



UNIVERSIDADE DE COIMBRA  
FACULDADE DE FARMÁCIA

**ESTUDO PILOTO PARA A AVALIAÇÃO DA  
INFLUÊNCIA DE DIFERENTES VEÍCULOS E  
FORMULAÇÕES NA BIODISPONIBILIDADE DA  
LAMOTRIGINA**

Natália Alexandra Gil Nunes Patrício

2003

**Dissertação de candidatura ao grau de Mestre**  
apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**Trabalho realizado no Laboratório de Farmacologia da  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra**

## *AGRADECIMENTOS*

É com enorme prazer que expesso os meus agradecimentos a todos os que, directa ou indirectamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado. Desejo assim expressar os meus agradecimentos:

Ao professor Doutor Amílcar Falcão pela possibilidade que me deu de efectuar este trabalho, pela orientação sempre pronta e acessibilidade que demonstrou. Agradeço igualmente a forma paciente e dedicada com que sempre orientou, leu e corrigiu esta tese. Tenho plena consciência de que o seu permanente incentivo foi o meu maior trunfo na realização desta dissertação.

À Professora Doutora Isabel Vitória, como co-orientadora da dissertação, pela sua orientação científica, pela amizade e empenho com que sempre me apoiou. Pelas palavras de encorajamento e incentivos, nos momentos mais difíceis, o meu obrigado.

À Professora Doutora Maria Margarida Caramona pela oportunidade oferecida em frequentar o 4º Mestrado em “Tecnologias do Medicamento” e por todas as facilidades concedidas para a realização do trabalho no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

À Doutora Maria Margarida Castel-Branco, por tudo o que me ensinou, pela permanente disponibilidade sempre que solicitada, e pela ajuda preciosa e fundamental na realização deste trabalho.

À Glaxo Wellcome Research Laboratories pela oportunidade concedida em realizar esta dissertação.

A todos os meus amigos, que sempre estiveram a meu lado, principalmente nas horas difíceis da minha vida, o meu bem-haja. Foram fonte de incentivo permanente.

Aos meus colegas e amigos do Hospital de Santa Maria, pelo permanente incentivo e por todos os bons momentos quotidianos.

À memória do meu Pai e à minha Mãe, pela força, princípios, amor e amizade com que me educaram. Um abraço muito especial à minha mãe, por representar uma força da natureza na minha vida e pelo incentivo constante, numa altura em que pensei fraquejar. Também para o meu irmão, cunhada e sobrinhos o meu obrigada por todo o apoio e acompanhamento prestados.

A ti Carlos, pela dedicação, amor e amizade com que sempre me rodeaste. Tornaste um sonho impossível numa realidade.

Em tua memória **Pai**

## *RESUMO*

A epilepsia é uma patologia de enorme prevalência, conhecida desde os tempos remotos, cujas alternativas terapêuticas surgem de forma consistente apenas na década de 70 do século XX. Os denominados antiepilépticos clássicos incluem: a Carbamazepina (CBZ), a Fenitoína (PHE), o Fenobarbital (PB) e o Ácido Valpróico (VPA). Estes medicamentos de 1ª geração têm associados a si uma fraca tolerabilidade, na maioria das vezes motivada pela própria existência de interações entre eles, como resultado da frequente associação farmacológica no controlo das crises epiléticas. A necessidade de melhorar a qualidade de vida de doentes que padecem desta doença originou que surgissem novos fármacos, entre os quais a Lamotrigina (LTG).

A Lamotrigina é um antiepilético de nova geração que apresenta um vasto espectro de eficácia, nomeadamente na abordagem de crises parciais com ou sem generalização secundária, de crises tónico-clónicas primariamente generalizadas, de crises de ausência e de crises atónicas. Embora na prática clínica a Lamotrigina seja razoavelmente bem tolerada pelos doentes, a dificuldade que existe no estabelecimento de uma relação bem definida entre os níveis plasmáticos obtidos e a resposta farmacológica desencadeada faz com que, actualmente, seja ainda difícil determinar o valor clínico deste antiepilético.

Partindo do princípio que a interpretação dos níveis plasmáticos da Lamotrigina reflectem as concentrações atingidas no local de acção (cérebro), não é surpreendente o facto da caracterização do perfil neurofarmacocinético da Lamotrigina estar na origem de um aprofundar do conhecimento existente quanto à forma como este fármaco actua a nível central.

Por razões de ordem ética e logística, tal estudo só poderá ser realizado em animais de laboratório, sendo necessário para o efeito que, numa primeira fase, se proceda à selecção da formulação galénica a utilizar na execução do protocolo experimental. Uma vez seleccionada a via intraperitoneal, a Lamotrigina, pelas suas características lipofílicas, pode ser administrada sob a forma de diferentes formulações galénicas que, neste trabalho, se reportam a uma solução aquosa de isotionato de Lamotrigina, a uma

solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50% e a uma suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25%. Deste modo, neste estudo piloto avalia-se o comportamento cinético das diferentes formulações, comparando os diferentes perfis plasmáticos *versus* cerebrais, tendo sido possível concluir que, pelas características demonstradas quanto à sua biodisponibilidade e reprodutibilidade, a solução aquosa corresponde à melhor opção para alcançar os objectivos pretendidos.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Considerações gerais sobre a epilepsia</b> .....	<b>2</b>
1.1.1	Mecanismo celular da epilepsia.....	3
1.1.2	Classificação da epilepsia.....	6
1.1.3	Fármacos antiepilépticos.....	9
<b>1.2</b>	<b>Lamotrigina</b> .....	<b>15</b>
1.2.1	Estrutura química.....	15
1.2.2	Mecanismo de acção.....	16
1.2.3	Perfil farmacocinético.....	17
1.2.3.1	Biodisponibilidade e absorção.....	18
1.2.3.2	Distribuição e ligação proteica.....	19
1.2.3.3	Metabolismo e excreção.....	20
1.2.3.4	Tempo de semivida.....	21
1.2.3.5	Auto-indução.....	21
1.2.3.6	Factores que influenciam a cinética da Lamotrigina.....	22
1.2.3.6.1	Idade.....	22
1.2.3.6.2	Insuficiências orgânicas.....	23
1.2.3.6.3	Gravidez.....	24
1.2.4	Eficácia clínica da Lamotrigina.....	24
1.2.4.1	A Lamotrigina em monoterapia.....	25
1.2.4.2	A Lamotrigina em politerapia.....	27
1.2.4.3	Utilização de Lamotrigina nas crianças.....	29
1.2.5	Segurança e tolerabilidade.....	30
1.2.6	Interação com outros antiepilépticos.....	34
1.2.6.1	Efeito de outros antiepilépticos na farmacocinética da Lamotrigina.....	34
1.2.6.2	Efeito da Lamotrigina na farmacocinética de outros antiepilépticos.....	35
1.2.6.3	Interação com outros medicamentos.....	37
<b>2</b>	<b>OBJECTIVO</b> .....	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>41</b>
3.1	Animais.....	42
3.2	Reagentes padrão.....	42
3.3	Anestésicos.....	42
3.4	Formulações galénicas.....	43
3.5	Desenho experimental.....	43

