10,11 epóxido de carbamazepina	2,50
fenobarbital	12,50
fenitoína	15,00
primidona	25,00

4.3.2.8 Estabilidade da LTG na amostra biológica

Para a avaliação da estabilidade do fármaco na matriz biológica de interesse, amostras de plasma calibrador contendo lamotrigina na concentração de 1,0µg/mL foram submetidas, em triplicata, a procedimentos de extração e quantificação do fármaco, conforme descrito nos itens 4.3.1.2 e 4.3.2.1, respectivamente.

As amostras foram acondicionadas em tubos de vidro, armazenadas à temperatura ambiente (alíquota A), a 4°C (alíquota B) e a -20°C (alíquota C), todas ao abrigo da luz. Foram analisadas no “tempo zero” (antes dos ciclos de refrigeração ou congelamento) e após um período de 24 horas, 15 e 60 dias decorrentes da preparação das mesmas.

Os resultados obtidos com as alíquotas A, B e C foram comparados com aqueles obtidos antes dos ciclos de refrigeração ou congelamento e utilizados para calcular os coeficientes de variação.

4.3.3 Determinação das concentrações plasmáticas de lamotrigina em pacientes com diferentes tipos de crises epiléticas

Amostras de plasma dos pacientes com diferentes tipos de crises de epilepsia, armazenadas a -20°C, foram descongeladas à temperatura ambiente e submetidas, em triplicata, ao procedimento de determinação da lamotrigina conforme item 4.3.1.2.

4.3.4 Avaliação laboratorial

As avaliações laboratoriais foram efetuadas no laboratório de Análises Clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, na cidade de São Paulo - S.P..

Os exames bioquímicos foram executados com emprego de kits-diagnósticos *Labtest*[®], em espectrofotômetro digital - *Micronal*[®], seguindo-se as normas de boas práticas de laboratório recomendadas.

A quantificação dos índices hematimétricos e dos leucócitos foi realizada em equipamento contador automático de células - *Coulter*[®].

As determinações dos hematócitos foram realizadas pelo método da microcentrífuga.

As amostras de urina foram analisadas por fitas reativas *Inlab*[®] e o exame microscópico do sedimento urinário em equipamento *Inalh*[®].

5 Resultados

5.1 Determinação das concentrações plasmáticas da lamotrigina por cromatografia líquida de alta eficiência

5.1.1 Otimização das condições cromatográficas

Os resultados obtidos nas diferentes tentativas de otimização das condições cromatográficas, segundo 4.3.1.1, serão apresentados na TABELA XII. Entretanto, foram estabelecidas como ideais, as seguintes condições:

- Fase móvel: solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M:
metanol: trietilamina (560: 435: 0,1 v/v/v)
- Fluxo: 0,8 mL/min
- Pressão: 28-30 bar
- Detector: por absorvância no UV ($\lambda=306$ nm)
- Coluna: Supelcosil™ LC-18 (150 x 4,6mm), partículas de 5 μ m
- Pré-coluna: Supelguard™ (20 x 4,6 mm)
- Volume de injeção: 50 μ L
- Atenuação: 4-6 aufs
- Padrão interno: 50 μ L solução trabalho de BW725C em hidróxido de sódio 5M (20 μ g/mL)

5.1.2 Padronização do procedimento analítico de extração líquido-líquido da lamotrigina em plasma

Amostras de plasma tratadas segundo 4.3.1.2 e cujos resíduos foram retomados com 100 μ L da fase móvel escolhida, foram agitadas em vórtex e cromatografadas segundo 5.1.1.

Na FIGURA 5 estão ilustrados os cromatogramas referentes a amostras de plasma branco de referência, plasma enriquecido com lamotrigina e PI e plasma obtido de paciente tratado com o fármaco.

5.2 Validação do método analítico

5.2.1 Curva de Calibração

A curva de calibração da lamotrigina, elaborada conforme 4.3.2.1 e apresentada na FIGURA 6, foi obtida a partir das relações de áreas obtidas entre os picos da lamotrigina e do padrão interno. A análise de regressão linear foi efetuada para obtenção da equação da reta: $y = 0,63145.X - 0,03973$. Coeficiente de correlação (r) igual a 0,99923.

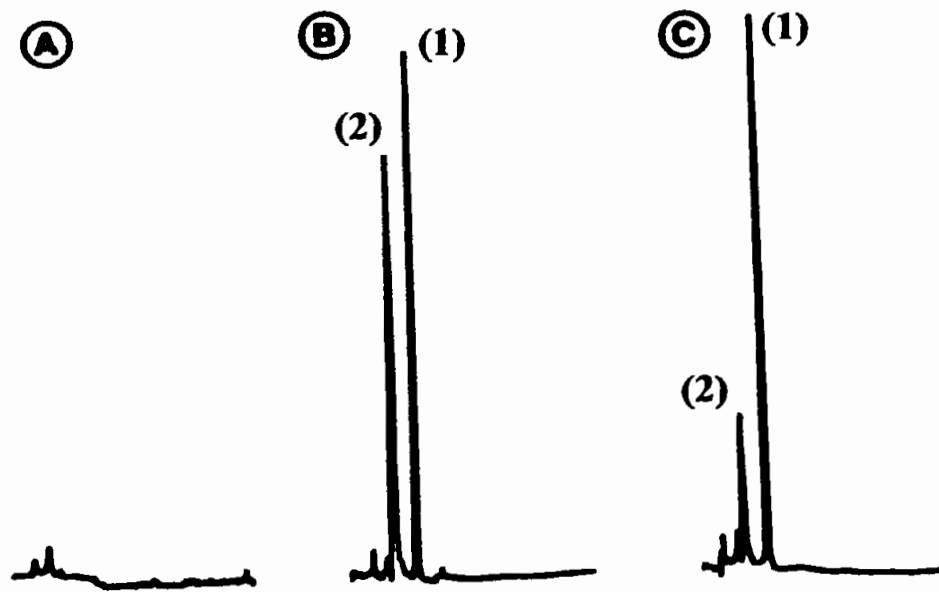


FIGURA 5 - Cromatogramas (CLAE) referentes a amostras de plasma

A plasma branco de referência

B plasma enriquecido com lamotrigina 5,40 μ g/mL
(1) e padrão interno 20 μ g/mL (2)

C plasma obtido de paciente tratado com
lamotrigina

Coluna: SupelcosilTM LC-18 (150 x 4,6mm), partículas de 5,0 μ m

Pré-coluna: SupelguardTM (20 x 4,6 mm)

Fase móvel: solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M, metanol e
triethylamina (560: 435: 0,1 v/v/v)

Detector: por absorvância no UV ($\lambda = 306$ nm)

5.2.2 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção do método foi de 0,05µg/mL, com desvio padrão de 0,0017 e coeficiente de variação de 2,34%, nas condições padronizadas.

O limite de quantificação do método foi de 0,15µg/mL, com desvio padrão de 0,002 e coeficiente de variação de 2,01%, nas condições padronizadas.

5.2.3 Linearidade

A resposta do detector, avaliada segundo 4.3.2.3, mostrou-se linear para concentrações do fármaco de 0,20µg/mL a 12,04µg/mL, com equação da reta igual a $y = 0,6343.X - 0,04241$ e coeficiente de correlação (r) de 0,99986. Na FIGURA 7 observa-se a linearidade da resposta do detector a diversas concentrações de lamotrigina.

5.2.4 Recuperação Relativa do Método

A recuperação média da lamotrigina, determinada através das análises das amostras enriquecidas foi de 86,14%. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA VI.