---

3.6	<i>Técnica analítica</i> .....	44
4	<b>RESULTADOS</b> .....	47
4.1	<i>Concentrações plasmáticas e cerebrais de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	48
4.2	<i>Comparação do perfil das concentrações plasmáticas de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	49
4.3	<i>Comparação do perfil das concentrações cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	50
4.4	<i>Comparação do perfil das concentrações plasmáticas e cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	51
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	54
5.1	<i>Animais</i> .....	55
5.2	<i>Administração do fármaco</i> .....	57
5.3	<i>Procedimento experimental</i> .....	58
5.4	<i>Perfil das concentrações plasmáticas de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	59
5.5	<i>Perfil das concentrações cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	61
5.6	<i>Análise dos perfis plasmáticos e cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada</i> .....	61
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	64
7	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	67

## SIGLAS E ABREVIATURAS

AUC	Área sob a curva
BZD	Benzodiazepinas
CBZ	Carbamazepina
CBZ-E	Epóxido - 10,11 - Carbamazepina
C <sub>max</sub>	Concentração máxima
CV	Coeficiente de variação
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetracético ( <i>ethylene diamine tetra acetic acid</i> )
EEG	Electroencefalograma
EPSP	Potencial pós-sináptico excitatório
ESM	Etossuccimida
F	Biodisponibilidade
FAE	Fármacos antiepilépticos
FBM	Felbamato
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
GBP	Gabapentina
HPLC	Cromatografia líquida de elevada resolução ( <i>high performance liquid chromatography</i> )
ILAE	Liga Internacional Contra a Epilepsia
i.p.	Intraperitoneal
LTG	Lamotrigina
n	Tamanho da amostra
NET	Necrose Epidérmica Tóxica
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
OXC	Oxcarbazepina
PB	Fenobarbital
PHE	Fenitoína
PRM	Primidona

$r^2$	Coeficiente de determinação
RCNA	Receptores nicotínicos da acetilcolina
SHA	Síndrome de Hipersensibilidade aos Antiepilépticos
SNC	Sistema Nervoso Central
SSJ	Síndrome de Steven-Jonhson
TGB	Tiagabina
TPM	Topiramato
$t_{1/2}$	Tempo de semivida
UDGT	Enzima uridina difosfato glucuronil transferase
UDPGA	Ácido uridindifosfato glucurónico
VGB	Vigabatrina
VPA	Ácido Valpróico
V/F	Volume aparente de distribuição

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Classificação das crises epiléticas. ....	7
Tabela 1.2 – Classificação da epilepsia, síndromes epiléticas e distúrbios relacionados.....	8
Tabela 1.3 – Mecanismos de acção dos diferentes FAE. ....	11
Tabela 1.4 – Espectro de actividade dos FAE nos diferentes tipos de crises. ....	13
Tabela 1.5 – Tolerabilidade da Lamotrigina em regime de monoterapia, indicando a incidência dos efeitos adversos em pacientes com epilepsia diagnosticada recentemente ou epilepsia refractária. 31	
Tabela 1.6 – Estudo de tolerabilidade da Lamotrigina, onde cerca 10% dos pacientes reportaram efeitos adversos em ensaios duplamente-cegos. ....	31
Tabela 1.7 – Dosagem de Lamictal <sup>®</sup> : adultos e crianças com mais de 12 anos. ....	37
Tabela 1.8 – Dosagem de Lamictal <sup>®</sup> : crianças entre os 2 e 12 anos.. ....	37
Tabela 4.1 – Concentrações plasmáticas de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e suspensão (média ± desvio padrão; n = 4). ....	48
Tabela 4.2 – Concentrações cerebrais de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e suspensão (média ± desvio padrão; n = 4).....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 – Estrutura da Lamotrigina. ....	15
Figura 1.2 – Mecanismo de acção da Lamotrigina na fenda sináptica.....	16
Figura 1.3 – Biodisponibilidade da Lamotrigina. ....	18
Figura 1.4 – Variação do tempo de semivida da Lamotrigina com a administração concomitante de antiepilépticos indutores enzimáticos.....	35
Figura 3.1 – Esquema do procedimento utilizado.....	44
Figura 3.2 – Tratamento das amostras biológicas.....	45
Figura 4.1 – Curvas plasmáticas de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média ± desvio padrão; n = 4).....	49
Figura 4.2 – Gráfico baseado na Figura 4.1, que apresenta em detalhe as curvas plasmáticas nas 2 primeiras horas após a administração do fármaco, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média ± desvio padrão; n = 4). ....	49
Figura 4.3 – Curvas cerebrais de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média ± desvio padrão; n = 4). ....	50
Figura 4.4 – Gráfico baseado na Figura 4.3, que apresenta em detalhe as curvas cerebrais nas 2 primeiras horas após a administração do fármaco, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média ± desvio padrão; n = 4).....	50
Figura 4.5 – Curvas plasmática e cerebral de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa de isotionato de Lamotrigina (média ± desvio padrão; n = 4) .....	51
Figura 4.6 – Gráfico baseado na Figura 4.5, que apresenta em detalhe as curvas plasmática e cerebral nas 2 primeiras horas após a administração da solução aquosa de isotionato de Lamotrigina. ....	51
Figura 4.7 – Curvas plasmática e cerebral de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50% (média ± desvio padrão; n = 4). ....	52
Figura 4.8 – Gráfico baseado na Figura 4.7, que apresenta em detalhe as curvas plasmática e cerebral nas 2 primeiras horas após a administração da solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50%. ....	52
Figura 4.9 – Curvas plasmática e cerebral de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de suspensão em metilcelulose a 0,25% (média ± desvio padrão; n = 4). ....	53
Figura 4.10 – Gráfico baseado na Figura 4.9, que apresenta em detalhe as curvas plasmática e cerebral nas 2 primeiras horas após a administração da suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25% .....	53