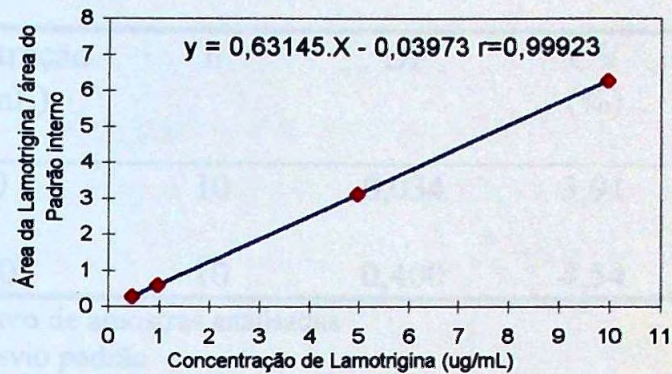


FIGURA 6 - Representação gráfica da curva de calibração

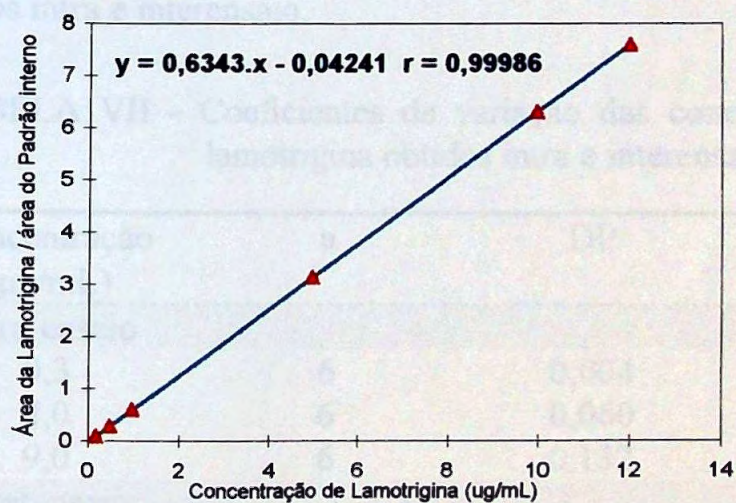


FIGURA 7 - Representação gráfica da linearidade da resposta do detector a diferentes concentrações de LTG

TABELA VI - Recuperação relativa da lamotrigina nas amostras de plasma calibradores

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	n	DP	CV (%)	Recuperação Relativa (%)
1,0	10	0,034	3,91	86,93
10,0	10	0,400	4,54	85,35

n = número de amostras analisadas

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

5.2.5 Precisão do Método

A TABELA VII apresenta os coeficientes de variação das concentrações de lamotrigina adicionada ao plasma branco de referência, determinados intra e interensaio.

TABELA VII - Coeficientes de variação das concentrações de lamotrigina obtidos intra e interensaio

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	n	DP	CV (%)
Intra-ensaio			
0,3	6	0,004	2,22
4,0	6	0,060	2,18
9,0	6	0,132	2,06
Interensaio			
0,3	18	0,004	2,11
4,0	18	0,058	2,12
9,0	18	0,143	2,26

n = número de amostras analisadas

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

5.2.6 Exatidão

Os resultados das análises dos soros liofilizados obtidos pelo método proposto comparados à quantidade adicionada e a média obtida pelos vários participantes do “Heath Control External Quality Assessment Scheme for Therapeutic Drug Assays” (HEQAS) estão na TABELA VIII.

TABELA VIII - Comparação dos resultados das concentrações de lamotrigina obtidos pelo método proposto com os do Controle Internacional (HEQAS)

Amostras (1292)	Concentração do Adicionado ($\mu\text{Mol/L}$)	Concentração Média (n) ($\mu\text{Mol/L}$)	Resultados Obtidos ($\mu\text{Mol/L}$)
AA	0,00	0,00 (9)	0,00
BB	33,04	31,19 (8)	31,09
CC	3,78	4,02 (8)	4,07
DD	14,17	14,40 (8)	14,40
EE	1,89	2,31 (8)	2,33
FF	11,34	11,36 (8)	11,35
GG	49,04	46,96 (8)	47,05
HH	0,95	1,21 (8)	0,97

n = número de laboratórios cujos resultados foram usados para o cálculo da média

5.2.7 Estudo de Interferentes

Na TABELA IX são descritos os fármacos, considerados como possíveis interferentes na determinação da lamotrigina, a LTG, o PI e os respectivos tempos de retenção absolutos e relativos. Os fármacos assinalados como não detectados não eluíram nas condições padronizadas, no intervalo de 0 a 30 min.

TABELA IX - Tempos de retenção da lamotrigina, padrão interno e alguns fármacos testados como interferentes

FÁRMACO	TR (min)	TR _r
padrão interno	3,70	—
lamotrigina	8,10	2,19
carbamazepina	21,00	5,68
10,11 epóxido de carbamazepina	ND	—
fenobarbital	ND	—
fenitoína	ND	—
primidona	ND	—

TR = tempo de retenção

TR_r = tempo de retenção relativo ao padrão interno

ND = não detectado no intervalo de 0 a 30 minutos

5.2.8 Estabilidade

Na TABELA X são apresentados os resultados da estabilidade da lamotrigina em amostras de plasma calibrador, analisados conforme item 4.3.2.8.

As amostras de plasma calibrador contendo lamotrigina na concentração de 1,0µg/mL apresentaram-se estáveis durante 24 horas, quando armazenadas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz; durante um período de 15 dias à temperatura de 4°C e ao abrigo da luz e, finalmente, 60 dias quando armazenadas à temperatura de -20°C e, também, ao abrigo da luz.

5.3 Determinação das concentrações plasmáticas de lamotrigina em pacientes epiléticos

Os resultados da determinação cromatográfica (CLAE) da lamotrigina no plasma dos pacientes avaliados, bem como os efeitos clínicos e/ou tóxicos observados ou relatados estão apresentados na TABELA XI.

5.4 Avaliação laboratorial

Todos os pacientes investigados apresentaram valores bioquímicos e hematológicos dentro dos referenciais estabelecidos.

TABELA X - Estabilidade da lamotrigina em plasma

Tempo decorrido da preparação da amostra calibrador (µg/mL)	Concentração de lamotrigina (µg/mL)								
	Aliquota A ▲			Aliquota B ♦			Aliquota C ★		
	X	DP	CV (%)	X	DP	CV (%)	X	DP	CV (%)
zero(min)	1,01	0,02	1,98	1,00	0,02	2,10	1,02	0,02	2,25
24(hs)	0,99	0,02	2,22	1,01	0,02	2,18	1,02	0,02	2,10
15(dias)	0,72	0,01	2,50	0,95	0,01	2,00	1,01	0,02	2,18
60(dias)	-	-	-	0,90	0,01	2,11	0,95	0,01	2,00

X = média de 3 determinações

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

▲ = temperatura ambiente e ao abrigo da luz

♦ = 4°C e ao abrigo da luz

★ = -20°C e ao abrigo da luz

- = não realizado

TABELA XI - Determinação da lamotrigina no plasma de pacientes em tratamento e os efeitos clínicos e/ou tóxicos observados/relatados

Nº	Paciente	Dose de LTG (mg/dia)	Concentração de LTG (µg/mL)	Efeitos	
				Clínicos	Tóxicos
01	R.S.B.	200	2,68	*	-
02	J.R.C.	400	7,40	-	vertigem, visão obscura
03	D.P.B.	200	3,24	*	-
04	I.T.M.S.	100	1,82	*	-
05	O.G.P.	250	3,81	*	-
06	S.M.	400	9,52	-	erupção cutânea, vertigem
07	J.F.A.	400	4,63	*	-
08	A.V.M.	200	3,27	*	-
09	M.S.F.	100	1,60	*	-
10	M.A.P.	250	3,24	-	visão obscura
11	L.S.C.	400	5,67	-	erupção cutânea
12	C.R.P.	200	2,93	*	-
13	F.J.R.O.	200	3,01	*	-
14	M.A.J.S.	400	4,93	*	-
15	P.A.	400	7,74	-	dor de cabeça
16	A.C.R.	250	3,54	*	-
17	E.G.C.	400	6,70	-	irritabilidade
18	M.M.D.	250	3,72	*	-
19	M.F.L.	250	3,66	*	-

* = redução na frequência e número das crises convulsivas

- = não observado/relatado

6 Discussão

Participaram deste estudo 19 pacientes de ambos os sexos e de faixa etária entre 12 e 30 anos, sob tratamento com lamotrigina, cujas características foram anotadas segundo modelo apresentado no Anexo 1 e descritas na TABELA IV.

Pacientes com idades inferiores a doze anos não fizeram parte do estudo, uma vez que o uso da LTG, conforme já descrito neste trabalho, é contra-indicado para essa população.

Comparativamente aos demais trabalhos do gênero realizados por outros autores ^(01, 05, 39), o número de pacientes investigados neste estudo pode parecer pequeno. Tal fato deveu-se às dificuldades impostas pelos familiares de alguns dos pacientes com deficiências físicas e mentais que não permitiram a coleta de amostras e, principalmente, pelo custo ainda elevado do medicamento. Apesar de sua comprovada eficácia, o seu alto custo é um fator limitante para que seu uso seja crescente.

Neste estudo, foram utilizados como amostras biológicas (4.2.4): plasma humano (branco de referência), soro liofilizado (padrão de referência), sangue e urina dos pacientes investigados.

A coleta de sangue foi realizada pela equipe técnica do laboratório de Análises Clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - SP, tendo sido coletadas amostras em datas aleatórias, em função da disponibilidade dos pacientes e/ou de seus familiares. Nas mesmas ocasiões, foram obtidas as amostras de urina.

Para a monitorização das concentrações plasmáticas da lamotrigina, recomenda-se que a amostra de sangue seja coletada entre 90 min a 3 horas após a administração da última dose ^(49, 76), a fim de se obterem as concentrações de pico. Neste estudo, a coleta foi feita 90 min

após a administração da última dose. Tempos diferentes dos recomendados, pode ter muitas conseqüências: um ajuste de dose baseado em uma determinação plasmática feita antes de se atingir o estado de equilíbrio pode levar o clínico a prescrever uma dose excessiva aumentando, desta forma, os riscos de intoxicação; se uma concentração obtida no pico (concentração plasmática máxima) for interpretada como no vale (concentração plasmática mínima), a dose administrada pode ser diminuída indevidamente, não se obtendo o efeito desejado ⁽⁴⁸⁾.

Têm sido observadas alterações hematológicas e bioquímicas em pacientes epiléticos sob terapia com lamotrigina, conforme o descrito em 2.8. Tais alterações geralmente acometem 5 a 10% dos pacientes e parecem não ser severas desaparecendo, muitas vezes, com a retirada do fármaco ou diminuição da dose. Neste trabalho, a determinação de uréia e creatinina foram realizadas com o intuito de avaliar a função renal dos pacientes. Bilirrubinas total e frações e transaminases foram, também, determinadas no soro destes pacientes, para a verificação de um possível comprometimento hepático.

Uma vez que a LTG se liga, aproximadamente, 55% às proteínas plasmáticas, foi verificado o nível sérico da albumina dos indivíduos participantes do estudo.

A escolha do cromatógrafo a líquido, com detector de ultravioleta, para a padronização de um método analítico, visando à determinação da lamotrigina em fluidos biológicos, foi efetuada considerando-se a crescente disponibilidade e versatilidade desse aparelho. Some-se a elas, o fato de a maioria dos estudos empregarem-no tanto para a pesquisa farmacocinética quanto para fins de controle terapêutico ^(18, 26, 40, 84, 95, 112).

Para otimização das condições cromatográficas para separação da lamotrigina, de plasma adicionado e extraído com acetato de etila, foram avaliados os parâmetros: colunas cromatográficas, composição e fluxo da fase móvel. As condições cromatográficas foram testadas com 3 colunas, com características diferentes.

Para a coluna Supelcosil LC-ABZ (150 x 4,6 mm), com partículas de 5µm, a fase móvel acetonitrila: água (3:7 v/v) com fluxos de 1 e 8,0 mL/min não promoveu a resolução dos picos dos componentes endógenos presentes no plasma branco de referência e do padrão interno. Modificando-se a fase móvel para solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M: metanol: trietilamina (560: 435: 0,1 v/v/v), houve um aumento no tempo de retenção, mas que não foi suficiente para separar o pico do branco de referência e do padrão interno.

A coluna Nova-Pak® C8 (150 x 3,9 mm), com partículas de 4 µm, foi inicialmente testada com a fase móvel que havia apresentado tempos de retenção superiores para a coluna anteriormente usada e, observando-se a resolução dos picos do branco de referência e do padrão interno, contudo, a LTG passou a apresentar um pico assimétrico.

Em virtude de resultados não satisfatórios, a modificação seguinte consistiu na troca da coluna cromatográfica, mas com manutenção da fase móvel. Trabalhou-se, então, com a coluna Supelcosil™ LC-18 (150 x 4,6mm), com partículas de 5µm. Esta coluna permitiu boa separação entre os picos do branco de referência, do PI e da LTG e, os mesmos foram simétricos (FIGURA 5). Portanto, a coluna Supelcosil™ LC-18 foi a escolhida, pois mostrou-se mais adequada do que a Supelcosil LC-ABZ e a Nova-Pak® C8, evidenciando melhor resolução. Os melhores tempos

de retenção (PI e LTG) foram obtidos, quando o fluxo da fase móvel foi fixado em 0,8 mL/min.

A pré-coluna Supelguard™ (20 x 4,6 mm) foi empregada com o intuito de garantir uma maior vida útil à coluna selecionada, em virtude do tipo da fase móvel escolhida.

Os resultados obtidos em cada uma das condições cromatográficas testadas estão descritos na TABELA XII.

Inicialmente, a fase móvel (acetonitrila:água) na proporção 3:7 v/v foi empregada utilizando-se fluxo de 1 mL/min. Contudo, os resultados mostraram-se pouco satisfatórios, conforme atesta a TABELA XII. Conseqüentemente, o fluxo da fase móvel foi modificado para 0,8 mL/min. Sob esta condição, foi possível obter tempos de retenção maiores tanto para o PI quanto para LTG e, ainda, produzir cromatogramas livres de interferentes endógenos.

A fase móvel, constituída por uma solução de ortofosfato diácido de potássio 0,1M, metanol e trietilamina nas proporções 560: 435: 0,1 v/v/v, foi considerada mais eficiente do que a solução de acetonitrila: água ultrapura inicialmente testada. A primeira é semelhante àquela preconizada e utilizada no *Cardiff Bioanalytical Services*.

O comprimento de onda de 306 nm adotado foi o utilizado por alguns autores ^(18, 26, 109). Para comprimento de onda de 280 nm, os resultados não foram satisfatórios.

TABELA XII - Resultados obtidos para a otimização das condições cromatográficas (CLAE)

Coluna cromatográfica	Fase móvel	Fluxo da fase móvel (ml/min.)	Tempo de retenção (min.)	Resultados
Supelcosil LC - ABZ (4,6 x 150mm) partículas (5µm)	acetonitrila:água (3:7 v/v)	1,0	PI 1,38 LTG 2,40	pico do branco de referência interfere com o do PI
		0,8	2,01 3,05	
Nova-Pak® C8 (3,9 x 150mm) partículas (4µm)	ortofosfato diácido de potássio 0,1M: metanol: trietilamina (560:435:0,1 v/v/v)	1,0	2,43 5,10	pico do branco de referência interfere com o do PI
		0,8	3,02 6,29	
Supelcosil™ LC - 18 (4,6 x 150mm) partículas (5µm)	ortofosfato diácido de potássio 0,1M: metanol: trietilamina (560:435:0,1 v/v/v)	1,0	2,93 6,50	LTG apresenta pico assimétrico
		0,8	3,20 7,00	
Supelcosil™ LC - 18 (4,6 x 150mm) partículas (5µm)	ortofosfato diácido de potássio 0,1M: metanol: trietilamina (560:435:0,1 v/v/v)	1,0	3,25 6,08	pico do branco de referência não interfere com o do PI; LTG e PI apresentam picos com boa resolução
		0,8	3,70 8,10	

Observação: o comprimento de onda utilizado em todos os ensaios foi 306nm.