# **1 Introdução**

## **1.1 Considerações gerais sobre a epilepsia**

A epilepsia é uma doença que não encontra barreiras em factores como a idade, a raça ou o sexo, populações e condições sócio-económicas, subsistindo em todos os países independentemente do seu grau de desenvolvimento (SHORVON e FARMER, 1988). É uma das patologias do Sistema Nervoso Central (SNC) conhecida há mais tempo, sendo mesmo retratada em papiros que datam de 3000 a.C. Nesses tempos mais remotos, a origem da doença era atribuída aos espíritos malignos e, infelizmente, em pleno século XXI, ainda surgem invocações para o sobrenatural quando alguém padece desta patologia.

O termo epilepsia engloba um conjunto de transtornos do SNC, que têm em comum a repetição de episódios súbitos e transitórios de fenómenos anormais de origem motora, sensorial, autónoma e psíquica (CARRETERO, 1994). É uma doença polimórfica que se caracteriza pela recorrência periódica de crises epilépticas, com ou sem convulsões (ESTEVES, 1994). As crises epilépticas estão sempre relacionadas com descargas anormais e excessivas a nível cerebral, podendo ser registadas através de um electroencefalograma (EEG) (CARRETERO, 1994), sendo que essa hiperactividade neuronal de duração variável pode estar circunscrita a uma determinada área cerebral ou então propagar-se e estender-se pelas áreas vizinhas (ESTEVES, 1994).

Em cada crise deve ter-se em consideração a sintomatologia clínica, o estado de consciência, e a actividade motora e sensorial, na medida em que todos estes factores se relacionam confluindo para a área onde ocorre a hiperactividade neuronal. É de extrema importância a localização da zona onde se produz a descarga, visto que a esse mesmo local corresponde uma determinada manifestação clínica, como a perturbação súbita de consciência, alterações sensitivas, perturbações motoras, entre outras (FLÓREZ e ARMIJO, 1992; ESTEVES, 1994). Aliás, as crises epilépticas são objecto de uma classificação que é particularmente relevante para a escolha da terapêutica medicamentosa antiepiléptica (ESTEVES, 1994).

A epilepsia pode ocorrer em qualquer idade e influencia gravemente a qualidade de vida dos indivíduos que sofrem deste mal. Regra geral e em todas as épocas, os doentes epilépticos foram marginalizados do ponto de vista social, profissional e familiar



(ESTEVES, 1994). No entanto, nos dias que correm, com o avanço tecnológico da indústria farmacêutica e do conhecimento na medicina, surgem várias possibilidades terapêuticas que permitem ao doente epilético uma recuperação perfeita, assim como uma completa integração familiar e social.

Estima-se que, em todo o mundo, 50 milhões de pessoas sofram de epilepsia. Para a maioria, a possibilidade de viver sem crises epiléticas, conquistando uma vida dita normal, depende do tratamento com o(s) fármaco(s) adequado(s), diminuindo ou mesmo eliminando a recorrência das crises.

### **1.1.1 Mecanismo celular da epilepsia**

A investigação dos mecanismos celulares no âmbito da epilepsia teve início há várias décadas, quando o SNC dos vertebrados começou a ser mais explorado e entendido. Só nessa ocasião é que a excitação neuronal e as funções sinápticas começaram a ser estudadas (DICTER e AYALA, 1987) e a verdade é que, conhecendo melhor os mecanismos celulares que se relacionam com a epilepsia, assim como os neurotransmissores intervenientes, os receptores, os canais iónicos, entre outros, é mais fácil pensar numa forma de tratar e dominar a doença.

De forma sucinta, serão descritos os possíveis mecanismos que estão ligados à despolarização, hiperpolarização e sincronização neuronal. Todavia, a maioria das hipóteses apontadas ainda não se encontram, na sua totalidade, cientificamente comprovadas.

A actividade neuronal depende essencialmente da permeabilidade da célula aos iões  $K^+$ ,  $Na^+$  e outros (incluindo o ião  $Cl^-$ ). Todos os fenómenos ligados à despolarização e repolarização celular estão intimamente ligados às modificações que ocorrem na dita permeabilidade (DARNELL, LODISH e BALTIMORE, 1990).

Quando uma célula está em repouso, onde a condutância do ião  $K^+$  é dominante, o potencial de membrana é aproximadamente -60 mV. Esta polarização é assegurada pela alta concentração de iões  $K^+$  no meio intracelular, em contrapartida com a alta concentração de iões  $Na^+$  no exterior da célula. Caso ocorra estímulo (por exemplo, a libertação de um neurotransmissor), a célula despolariza, isto é, a permeabilidade ao ião

$\text{Na}^+$  aumenta, permitindo a este íão a entrada na célula, tornando o seu interior mais positivo. A despolarização da célula gera a abertura de mais canais de  $\text{Na}^+$ , uma vez que a condutância destes é aumentada de forma transitória. Após 1 a 2 ms, os canais de  $\text{Na}^+$  inactivam-se, enquanto que os canais de  $\text{K}^+$  abrem-se e conduzem a uma repolarização da membrana (DICTER, 1989; DARNELL, LODISH e BALTIMORE, 1990). Em algumas células, a permeabilidade aos íões  $\text{K}^+$  pode ser muito grande, levando a que durante o processo de repolarização celular o potencial de membrana baixe para valores de -85 mV. A esta fase dá-se o nome de hiperpolarização celular (DARNELL, LODISH e BALTIMORE, 1990).

A hiperpolarização tem como objectivo limitar a duração dos picos eléctricos (gerados durante a despolarização celular e são detectados e interpretados no EEG), determinar a frequência desses mesmos picos e prevenir a deflagração da crise epiléptica (DICTER e AYALA, 1987; DICTER, 1989; DARNELL, LODISH e BALTIMORE, 1990).

A despolarização, repolarização e hiperpolarização acabam por ser um simples mecanismo de transmissão de um sinal excitatório de neurónio – neurónio. Caso esta organização celular se desregule, seja por que motivo for, a probabilidade de surgir uma crise epiléptica aumenta.

A despolarização causada por um estímulo específico começa sensivelmente 0,5 ms após o estímulo atingir a célula. O pico de despolarização ocorre entre 1 a 2 ms, decrescendo em seguida. Durante este potencial, designado por potencial pós-sináptico excitatório (EPSP), a excitabilidade do neurónio a outros estímulos aumenta (DICTER e AYALA, 1987; DICTER, 1989; DARNELL, LODISH e BALTIMORE, 1990). O estado EPSP, responsável pela propagação do sinal excitatório, tem como base vários mecanismos celulares, como por exemplo a inibição de receptores Ácido Gama-Aminobutírico (GABA), a activação dos receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA) e a libertação de neuromoduladores que potenciam o estado de excitação celular (DICTER e AYALA, 1987; DICTER, 1989). O controlo deste potencial é de grande importância porque pode suprimir a excitação das células pós-sinápticas e evitar uma excitação anormal.

Mas a despolarização também pode ter início sem estímulos externos, o que justifica a maioria das crises que surpreendem o doente epiléptico. Tal fenómeno pode

resultar da libertação de alguns neuromodeladores, como por exemplo a acetilcolina, responsável pela diminuição da concentração de  $K^+$  e pela diminuição da corrente de  $Ca^{2+}$ , ou estar relacionado com algumas alterações anatómicas e distribuição de canais iónicos (DICTER e AYALA, 1987; DICTER, 1989). De acordo com algumas publicações científicas, as células piramidais CA1 do hipocampo são capazes de induzir “picos eléctricos” espontaneamente, independentemente das áreas vizinhas (DICTER e AYALA, 1987; DICTER, 1989), o que vem sustentar a ideia da crise surgir naturalmente, sem qualquer estímulo.

O passo chave de todo o processo acaba por ser a hiperpolarização, porque finaliza a excitação da célula. O controlo desta fase está dependente da abertura prolongada dos canais de  $K^+$ , da activação dos receptores GABA, da libertação de neurotransmissores que estão associados aos canais de  $Cl^-$ , entre outros factores (DICTER e AYALA, 1987; DICTER, 1989). Caso a hiperpolarização não ocorra (ou porque os canais de  $Na^+$  e  $Ca^{2+}$  se inactivaram lentamente ou porque os receptores NMDA se mantiveram activos, entre outros), surge o risco do aparecimento de uma crise epiléptica.

Estes conhecimentos celulares são a chave na concepção de novos fármacos, porque é a nível celular, mais propriamente a nível molecular, que todas as interacções fármaco – receptor acabam por ter lugar. Ao longo dos vários anos, diversos trabalhos científicos sugerem que a epilepsia tem uma componente genética. Na verdade, estudos moleculares, realizados em indivíduos com epilepsia idiopática (ver capítulo 1.1.2), permitiram a descoberta dos genes responsáveis pela codificação das subunidades proteicas dos canais de sódio e potássio, assim como a subunidade dos receptores nicotínicos. Constatou-se que se esses mesmos genes sofrerem mutações, ocorrem alterações ao nível da despolarização (BERKOVIC e SCHEFFER, 2001). Além disso, recentemente ficou demonstrado que dois tipos de síndrome da epilepsia, as convulsões neonatais benignas e a epilepsia generalizada com convulsões febris, se encontravam associadas a patologias relacionadas com os canais de sódio e potássio (STEINLEIN e NOEBELS, 2000).

Tendo em conta estes desenvolvimentos mais recentes, facilmente se compreende a complexidade associada à utilização clínica de fármacos antiepilépticos (FAE), surgindo pelo caminho uma nova perspectiva: a aposta na farmacogenética.

### **1.1.2 Classificação da epilepsia**

Reconhecendo a heterogeneidade da epilepsia enquanto patologia, facilmente se compreende que a classificação das suas diferentes formas de manifestação se torne complexa (ESTEVES, 1994).

Existem numerosas classificações dos diferentes quadros epilépticos, umas orientadas em função da causa, outras mais relacionadas com as manifestações clínicas. Ambas têm como objectivo principal possibilitar uma melhor abordagem terapêutica e o estabelecimento de um prognóstico tão correcto quanto possível (ESTEVES, 1994).

A classificação das crises epilépticas, para além de dinâmica, é um exercício sobre o qual os investigadores se têm debruçado ao longo das últimas décadas. Importa reconhecer, no entanto que, com o passar dos anos e conseqüentemente com o aprofundamento dos conhecimentos a nível anatómico (neurofisiologia), patológico e com o desenvolvimento de novos fármacos, esta classificação está cada vez mais detalhada e fundamentada (DREIFUSS, 1997).

Em 1969, a Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE) elaborou um esquema de classificação de aplicação universal (SHORVON, 1990). Desde essa data, a evolução na tecnologia permitiu aperfeiçoar os métodos de caracterização das crises epilépticas, nomeadamente o EEG (COMMISSION, 1981) e, com base nestes progressos, em 1981 surgiu o esquema de classificação orientado em função das manifestações clínicas e perfis electroencefalográficos (SHORVON, 1990).

De acordo com este padrão de classificação, as crises epilépticas são organizadas em 3 grupos diferentes: generalizadas, parciais e não classificadas (COMMISSION, 1981; SHORVON, 1990; ESTEVES, 1994). As crises parciais são aquelas que se originam num local concreto do cérebro e dividem-se em duas classes distintas: as simples, caracterizadas por não se observar perda de consciência, e as complexas, onde ocorrem perdas de consciência, mesmo que instantâneas. As crises generalizadas, por sua vez, podem ser convulsivas (tónico-clónicas ou mioclónicas) ou não convulsivas (ausências) (Tabela 1.1) (SHORVON, 1990; ESTEVES, 1994).