O padrão interno (PI) utilizado (BW725C), análogo estrutural do fármaco em estudo, foi sintetizado para esta finalidade e cedido, gentilmente, pelo *Cardiff Bioanalytical Services*, assim como o padrão de LTG. A concentração da solução de padrão interno que apresentava uma área entre a do ponto médio e a do 3º ponto da curva de calibração (1 e 5 µg/mL) foi de 20 µg/mL, sendo esta a concentração escolhida para as análises.

O procedimento para extração líquido-líquido da lamotrigina, em meio alcalino conferido pela solução de PI em hidróxido de sódio, do material biológico, empregando-se o acetato de etila, amplamente descrito na literatura, foi considerado simples, de custo operacional reduzido e de fácil implantação em laboratórios especializados. Apresenta resultados satisfatórios que permitem seu emprego na monitorização terapêutica das concentrações plasmáticas do anticonvulsivante.

Tal procedimento baseou-se naquele executado no *Cardiff Bioanalytical Services*, com algumas modificações, quais sejam, a substituição da extração em fase sólida pela de fase líquida e volume de amostra maior.

A não utilização das mesmas condições, no entanto, não acarretou prejuízo para a eficiência da extração do fármaco do material biológico. A evaporação do extrato em banho de água se deu à temperatura de 45° C, a fim de garantir a integridade química de outros anticonvulsivantes utilizados pelos pacientes.

Segundo SCHUMACHER (1995), a identificação e quantificação de substâncias químicas em fluidos biológicos pressupõe a utilização de metodologia cuja validação tenha sido devidamente estabelecida. Essa tem a intenção de minimizar os erros, no sentido de assegurar a máxima qualidade

do trabalho analítico e, conseqüentemente, a obtenção de resultados fidedignos. Para que os resultados deste estudo fossem considerados confiáveis, a validação metodológica foi devidamente estabelecida.

Os valores de limites de detecção e de quantificação obtidos foram de 0,05 µg/mL e de 0,15µg/mL, respectivamente. Estes resultados indicam que o método é aplicável no controle terapêutico do anticonvulsivante, assumindo o intervalo terapêutico de 1 a 4µg/mL proposto por alguns autores^(03, 10, 18, 26, 60, 80).

Os resultados obtidos na avaliação da resposta do detector e os dados da curva de calibração demonstram que a correlação entre as concentrações de lamotrigina e as respectivas relações de áreas do anticonvulsivante e do padrão interno é linear no intervalo das concentrações analisadas. A linearidade do método (de 0,20 µg/mL a 12,04 µg/mL) (FIGURA 7) está de acordo com os valores obtidos por outros autores^(18, 26, 40, 95)

Os resultados de recuperação do método foram executados utilizando-se amostras de plasma calibradores nas concentrações de 1 e 10 µg/mL. A média da recuperação relativa de 86,93% e 85,35%, para as concentrações de 1 e 10 µg/mL, respectivamente, está dentro da faixa considerada aceitável (superior a 80%), não necessitando de correção nos resultados das amostras (TABELA VI). Tais resultados demonstram a eficiência do procedimento de extração da lamotrigina e do padrão interno, no intervalo das concentrações avaliadas.

Os coeficientes de variação obtidos para precisão intra-ensaio foram 2,22; 2,18 e 2,06%, para as concentrações 0,3 µg/mL, 4,0 µg/mL e 9,0 µg/mL, respectivamente. Para a precisão interensaio, obtiveram-se os coeficientes de variação 2,11; 2,12 e 2,26%, para as mesmas concentrações.

Todos os resultados exibiram coeficientes de variação inferiores a 10% e, portanto, demonstram que a repetibilidade e a reprodutibilidade do procedimento analítico são consideradas satisfatórias no intervalo das concentrações avaliadas (TABELA VII).

No estudo da exatidão do método, os resultados das análises dos soros liofilizados obtidos pelo método proposto comparados à concentração do adicionado à média obtida pelos vários participantes do “*Health Control External Quality Assessment Scheme for Therapeutic Drug Assays*” (HEQAS) estão apresentados na TABELA VIII. Tais resultados foram considerados satisfatórios.

Aplicando-se o método validado, mantidas fixas as condições cromatográficas como descritas em 5.1.1, foram analisados alguns fármacos que, usualmente, poderiam estar associados à lamotrigina, durante o tratamento. Para tanto, o tempo para o desenvolvimento cromatográfico foi fixado em 30 minutos.

Carbamazepina, 10, 11 epóxido de carbamazepina, fenobarbital, fenitoína e primidona foram escolhidos por serem princípios ativos de medicamentos administrados aos pacientes estudados. O ácido valpróico não foi investigado, por ser o mesmo, mais comumente, analisado por cromatografia gasosa.

A única substância detectada, nas condições anteriormente validadas, foi a carbamazepina, com tempo de retenção de 21 min. Assim, dentre os fármacos testados (TABELA IX), não se observou a possibilidade de interferências, quer seja por não serem detectadas, quer por apresentar tempo de retenção diferente (tempo de retenção 2,6 vezes superior ao da lamotrigina) da LTG. Desta forma, só quando houver co-administração de

carbamazepina deve-se aguardar sua separação através do desenvolvimento cromatográfico.

Amostras de plasma calibrador contendo lamotrigina na concentração de 1 µg/mL apresentaram-se estáveis por 24 horas quando armazenadas à temperatura ambiente; por um período de 15 dias quando armazenadas a 4°C e 60 dias quando armazenadas à temperatura de -20°C. Todas as alíquotas foram mantidas ao abrigo da luz. Os resultados foram avaliados considerando-se a variação de até 90% da original (t_{90}). Tais resultados, apresentados na TABELA X, indicam que a amostra não necessita ser processada imediatamente após a sua coleta. A estabilidade da LTG, a 4° C ou -20° C, permite que sejam realizadas coletas múltiplas ou de vários pacientes em horários e datas diferenciadas e que tais amostras possam ser processadas em uma mesma bateria de análises, o que caracteriza uma vantagem metodológica.

Completada a validação do método analítico, o mesmo foi aplicado a amostras de plasma dos 19 pacientes com diferentes tipos de epilepsia. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA XI.

À semelhança de outros estudos ^(18, 60, 107), os pacientes estavam sob uso de outros fármacos (TABELA IV). Todavia, verificando-se as doses de LTG administradas aos pacientes (TABELA XI), observou-se que as mesmas estão sendo administradas acima do valor recomendado pela literatura, quando o fármaco está somente em associação com o ácido valpróico (pacientes nº 02, 06, 11, 15 e 17). Paralelamente, efeitos tóxicos foram relatados por estes pacientes. Estes efeitos, no entanto, não foram considerados graves.

Quando a dose administrada aos pacientes em uso de fármacos indutores enzimáticos atendeu àquela recomendada pelo laboratório produtor de Lamictal[®], não foram relatados efeitos tóxicos. Dos 19 pacientes investigados, 73% tiveram redução no número e na frequência das crises epileptiformes.

Seguindo o esquema de dosagem recomendado pelo laboratório GLAXO-WELLCOME, as concentrações plasmáticas estariam compreendidas entre 1 e 4 µg/mL, embora este intervalo pareça estreito e não esteja confirmado como faixa terapêutica. Os resultados da determinação da lamotrigina nos pacientes em tratamento apresentaram valores compreendidos entre 1,60 a 9,52 µg/mL. Entretanto, sem relatar sinais e/ou sintomas de intoxicação, os valores variaram de 1,60 a 4,93 µg/mL indicando, portanto, uma proximidade da faixa terapêutica recomendada por alguns autores^(03, 10, 80).

Complementarmente, a avaliação laboratorial dos pacientes em estudo teve a finalidade de investigar se as alterações bioquímicas e hematológicas descritas por MEYER et al., 1995⁽⁵⁸⁾; JAWAD et al., 1989 e COHEN et al., 1987. Os resultados bioquímicos e hematológicos obtidos dos 19 pacientes não sugeriram alterações significativas.