Tabela 1.1 – Classificação das crises epiléticas.\*

---

<b>1. Crises Parciais</b>
<b>1.1. Crises parciais simples</b>
<b>1.2. Crises parciais complexas (com diminuição do nível de consciência)</b> Parciais simples, seguidas de parciais complexas Parciais complexas desde o início
<b>1.3. Crises parciais complexas, que evoluem para a generalização secundária</b>
<b>2. Crises generalizadas</b>
<b>2.1. Não convulsivas</b> Ausências Crises atónicas
<b>2.2. Convulsivas</b> Crises generalizadas tónico-clónicas Crises tónicas Crises mioclónicas

---

Em 1985 surgem novos conceitos e definições acerca da síndrome epilética. Ao considerar-se a epilepsia como sendo um distúrbio caracterizado por um conjunto de sinais e sintomas que ocorrem conjuntamente, uma vez mais a sua classificação sofreu nova evolução (COMMISSION, 1985). Em contradição com a doença, a síndrome não tem necessariamente sempre a mesma etiologia e prognóstico (COMMISSION, 1985).

Em 1989, após o progresso de várias técnicas, constatou-se que a classificação segundo o tipo de crise não era suficiente, tendo então a ILAE introduzido um novo esquema que incluía a classificação das epilepsias, síndromes epiléticas e distúrbios relacionados. Segundo este tipo de classificação, são considerados factores como o tipo de crise, o EEG, o prognóstico, a fisiopatologia e o estudo etiológico (SHORVON, 1990). Com esta nova classificação, as crises são divididas em crises idiopáticas, sintomáticas e criptogénicas (Tabela 1.2) (COMMISSION, 1989).

---

\* Adaptado a partir de COMMISSION (1981), SHORVON (1990) e ESTEVES (1994).

Tabela 1.2 – Classificação da epilepsia, síndromes epiléticas e distúrbios relacionados.\*

---

<b>1. Epilepsia parcial e síndromes</b>
<b>1.1. Idiopática</b>
Epilepsia benigna da infância com pontas centro-temporais
Epilepsia occipital
<b>1.2. Sintomáticas</b>
Epilepsia parcial crónica progressiva e contínua
Epilepsia do lobo temporal
Epilepsia do lobo frontal
Epilepsia do lobo parietal
Epilepsia do lobo occipital
<b>1.3. Criptogénica</b>
<b>2. Epilepsia e síndromes generalizadas</b>
<b>2.1. Idiopática</b>
Convulsões neonatais benignas
Convulsões neonatais benignas familiares
Epilepsia mioclónica benigna da infância
Epilepsia de ausência da infância
Epilepsia mioclónica juvenil
Epilepsia de ausência juvenil
Epilepsia com crises de grande mal
Outras epilepsias idiopáticas generalizadas
<b>2.2. Criptogénicas ou sintomáticas</b>
Síndrome de West
Síndrome Lennox-Gastaut
Ausência mioclónica
<b>2.3. Sintomática</b>
Etiologia não específica
Síndromes específicas (consequências de diversas situações clínicas)
<b>3. Epilepsia e síndromes indeterminadas</b>
<b>3.1 Com crises focais e generalizadas</b>
Crise neonatal
Epilepsia mioclónica severa durante infância
Epilepsia com ponta-onda contínua durante o sono
Outro tipo de epilepsias não determinadas
<b>3.2 Sem traços focais ou generalizados inequívocos</b>
<b>4. Síndromes especiais</b>
<b>4.1 Convulsões febris</b>
Estado de mal epilético isolado ou crises isoladas
Convulsões que resultam de perturbações metabólicas ou estados tóxicos

---

\* Adaptado a partir de COMMISSION (1985), COMMISSION (1989), SHORVON (1990) e ESTEVES (1994).

As crises idiopáticas têm origem genética, tendo sido esta descoberta apoiada pelo avanço da Biologia Molecular (COMMISSION, 1985; BLUME e WOLF, 1997). Perante um estudo elaborado, também se chegou à conclusão que pessoas com distúrbios neurológicos aumentam o risco de padecer de epilepsia, designando-se este tipo de quadro clínico por crises sintomáticas. As crises criptogénicas caracterizam-se por uma desordem cuja causa permanece desconhecida (COMMISSION, 1985; BLUME e WOLF, 1997).

De acordo com esta nova classificação, temos duas grandes classes: a primeira separa as crises generalizadas das epilepsias parciais (Tabela 1.1), enquanto que a outra classe divide o tipo de crise de acordo com a sua etiologia, mais concretamente, em idiopáticas (primárias), sintomáticas (secundárias), ou criptogénicas (Tabela 1.2) (COMMISSION, 1985).

### **1.1.3 Fármacos antiepilépticos**

O controlo das crises epiléticas através da utilização de fármacos tem feito inúmeros progressos na última década. Este facto está relacionado não só com o aparecimento de novas moléculas como também com a monitorização sérica dos tratamentos, facilitando a terapia e o relacionamento do doente com o medicamento (BEGHI e PERUCCA, 1995).

O diagnóstico da epilepsia é baseado em detalhes que decorreram antes, durante e após as crises, mais importante ainda, apoiados pelo testemunho de quem assistiu (CHADWICK, 1990) e incluindo um estudo minucioso da família do doente, momento em que a colaboração de todos é de extrema importância.

Uma das questões que se coloca é a que diz respeito à necessidade de tratamento após uma única crise epilética. Segundo Goodridge e Shorvon, uma primeira crise é seguida de outras em 80% dos casos (CHADWICK, 1990). Regra geral, a maioria dos especialistas só inicia o tratamento após uma primeira reincidência, que muitas vezes está relacionada com diversos factores, nomeadamente a idade do doente (CHADWICK, 1990; HOLMES, 1993).