7 Conclusões

Os dados experimentais obtidos neste trabalho permitiram concluir que:

- O método padronizado e validado apresentou sensibilidade adequada, especificidade, precisão e exatidão para a determinação de lamotrigina em plasma de pacientes com a finalidade de controle terapêutico;
- A especificidade do método pode ser útil para avaliar os níveis plasmáticos de lamotrigina em pacientes que fazem uso concomitante de outros fármacos. Tal aspecto é particularmente importante, uma vez que a lamotrigina é utilizada como adjuvante terapêutico;
- A faixa de concentração terapêutica e sem o aparecimento de efeitos tóxicos encontrada nos pacientes variou de 1,6 a 4,93 $\mu\text{g/mL}$, indicando uma proximidade com a faixa terapêutica proposta, embora não confirmada de 1 a 4 $\mu\text{g/mL}$;
- Não foram observadas alterações bioquímicas e hematológicas significativas, relacionadas ao uso terapêutico e prolongado da lamotrigina.

8 Referências Bibliográficas

- 01-BATTINO, D., ESTIENNE, M., AVANZINI, G. Clinical pharmacokinetics of antiepileptic drugs in pediatric patients. Part II. Phenytoin, carbamazepine, sulthiame, lamotrigine, vigabatrin, oxcarbazepine and felbamate. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.29, n.5, p.341-369, 1995.
- 02-BETTS, T., GOODWIN, G., WITHERS, R.M., YUEN, A.W.C. Human safety of lamotrigine. *Epilepsia*, New York, v.32, suppl.2, p.S17-S21, 1991.
- 03-BIALER, M. Comparative pharmacokinetics of the newer antiepileptic drugs. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.24, n.6, p.441-452, 1993.
- 04-BIDDLECOME, R.A., DEAN, K.L., SMITH, C.D., JEAL, S.C. Validation of a radioimmunoassay for the determination of human plasma concentrations of lamotrigine. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Oxford, v.8, p.691-694, 1990.
- 05-BINNIE, C.D., BEINTEMA, D.J., DEBETS, R.M.C. Seven day administration of lamotrigine in epilepsy: add-on trial. *Epilepsy Res.*, 1987;1: 202-8. Apud: ELWES, R.D.C.; BINNIE, C.D. Clinical Pharmacokinetic of Newer Antiepileptic Drugs: Lamotrigine, Vigabatrin, Gabapentin and Oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 06-BINNIE, C.D, DEBETS, R.M.C., ENGELSMAN, M., MEIJER, J.W.A., MEINHARDI, H. Double-blind crossover trial of lamotrigine (Lamictal) as add-on therapy in intractable epilepsy. *Epilepsy Res.*, Amsterdam, v.4, p.222-229, 1989.

- 07-BINNIE, C.D., van EMDE-BOAS W., KASTELEIJN-NOLSTRE-
TRENITÉ, D.G.A., de KORTA, R.A, MEIJER, J.W.,
MEINARDI, H.; MILLER, A.A.; OVERWEG, J.; PECK, A.W.;
van WIERINGEN. Acute effects of lamotrigine (BW430C) in
persons with epilepsy. *Epilepsia*, New York, v.27, n.3, p.248-254,
1986.
- 08-BINNIE, C.D., van EMDE-BOAS W., LAND, G.S, MEIJER, J.W.A,
OVERWEG, J, WIERINGEN, A van. Preliminary single-dose
studies of a potential new antiepileptic drug, BW430C, in epileptic
patients. *Epilepsia*, New York, v.25, n.5, p.656, 1984.
- 09-BOURGEOIS, B.F.D.. Antiepileptic drugs in pediatric practice.
Epilepsia, New York, v.36, suppl.2, p.S34-S45, 1995.
- 10-BRODIE, M.J. Lamotrigine. *Lancet*, London, v.339, n.6, p.1397-
1400, 1992.
- 11-BRODIE, M.J., PORTER, R.J. New and potential anticonvulsants.
Lancet, London, v.336, n.18,p.425-426, 1990.
- 12-BROOKS, J., DAILY, J., SCHWAMM, L. Inibidores da protease e
anticonvulsivantes *AIDS Clinical Care*, Rio de Janeiro, v.1, n.1,
p.11, 1998.
- 13-BUCKLEY, N.A, WHYTE, I.M., DAWSON, A.H. Self-poisoning
with lamotrigine. *Lancet*, London, v.342, n.18/25, p.1552-1553,
1993.
- 14-BURSTEIN, A.H. Lamotrigine. *Pharmacotherapy*, v.15, p.129-143,
1995.

- 15-CALDWELL, R., CHALLENGER, H. A capillary column gas-chromatographic method for the identification of drugs of abuse in urine samples. *Ann. Clin. Biochem.*, v.26, p.430-433, 1989.
- 16-COCIGLIO, M., ALRIC, R., BOUVIER, O. Performance analysis of a reversed-phase liquid chromatographic assay of lamotrigine in plasma using solvent-demixing extraction. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v.572, p.269-276, 1991.
- 17-COHEN, A.F., FOWLE, A.S.E., LAND, G.S., BYE, A. BW430C: a new anticonvulsant. Pharmacokinetics in normal man. *Epilepsia*, New York, v.25, n.5, p.656-657, 1984.
- 18-COHEN, A.F., LAND, G.S., BREIMER, D.D, YUEN, W.C., WINTON, C., PECK, A.W. Lamotrigine, a new anticonvulsant: pharmacokinetics in normal humans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.42, p.535-541, 1987.
- 19-COX, R.A., CRIFASI, J.A., DICKEY, R.E., KETZLER, S.C., PSHAK, G.L. A single-step extraction for screening whole blood for basic drugs by capillary GC/NPD. *J. Anal. Toxicol.*, Niles, v.13, p.224-228, 1989.
- 20-CRETELLA, Y.A. Controle terapêutico de fenobarbital, fenitoína e carbamazepina. *Rev. Bras. Toxicol.*, São Paulo, v3, p.49, 1990.
- 21-DEF Dicionário de Especialidades Farmacêuticas, 1998/1999.
- 22-DEPOT, M., POWELL, J.R., Jr. MESSENHEIMER, J.A. Kinetic effects of multiple oral doses of acetaminophen on a single oral dose of lamotrigine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.48, p.346-355, 1990.

- 23-DOIG, M.W., CLARE, R.A. Use of thermospray liquid chromatography-mass spectrometry to aid identification of urinary metabolites of a novel antiepileptic drug, lamotrigine. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v.554, p.181-189, 1991.
- 24-DREIFUSS, F.E. The Epilepsies: Clinical implications of the international classification. *Epilepsia*, New York, v.31, suppl.3, p.S3-S10, 1990.
- 25-ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical Pharmacokinetic of Newer Antiepileptic Drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 26-FAZIO, A., ARTESI, C., RUSSO, M., TRIO, R., OTERI, G., PISANI, F. A liquid chromatographic assay using a high-speed column for the determination of lamotrigine, a new antiepileptic drug in human plasma. *Ther. Drug Monit.*, New York, v.14, p.509-512, 1992.
- 27-FERRIE, C.D., ROBINSON, R.O., KNOTT, C., PANAYIOTOPOULOS, C.P. Lamotrigine as an add-on drug in typical absence seizures. *Acta Neurol. Scand.*, Copenhagen, v.91, n.3, p.200-202, 1995.
- 28-FILLASTRE, J.P., TABURET, A.M., FIALAIRE, A., ETIENE, I., BIDAULT, R., SINGLAS, E. Pharmacokinetics of lamotrigine in patients with renal impairment-influence of hemodialysis. *Drugs Exp. Clin. Res.*, Geneva, v.19, n.1, p.25-32, 1993.
- 29-FISHER, R.S. Emerging antiepileptic drugs. *Neurology*, Minneapolis, v.43, n.11, suppl.5, p.S12-S20, 1993.

- 30-FISHER, R.S., FROST, J.J. Epilepsy. *J. Nucl. Med.*, New York, v.32, p.651-659, 1991.
- 31-FRENCH, J. The long-term therapeutic management of epilepsy. *Ann. Intern. Med.*, Cincinnati, v.120, p.411-422, 1994.
- 32-GARNETT, W.R. Epilepsy. In: DiPiro, J.T., TALBERT, R.L., HAYES, P.E. eds., *Pharmacotherapy: a Pathophysiologic Approach*. 2.ed. Norwalk: Appleton & Lange, p. 879-903, 1993.
- 33-GIBBS, J., APPLETON, R.E., ROSENBLOOM, L., YUEN, A.W.C. Lamotrigine. (letter). *Dev. Med. Child Neurol.*, London, v.34, p.368-371, 1992.
- 34-GILMAN, J.T. Lamotrigine: an antiepileptic agent for the treatment of partial seizures. *Ann. Pharmacother.*, Cincinnati, v.29, p.144-151, 1995.
- 35-GOA, K.L., ROSS, S.R., CHRISP, P. Lamotrigine. A Review of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. *Drugs*, Auckland, v.46, n. 1, p.152-176, 1993.
- 36-HARDEN, C.L. New antiepileptic drugs. *Neurology*, Minneapolis, v.44, n.5, p.787-795, 1994.
- 37-HOLDICH, T., WHITEMAN, P., ORME, M. Effect of lamotrigine on the pharmacology of the combined oral contraceptive pill. *Epilepsia*, New York, v.32, suppl.1, p.S96, 1991.
- 38-JAWAD, S., RICHENS, A., GOODWIN, G., YUEN, W.C. Controlled trial of lamotrigine (Lamictal) for refractory partial seizures. *Epilepsia*, New York, v.30, p.356-363, 1989.
- 39-JAWAD, S.; YUEN, A.W.C.; PECK, A.W.; HAMILTON, M.J.; OXLEY, J.R. et al. Lamotrigine: single-dose pharmacokinetics and

- initial one-week experience in refractory seizures. *Epilepsy Research*, 1:194-201, 1987. Apud: THOMSON, A.H., BRODIE, M.J. Pharmacokinetic optimisation of anticonvulsant therapy. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.23, n.3, p.216-230, 1992.
- 40-JUERGENS, U. Alkylamine/phosphoric acid as universal buffer system for basic and acidic mobile phases in HPLC. *J. Liquid Chromatogr.*, Amsterdam, v.11, p.1925-1940, 1988.
- 41-KATO, M. (Tese de doutorado – *Determinação de ácido valpróico em soro por cromatografia a gás*. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP), p. 163, São Paulo, 1989.
- 42-KOROLKOVAS, A. *Dicionário Terapêutico Guanabara*. 1996/1997. 3.ed. Rio Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
- 43-LAND, G.S., MEIJER, J.W.A., JUERGENS, U. An investigation into alternative HPLC methods measure lamotrigine, a novel anti-epileptic drug, in human plasma at clinical levels. *XI International Symposium on column liquid chromatography*. Amsterdam, 1987.
- 44-LEACH, M.J, MARDEN, C.M., MILLER, A.A. Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: II. Neurochemical studies on the mechanism of action. *Epilepsia*, New York, v.27, n.5, p.490-497, 1986.
- 45-LENSMEYER, G.L., GIDAL, B.E., WIEBE, D.A. Optimized high-performance liquid chromatographic method for determination of lamotrigine in serum with concomitant determination of phenytoin, carbamazepine, and carbamazepine epoxide. *Ther. Drug. Monit.*, New York, v.19, p.292-230, 1987.

- 46-LOISEAU, P., YUEN, A.W.C., DUCHE, B., MENAGER, T., ARNE-BES, M.C. A randomised double-blind, placebo-controlled, crossover add-on trial of lamotrigine in patients with treatment-resistant partial seizures. *Epilepsy Res.*, Amsterdam, v.7, p.136-145, 1990.
- 47-MACDONALD, R.L., KELLY, K.M. Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia*, New York, v.36, suppl.2, p.S2-S12, 1995.
- 48-MACREADY, J.J., HAMILTON, D.P., CHERNIWCHAN, D.P. Assessment of pediatric theophylline measurements. *DICP Ann. Pharmacother.*, Cincinnati, v.24, p.887-888, 1990, (Resumo).
- 49-MAGDALOU, J.; HERBER, R.; BIDAUT, R. *In vitro* N-glucuronidation of a novel antiepileptic drug, lamotrigine, by human liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 260: 1166-1173, 1992. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 50-MATSUO, F., BERGEN, D., FAUGHT, E., MESSENHEIMER, J.A., DREN, A.T., RUDD, G.D., LINEBERRY, C.G. Placebo-controlled study of the efficacy and safety of lamotrigine in patients with partial seizures. *Neurology*, Minneapolis, v.43, n.11, p.2284-2291, 1993.
- 51-MATTSON, R.H., CRAMER, J.A., COLLINS, J.F. Comparison of carbamazepine, phenobarbital, phenytoin, and primidone in partial and secondarily generalized tonic-clonic seizures. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.313, p.145-51, 1985.

- 52-MAY, T.W.; RAMBECK, B.; JÜRGENS, U. Serum concentrations of lamotrigine in epileptic patients: the influence of dose and comedication. *Ther. Drug Monit.*, 1996. Apud: RAMBECK, B., SPECHT, U., WOLF, P. Pharmacokinetic Interactions of the New Antiepileptic Drugs. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.31, n.4, p.309-324, 1996.
- 53-McGEER, E.G., ZHU, S.G. Lamotrigine protects against kainate but not ibotenate lesions in rat striatum. *Neurosci. Lett.*, Shannon, v.112, p.348-351, 1990.
- 54-MELDRUM, B.S. Excitatory amino acid transmitters in epilepsy. *Epilepsia*, New York, v.32, suppl.2, p.S1-S3, 1991.
- 55-MESSENHEIMER, J.A. Lamotrigine. *Epilepsia*, New York, v.36, suppl.2, p.S87-S94, 1995.
- 56-MEYER, M.C., CLOYD, J., GARNETT, W.R., HOLMES, G.L., SCHIFFER, J.R. Practical considerations in anticonvulsant therapy. Part 1. *Am. Pharm.*, Washington, v.35, n.7, 1995.
- 57-MEYER, M.C.; CLOYD, J.; GARNETT, W.R.; HOLMES, G.L.; SCHIFFER, J.R.. Practical considerations in anticonvulsant therapy - Part 2: Managing drug therapy of patients with epilepsy is a critical role for pharmacists. *Am. Pharm.*, Washington, v.35, n. 9, p.31-36, 1995.
- 58-MICROMEDEX Inc. The Extra Pharmacopoeia (eletronic version). Denver, CO, v.88, 1996.
- 59-MIKATI, M.A., SCHACHTER, S.C., SCHOMER, D.L. Long-term tolerability, pharmacokinetic and preliminary efficacy study of

- lamotrigine in patients with resistant partial seizures. *Clin. Neuropharmacol.*, New York, v.12, p.312-321, 1989.
- 60-MILLER, A.A., SAWYER, D.A., ROTH, B., WHEATLEY, P.L., LEACH, M.J., LAMB, R.J. Anticonvulsant studies on BW430C, a novel potential antiepileptic drug. *Epilepsia*, New York, v.25, n.5, p.655-656, 1984.
- 61-MILLER, A.A.; WHEATLEY, P.; SAWYER, D.A.; BAXTER, M.G.; ROTH, B. Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: Anticonvulsant profile in mice and rats. *Epilepsia*, New York, 27 (5): 483-489, 1986.
- 62-MIMS, J., WHEATLEY, P.; SAWYER, D.A.; BAXTER, M.G.; ROTH, B. Compassionate plea use of lamotrigine in children with incapacitant and/or life-threatening epilepsy. *Epilepsia*, New York, v.33, suppl.3, p.83, 1992. (Resumo).
- 63-O'DONNELL, R.A., MILLER, A.A. The effect of lamotrigine upon development of cortical kindled seizures in the rat. *Neuropharmacology*, Oxford, v.30, p.253-258, 1991.
- 64-O'DONOHUE, N.V. Use of antiepileptic drugs in childhood epilepsy. *Arch. Dis. Child.*, London, v.66, p.1173-1179, 1991.
- 65-OLLER, L.F.V., WHEATLEY, P.; SAWYER, D.A.; BAXTER, M.G.; ROTH, B. Lamotrigine in the lennox-gastaut syndrome. *Epilepsia*, New York, v.32, suppl.1, p.58, 1991. (Resumo).
- 66-PANAYIOTOPOULOS, C.P., FERRIE, C.D., KNOTT, C., ROBINSON, R.O. Interaction of lamotrigine with sodium valproate. *Lancet*, London, v.341, n.13, p.445, 1993.