Após a decisão de iniciar o tratamento, a adopção de um regime posológico baseado na monoterapia é a melhor opção pela sua tolerabilidade e adesão à terapêutica. Mas isto nem sempre é possível e o doente acaba por ter que tomar mais do que um fármaco antiepiléptico contrariando as vantagens anteriormente apontadas, não obstante descobertas recentes referiram não existir diferenças entre a monoterapia e politerapia, no que diz respeito à neurotoxicidade (DECKERS *et al.*, 2001).

No início do tratamento, as doses de fármaco vão aumentando progressivamente, até que se consiga controlar as crises sem que o doente manifeste indícios de toxicidade (GOLDSMITH e DE BITTENCOURT, 1995). Durante esta fase de adaptação do doente ao fármaco, a monitorização dos níveis de fármaco no sangue é muito importante, dada a correlação existente entre as concentrações cerebrais e plasmáticas (BEGHI e PERUCCA, 1995).

Se a terapêutica não for eficaz, deve-se proceder a uma substituição gradual por outro fármaco sem que, no entanto, o primeiro seja retirado enquanto o segundo não atinja os níveis séricos terapêuticos (BEGHI e PERUCCA, 1995). Se toda a terapêutica farmacológica for ineficaz, pode-se, em certos casos, recorrer a técnicas cirúrgicas.

Um fármaco antiepiléptico, tal como outro fármaco qualquer, deverá reunir determinadas condições, tais como biodisponibilidade oral elevada, moderada ligação às proteínas plasmáticas, penetração eficiente na barreira hematoencefálica, tempo de semivida longo (tornando-se assim compatível com a administração do medicamento uma a duas vezes ao dia), cinética linear e ausência de metabolitos activos (BIALER, 1992; GRAM, 1996; PERUCCA, 1996).

Farmacologicamente podemos considerar que existem fundamentalmente duas gerações de fármacos antiepilépticos. Uma primeira geração que corresponde à terapia clássica e que tem sido amplamente implementada nas últimas décadas, onde se incluem fármacos denominados de primeira linha: Carbamazepina (CBZ), Fenitoína (PHE), Ácido Valpróico (VPA), Fenobarbital (PB), Primidona (PRM), Etossuccimida (ESM) e algumas Benzodiazepinas (BZD) (ordem decrescente de utilização na prática clínica). Porém, este grupo de fármacos estava longe de ser considerado ideal, dado o controlo das crises epilépticas falhar em 30% dos casos, as interações medicamentosas serem muitas e a tolerabilidade nem sempre se mostrar adequada à sua utilização crónica (PERUCCA, 1996). A verdade é que a tentativa de encontrar antiepilépticos com



amplo espectro de acção a que se deveriam juntar boas características no que respeita à tolerabilidade e perfil farmacocinético, tem sido um dos maiores desafios da indústria farmacêutica nos tempos mais recentes, tendo por esse motivo surgido a chamada segunda geração de antiepilépticos que inclui substâncias como: Vigabatrina (VGB), Lamotrigina (LTG), Oxcarbazepina (OXC), Gabapentina (GBP), Felbamato (FBM), Tiagabina (TGB) e o Topiramato (TPM) (GRAM, 1996; PERUCCA, 1996; SERRANO-CASTRO e SÁNCHEZ-ÁLVAREZ, 2001).

Os antiepilépticos de nova geração exibem diferentes mecanismos de acção e, tal como já acontecia com os antiepilépticos tradicionais, a estratégia de actuação passa fundamentalmente pelo controlo dos canais iónicos, nomeadamente os canais de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  tipo T, à activação do receptores GABA e à inibição da libertação dos aminoácidos excitatórios. Alguns dos antiepilépticos incluem mais que um mecanismo de acção, embora haja sempre um que prevaleça (Tabela 1.3) (SILLS e BRODIE, 2001).

Tabela 1.3 – Mecanismos de acção dos diferentes FAE.\*

FAE	$\text{Na}^+$	$\text{Ca}^{2+}$ (T)	$\text{Ca}^{2+}$ (L, N, P, O)	GABA	Glutamato	Anidrase carbónica
Fenitoína	+++ <sup>†</sup>		+ <sup>‡</sup>	+		
Carbamazepina	+++		+	+		
Fenobarbital	++ <sup>§</sup>			++	++	
Ácido Valpróico	++	+			+	
Etossuccimida		+++				
Diazepam	+		+	+++		
Lamotrigina	+++		+			
Vigabatrina				+++		
Tiagabina				+++		
Gabapentina	+			++		
Felbamato	+		+	+	++	
Topiramato	++			++	++	+

\* Adaptado a partir de MELDRUM (1996).

<sup>†</sup> Acção bem documentada e que parece ser utilizada pela maioria dos fármacos anticonvulsionantes.

<sup>‡</sup> Acção com algum significado clínico.

<sup>§</sup> Acção clínica ainda mal conhecida.

Os antiepilépticos de segunda geração, apesar de mais caros, têm demonstrado uma maior eficácia no controlo das diferentes crises epiléticas, apresentando melhores índices de tolerabilidade e menor frequência de interações medicamentosas (NASSIRI e STELMASIAK, 2000). Este novo grupo de fármacos apresenta um perfil cinético mais linear, nomeadamente a Vigabatrina e a Gabapentina (PERUCCA, 1996), e o seu metabolismo é, na sua maioria, não oxidativo, o que está na base da existência de um menor potencial em termos de interações medicamentosas. Apesar de todas estas características, nem sempre tem sido fácil proceder à avaliação da eficácia relativa dos novos antiepilépticos em relação aos antiepilépticos clássicos. Na Tabela 1.4 resumem-se os principais pontos de comparação possíveis no momento actual. A Lamotrigina parece partilhar com o Ácido Valpróico boa eficácia no tratamento de epilepsias parciais, com ou sem generalização secundária e, possivelmente, para vários tipos de epilepsias generalizadas, sendo utilizada como fármaco de 2ª linha. O Felbamato e o Topiramato são fármacos de largo espectro. O Felbamato é eficaz no tratamento de crises atónicas associadas à síndrome Lennox-Gastaut, enquanto que o Topiramato controla melhor as crises parciais, com ou sem generalização secundária. Os restantes novos fármacos, como a Vigabatrina, a Gabapentina e a Oxcarbazepina, demonstraram eficácia no controlo das crises parciais, com ou sem generalização secundária. Inclusivamente, a Vigabatrina tem tido muito sucesso na epilepsia parcial complexa e nos espasmos infantis. A sua eficácia é comparada à da Carbamazepina (FLÓREZ e ARMIJO, 1992; PERUCCA, 1996).