- 67-PARSONS, D.N., MILES, D.W. Metabolic studies with BW430C, a novel anticonvulsant. *Epilepsia*, New York, v.25, n.5, p.656, 1984.
- 68-PATSALOS, P.N., DUNCAN, J.S. Antiepileptic drugs: a review of clinically significant drug interactions. *Drug Saf.*, Auckland, v.9, p.156-184, 1993.
- 69-PECK, A.W. Clinical pharmacology of lamotrigine. *Epilepsia*, New York, v.32, suppl.2, p.S9-S12, 1991.
- 70-PELLOCK, J.M. The clinical efficacy of lamotrigine as an antiepileptic drug. *Neurology*, Minneapolis, v.44, suppl.8, p.S29-S35, 1994.
- 71-PERUCCA, E. The clinical pharmacology of the new antiepileptic drugs. *Pharmacol. Res.*, London, v.28, p.89-106, 1993.
- 72-PISANI, F., DI PERRI, R., PERUCCA, E., RICHENS, A. Interaction of lamotrigine with sodium valproate. *Lancet*, London, v.341, p.1224, 1993.
- 73-PISANI, F., GALLITTO, G., DI PERRI, R. Could lamotrigine be useful in status epilepticus? A case report. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*, London, v.54, p.845-846, 1991.
- 74-PONS, G., WHEATLEY, P.; SAWYER, D.A.; BAXTER, M.G.; ROTH, B. Pharmacokinetics of lamotrigine in young epileptic children. *Epilepsia*, New York, v.34, suppl.2, p.168, 1993. (Resumo).
- 75-PORTER, R.J. Mechanisms of action of new antiepileptic drugs. *Epilepsia*, New York, v.30, suppl.1, p.S29-S34, 1989.
- 76-POSNER, J.; HOLDICH, T.; CROME, P. et al. Comparison of lamotrigine pharmacokinetics in young and elderly healthy

- volunteers. *J. Pharm. Med.*, 1: 121-128, 1991. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 77-POSNER, J., WEBSTER, H., YUEN, A.W.C. Investigation on the ability of lamotrigine, a novel antiepileptic drug, to induce mixed function oxygenase enzymes. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v.32, p.658, 1991.
- 78-Product Information: Lamictal[®], lamotrigine. Burroughs Wellcome Co.; Research Triangle Park, NC, 1995.
- 79-RAMBECK, B., SPECHT, U., WOLF, P. Pharmacokinetic interactions of the new antiepileptic drugs. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.31, n.4, p.309-324, 1996.
- 80-RAMBECK, B., WOLF, P. Lamotrigine: clinical pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.25, n.6, p.433-443, 1993.
- 81-RAMSAY, E.R.; PELLOCK, J.M.; GARNETT, W.R., et al. Pharmacokinetics and safety of lamotrigine (lamictal) in patients with epilepsy. *Epilepsy Res.*, 10: 191-200, 1991. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 82-REUTENS, D.C., DUNCAN, J.S., PATSALOS, P.N. Disabling tremor after lamotrigine with sodium valproate. *Lancet*, London, v.342, p.185-186, 1993.

- 83-REY, E.; VAUZELLE, F.; PONS, G. et al. Pharmacokinetics of lamotrigine in young epileptic children. 5th World Conference of Clinical Pharmacology and Therapy, 1992, Yokohama. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 84-RICHENS, A. Safety of lamotrigine. *Epilepsia*, New York, v.35, suppl.5, S37-S40, 1994.
- 85-RICHENS, A., YUEN, A.W.C. Overview of the clinical efficacy of lamotrigine. *Epilepsia*, New York, v.32, suppl.2, p.S13-S16, 1991.
- 86-RISNER, M.E. Multicenter, double-blind, placebo-controlled, add-on, crossover study of lamotrigine (Lamictal) in epileptic outpatients with partial seizures. *Epilepsia*, New York, v.31, n.5, p.619-620, 1990. (Resumo).
- 87-SAILSTAD, J.M., FINDLAY, J.W.A. Immunofluorometric assay for lamotrigine in human plasma. *Ther. Drug Monit.*, New York, v.13, p.433-442, 1991.
- 88-SANDER, J.W.A.S., PATSALOS, P.N., OXLEY, R., HAMILTON, M.J. YUEN, A.W.C. A randomised double-blind, placebo-controlled, add-on trial of lamotrigine in patients with severe epilepsy. *Epilepsy Res.*, Amsterdam, v.6, p.221-226, 1990.
- 89-SANDER, J.W.A.S., TREVISOL-BITTENCOURT, P.C., HART, Y.M. The efficacy and long-term tolerability of lamotrigine in the treatment of severe epilepsy. *Epilepsy Res.*, Amsterdam, v.7, p.226-229, 1990.

- 90-SCHAPPEL, G.J.; BERAN, R.G.; WAJDAFJE-BERKOVIC, S.
Double-blind placebo controlled, crossover study of lamotrigine in
treatment resistant partial seizures. *Epilepsia*, New York, v. 32,
suppl.1, p.58, 1991.
- 91-SCHAUB, J.E.M., WILLIAMSON, P.J., BARNES, E.W., TREWBY,
P.N. Multisystem adverse reaction to lamotrigine. *Lancet*,
London, v.344, n.13, p.481, 1994.
- 92-SCHLUMBERGER, E., CHAVEZ, F., PALACIOS, L., REY, E.,
PAJOT, N., DULAC, O. Lamotrigine in treatment of 120 children
with epilepsy. *Epilepsia*, New York, v.35, n.2, p 359-367, 1994.
- 93-SCHUMACHER, G.E. *Therapeutic Drug Monitoring*, p.382-383,
Singapore: Simon & Schuster Asia Pte Ltd., 1995.
- 94-SHA, V.P., MIDHA, K.K., DIGHE, S., MCGILVERAY, I.J.,
SKELLY, J., YACOBI, A., LAYLOFF, T., VISWANATHAN,
C.T., COOK, C.E., MCDOWALL, R.D., PITIMAN, K.A.,
SPECTOR, S. Analytical methods validation: bioavailability,
bioequivalence and pharmacokinetics studies. *Pharm. Res.*,
Stuttgart, v.9, n.4, p.588-592, 1992.
- 95-SINZ, M.W., REMMEL, R.P. Analysis of lamotrigine and lamotrigine
2-N-glucuronide in guinea pig blood and urine by reverse-phase
ion-pairing liquid chromatographic. *J. Chromatogr.*, Amsterdam,
v.571, p.217-230, 1991.
- 96-SINZ, M.W., REMMEL, R.P. Isolation and characterization of a
novel quaternary ammonium-linked glucuronide of lamotrigine.
Drug Metab. Dispos., Baltimore, v.19, p.149-153, 1991.