Tabela 1.4 – Espectro de actividade dos FAE nos diferentes tipos de crises.\*

Todo o tipo de crises e síndromes	Todo o tipo de crises, excepto as ausências	Crises parciais e generalizadas tónico-clónicas †	Crises de ausência
Ácido Valpróico	Fenobarbital	Carbamazepina	Etossuccimida
Lamotrigina	Primidona	Fenitoína	
Benzodiazepinas ‡		Vigabatrina	
Felbamato §		Oxcarbazepina	
Topiramato §		Gabapentina	

Ensaio clínico realizados (contra placebo) permitiram concluir que entre 15 a 40% dos doentes de difícil controlo apresentaram uma melhoria significativa quando submetidos aos antiepilépticos de segunda geração. A maioria dos novos antiepilépticos demonstrou uma melhor tolerabilidade apesar de persistirem alguns dos efeitos adversos já reconhecidos aos antiepilépticos tradicionais (BIALER, 1992; KÄLVIÄINEN, KERÄNEN e RIEKKINEN, 1993; PERUCCA, 1996).

Portanto, apesar do muito que ainda existe por fazer no domínio da actuação farmacológica, importa salientar que passos seguros têm sido dados no sentido de se dotar o arsenal terapêutico de ferramentas que permitam um melhor controlo das crises com um aumento da qualidade de vida dos doentes, quer pela supressão das crises epiléticas quer pelo aumento de tolerabilidade apresentados pelos antiepilépticos de nova geração. Actualmente e de acordo com estes parâmetros, alguns dos antiepilépticos de segunda geração são já considerados como fármacos de primeira escolha para o início do tratamento, dependendo do perfil do doente e do tipo de crise

\* Adaptado a partir de PERUCCA (1996).

† A Carbamazepina, a Fenitoína e a Vigabatrina podem agravar as crises mioclónicas e ausências (e, provavelmente, outros tipos de crises). Este risco é partilhado pela Oxcarbazepina e a Gabapentina. A Vigabatrina é eficaz nos espasmos infantis.

‡ Pode ocasionalmente agravar as crises tónicas (especialmente em pacientes com síndrome Lennox-Gastaut).

§ Evidências muito preliminares.

que seja diagnosticada (PERUCCA, 2001; HACHAD, RAGUENEAU-MAJLESSI e LEVY, 2002).

Na realidade, apesar dos esforços da ciência em encontrar antiepilépticos universais e com óptimas características a todos os níveis (nomeadamente as que interferem com a qualidade de vida do doente), a verdade é que a variabilidade nas respostas obtidas é muito grande, podendo este facto encontrar explicação na diferente constituição genética individual e/ou populacional.

Partindo do reconhecimento de que a epilepsia é uma doença de difícil controlo porque a terapia nem sempre é bem sucedida, vários grupos científicos interessaram-se pelo assunto e, tendo em conta que a epilepsia abrange 33 regiões cromossómicas, houve uma tentativa de cruzar esta informação com a resposta a alguns antiepilépticos. Um dos antiepilépticos melhor estudados é a Fenitoína, antiepiléptico metabolizado pelas enzimas CYP2C9 e CYP2C19 do citocromo P<sub>450</sub>. A enzima CYP2C9 exhibe dois polimorfismos, \*2 e \*3, que reduzem a actividade da enzima. Nos doentes com epilepsia heterozigóticos para o alelo \*3 (\*1/\*3), verificou-se que a eliminação da Fenitoína baixava significativamente e, conseqüentemente, a dose diária deste medicamento também deveria baixar (SPEAR, 2001).

Outro trabalho que relacionou as diferenças genéticas com diferentes respostas a fármacos, foi o que demonstrou a existência de uma mutação no gene para os receptores nicotínicos da acetilcolina (RCNA) (SPEAR, 2001), cuja principal característica é a perda de actividade dos receptores nicotínicos. Neste trabalho científico, os genes RCNA foram introduzidos num grupo de células, onde se verificou que as células que não continham os genes RCNA respondiam mais fortemente à acção da Carbamazepina, do que as células que tinham incorporado os genes em questão (SPEAR, 2001).

Sem dúvida que a genética acabará por ser um aliado na selecção e desenvolvimento dos antiepilépticos. Um exemplo disso é a Retigabina, que surgiu quando se descobriu que os genes KCNQ codificavam as subunidades do “canal M”, um tipo de canal de potássio relacionado com o controlo das descargas eléctricas neuronais repetitivas (COOPER, 2001).

## 1.2 Lamotrigina

A Lamotrigina é um fármaco antiepiléptico de segunda geração, não relacionado quimicamente com os antiepilépticos tradicionais até agora existentes. Os seus resultados em monoterapia são bastante positivos, demonstrando boa eficácia e tolerabilidade. Aliás, em 1995 a Lamotrigina, comercializada em Portugal sob o nome de Lamictal<sup>®</sup>, tornou-se o primeiro fármaco em 20 anos a obter licença para ser utilizado em monoterapia.

### 1.2.1 Estrutura química

A Lamotrigina [3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina], sintetizada pela primeira vez em 1978, pertence à família das feniltriazinas e a sua fórmula estrutural está representada na Figura 1.1. A sua fórmula empírica é  $C_9H_7Cl_2N_5$ , tem um peso molecular de 256,09 Da, é quimicamente estável, tem uma solubilidade muito baixa na água (< 1 mg/mL) e o valor de pKa é 5,7 a 25 °C.

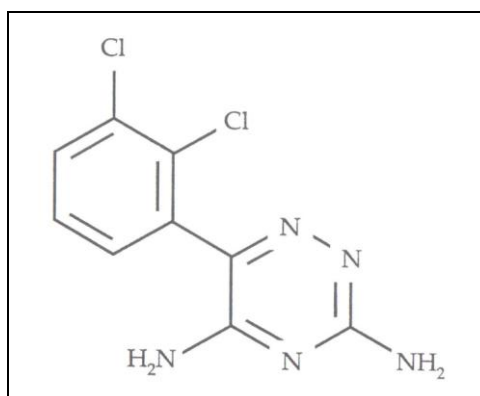


Figura 1.1 – Estrutura da Lamotrigina.