- 97-SPINA, E., PISANI, F., PERUCCA, E. Clinically significant pharmacokinetic drug interactions with carbamazepine: an update. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.31, n.3, p.198-214, 1996.
- 98-THOMSON, A.H., BRODIE, M.J. Pharmacokinetic optimisation of anticonvulsant therapy. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.23, n.3, p.216-230, 1992.
- 99-TIMMINGS, P.L., RICHENS, A. Lamotrigine in primary generalised epilepsy. *Lancet*, London, v.339, n.23, p.1300-1301, 1992.
- 100-VAUZELLE-KERVROEDEN, F., REY, E., CIEUTA, C. Influence of concurrent antiepileptic medication on the pharmacokinetics of lamotrigine as add-on therapy in epileptic children. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v.41, p.325-330, 1996.
- 101-XIE, X.; LANCASTER, B.; PEAKMAN, T., GARTHWAITE, J. Interaction of the antiepileptic drug lamotrigine with recombinant rat brain type IIA Na channels and with native Na channels in rat hippocampal neurones. *Pflugers Arch.*, 430: 437-446, 1995. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 102-ZANINI, A.C.& OGA, S. *Guia de Medicamentos*, São Paulo: Atheneu, 1995.
- 103-WALLACE, S.J. Add-on open trial of lamotrigine in resistant child seizures. *Brain Dev.*, 12: 734, 1990. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic

- drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.
- 104-WARNER, T., PATSALOS, P.N., PREVETT, M. Lamotrigine-induced carbamazepine toxicity: an interaction with carbamazepine-10, 11-epoxide. *Epilepsy Res.*, Amsterdam, v.11, p.147-150, 1992.
- 105-WATELLE, M., DEMEDTS, P., FRANCK, F., DEYN, P.P., WAUTERS, A., NEELS, H. *Ther. Drug Monit.*, New York, v.19, p.460-464, 1997.
- 106-WHEATLEY, P.L., MILLER, A.A. Effects of lamotrigine on electrically induced afterdischarge duration in anaesthetised rat, dog, and marmoset. *Epilepsia*, New York, v.30, p.34-40, 1989.
- 107-WOLF, P. Lamotrigine: preliminary clinical observations on pharmacokinetics and interactions with traditional antiepileptic drugs. *J. Epilepsy*, New York, v.5, p.73-79, 1992.
- 108-YAU, M.K. Effect of valproate on the pharmacokinetics of lamotrigine at steady state. *Epilepsia*, New York, v.33, p.S82, 1992.
- 109-YAU, M.K., WARGIN, W. A single dose and steady state pharmacokinetic of lamictal in healthy male volunteers. London: Wellcome Foundation, 1990: Internal Report N°.: THRS/90/0024. Apud: ELWES, R.D.C., BINNIE, C.D. Clinical pharmacokinetic of newer antiepileptic drugs: lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.30, n.6, p.403-415, 1996.

- 110-YUEN, A.W.C. Lamotrigine: a review of antiepileptic efficacy. *Epilepsia*, New York, v.35, suppl.5, p.S33-S36, 1994.
- 111-YUEN, A.W.C. Lamotrigine: New antiepileptic drugs. *Epilepsy Res.*, Amsterdam, suppl.3, p.115-123, 1991.
- 112-YUEN, A.W.C.; LAND, G.; WEATHERLEY, B.C., PECK, A.W.C. Sodium valproate acutely inhibits lamotrigine metabolism. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 33: 511-3, 1992. Apud: MEYER, M.C., CLOYD, J., GARNETT, W.R., HOLMES, G.L., SCHIFFER, J.R. Practical considerations in anticonvulsant therapy. Part 2: Managing drug therapy of patients with epilepsy is a critical role for pharmacists. *Am. Pharm.*, Washington, v.35, n.9, p.31-36, 1995.
- 113-YUEN, W.C., PECK, A.W. Lamotrigine pharmacokinetics: oral and i.v. infusion in man. *Epilepsia*, New York, v.28, p.582, 1987.
- 114-YUKAWA, E. Optimisation of antiepileptic drug therapy: the importance of serum drug concentration monitoring. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.31, n.2, p.120-130, 1996.

9 Anexos

Anexo 1 Características dos pacientes

NOME: _____

DATA DE NASCIMENTO: ___/___/19__.

SEXO: () masculino () feminino

PESO: _____ Kg

ALTURA: _____ metros

HÁ QUANTO TEMPO FAZ USO DE LTG? _____

DATA DA COLETA: ___/___/19__.

HORA DA COLETA: _____ horas.

Anticonvulsivante em uso	Data da última dose	Hora da última dose	Via de administração	Dose	Frequência
LTG					
FB					
FN					
CBZ					
VA					
CBZ-E					
Outro(s)					

LTG = lamotrigina, FB = fenobarbital, FN = fenitoína, CBZ = carbamazepina, VA = ácido valpróico, 10,11 ECBZ = 10, 11 epóxido de carbamazepina

FAZ USO DE OUTRO(S) MEDICAMENTO(S) ALÉM DO(S) ANTICONVULSIVANTES ? () sim () não
QUAL (IS)? _____

DATA DE CHEGADA DA AMOSTRA AO LABOTATÓRIO: ___/___/19__

DATA E RESULTADO DA ANÁLISE: _____

Anexo 2 Informação Escrita

A lamotrigina é um derivado da feniltriazina, aprovado pela “Food and Drug Administration” (FDA) em 1994 e usado como adjuvante terapêutico no tratamento da epilepsia não satisfatoriamente controlada por outros medicamentos.

No Brasil, este fármaco está sendo comercializado como LAMICTAL[®], pela GLAXO-WELLCOME, na forma farmacêutica de comprimidos nas doses de 25, 50 e 100mg e já é usado com alguma frequência e de maneira crescente. Entretanto, nenhuma metodologia foi ou está sendo aplicada por laboratórios nacionais no que diz respeito à monitorização terapêutica deste fármaco.

A monitorização das concentrações plasmáticas da lamotrigina parece ser útil no esquema de dosagem, particularmente, naqueles pacientes que recebem o fármaco em combinação com um ou mais anticonvulsivantes estabelecidos, pois permite otimizar a farmacoterapia atingindo um máximo de benefícios e minimizando os riscos de toxicidade, uma vez que os efeitos terapêuticos e tóxicos são mais bem relacionados à concentração plasmática do que à dose administrada.

Uma vez que a determinação plasmática da lamotrigina contribui para maior segurança de seu uso, o objetivo deste trabalho se prende à apresentação e padronização de um método analítico que possa ser aplicado à monitorização das concentrações plasmáticas da lamotrigina com finalidade de controle terapêutico, em pacientes sob terapia, visando sua otimização.

Para tanto, serão coletados, de cada indivíduo aproximadamente 20mL de sangue venoso periférico com tubos Vacuntainer[®], adequados

para cada tipo de análise a ser realizada e submetido o plasma à determinação de lamotrigina por cromatografia líquida de alta eficiência. Haverá uma avaliação de possíveis alterações bioquímicas e hematológicas, através de determinadas análises como: alaninaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), bilirrubina total e frações, uréia, creatinina, albumina, hemograma completo.

Também, será coletada, de forma adequada, a primeira urina da manhã de cada paciente para análise tipo I.

Anexo 3 Consentimento Pós-Informação

NOME DO PACIENTE: _____

RESPONSÁVEL LEGAL, SE FOR O CASO: _____

GRAU DE PARENTESCO: _____

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO:

PACIENTE: _____

RESPONSÁVEL: _____

TÍTULO DO PROJETO:

CONTROLE TERAPÊUTICO DA EPILEPSIA POR LAMOTRIGINA
(Padronização e Validação de uma Metodologia Analítica)

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que em ___/___/199_ concordei em participar, como paciente, do projeto de pesquisa acima referido. Fui devidamente informado em detalhes pelo médico responsável que:

- 1-** O estudo implica em que eu me submeta a procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados.
- 2-** Os procedimentos não incluem, necessariamente, os já reconhecidos como aplicáveis em casos como o meu e podem visar à avaliação de tratamentos novos ou a compará-los com os tradicionais.
- 3-** Não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento sair do mesmo, sem que isto leve a que eu

deixe de ser tratado como os demais pacientes assistidos na instituição.

4- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para mim. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a me alertar sobre o fato e a suspender de imediato minha participação como paciente.

São Paulo, ____ de _____ de 199__.

Assinatura do paciente ou
responsável

Assinatura do médico que
obteve o consentimento
(carimbo ou nome legível, com CRM)

Anexo 4 Exames Laboratoriais Complementares

Paciente: _____

- Uréia
- Creatinina
- Bilirrubina total e frações
- Albumina
- AST
- ALT
- Hemograma completo
- Urina tipo I

São Paulo, ____ de _____ de 199__.

Assinatura do médico responsável
(carimbo ou nome legível, com o CRM)