## 1.2.2 Mecanismo de acção

A Lamotrigina bloqueia os canais de sódio dependentes de voltagem, prolongando o seu estado de inactivação e, deste modo, estabilizando a membrana pré-sináptica, prevenindo assim a libertação excessiva dos aminoácidos excitatórios, nomeadamente o glutamato e aspartato (ver Figura 1.2) (LEACH, MARDEN e MILLER, 1986; BRODIE, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; MELDRUM, 1996; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000).

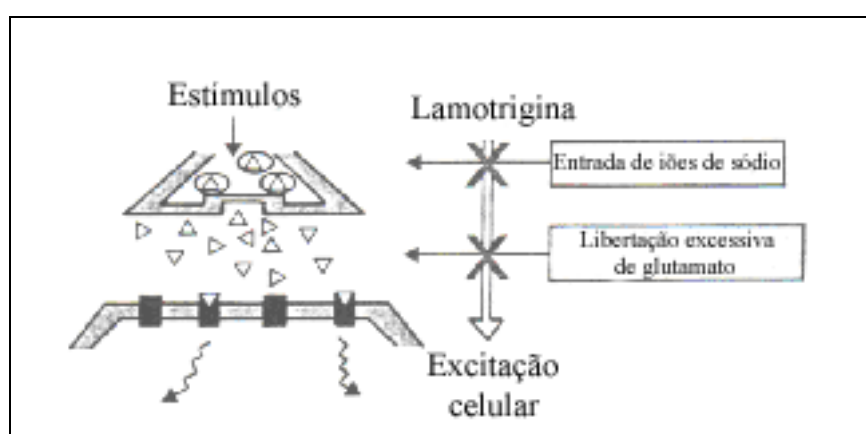


Figura 1.2 – Mecanismo de acção da Lamotrigina na fenda sináptica.\*

Estas suposições foram baseadas em trabalhos científicos, onde se usou a Veratrina (composto que induz a abertura dos canais de  $\text{Na}^+$  pré-sinápticos) como agente despolarizante em fatias de córtex cerebral. Após o tratamento das fatias de córtex com  $10 \mu\text{g/L}$  de Veratrina, verificou-se que a Lamotrigina tinha um efeito inibidor na libertação de glutamato e aspartato ( $\text{ED}_{50} = 5,38 \text{ mg/L}$ ), assim como de GABA ( $\text{ED}_{50} = 11,2 \text{ mg/L}$ ), embora este neurotransmissor seja menos inibido que os aminoácidos excitatórios. No entanto, a Lamotrigina, numa concentração de  $175 \text{ mg/mL}$ , não afectou a libertação dos aminoácidos excitatórios, quando as fatias de cérebro são estimuladas com  $\text{K}^+$ , o que excluiu a hipótese da acção deste fármaco inibir a libertação dos aminoácidos excitatórios, revertendo o gradiente electroquímico transmembranar. Todavia, em todas as experiências efectuadas, a libertação basal dos aminoácidos

\* Adaptado a partir de GOA, ROSS e CHRISP (1993).

excitatórios não foi afectada (LEACH, MARDEN e MILLER, 1986; LEACH, BAXTER e CRITCHLEY, 1991; BRODIE, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999).

Alguns trabalhos realizados em neuroblasto de rato demonstraram que a Lamotrigina inibia a despolarização de alta-frequência repetitiva, controlada pelos canais de Na<sup>+</sup>. Este facto apoiou a ideia de que a Lamotrigina tem efeito directo nos canais de Na<sup>+</sup> dependentes da voltagem (GOA, ROSS e CHRISP, 1993).

*In vitro*, a Lamotrigina não parece ter afinidade para os receptores dopaminérgicos, adrenérgicos, muscarínicos, opiáceos e de adenosina. Contudo, verificou-se que este antiepiléptico se liga aos receptores de 5-HT<sub>3</sub> (FITTON e GOA, 1995). Constatou-se ainda que a Lamotrigina não actua directamente na inibição dos receptores de NMDA (GOA, ROSS e CHRISP, 1993), embora confira protecção contra a isquemia cerebral, visto baixar os níveis de glutamato (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995).

Embora o mecanismo de acção da Lamotrigina seja comparável ao da Carbamazepina e Fenitoína, existem algumas diferenças, visto que estes últimos alteram a libertação basal dos aminoácidos excitatórios e ligam-se a outros canais iónicos, nomeadamente ao canal de cálcio.

### 1.2.3 Perfil farmacocinético

O perfil cinético é uma característica da maior relevância na determinação do valor clínico de um fármaco.

As propriedades cinéticas desejáveis num fármaco antiepiléptico incluem uma elevada biodisponibilidade, baixa ligação às proteínas plasmáticas, penetração eficiente através da barreira hematoencefálica, um tempo de semivida compatível com a administração de 1 ou 2 doses diárias, uma cinética linear e uma biotransformação pouco extensa.

### 1.2.3.1 Biodisponibilidade e absorção

A biodisponibilidade (F) da Lamotrigina é cerca de 98% após a administração oral, indicando que a absorção é praticamente completa. O valor deste parâmetro não é afectado pela ingestão de alimentos, sugerindo, por conseguinte, que a administração do medicamento, antes ou após as refeições, é irrelevante para os resultados que se pretendem obter (PECK, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995).

A cinética da Lamotrigina é linear, quando a dose varia entre 30-450 mg em indivíduos saudáveis e 30-700 mg em doentes com medicação concomitante (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996). Na realidade, tanto a concentração máxima ( $C_{max}$ ) de Lamotrigina como a área sob a curva (AUC) são directamente proporcionais à dose (PECK, 1991; RAMBECK e WOLF, 1993; CARRETERO, 1994).

A concentração máxima ( $C_{max}$ ) de Lamotrigina no plasma ocorre 3 a 4 horas após a sua administração oral. Estes valores para  $C_{max}$  são independentes da dose e da presença de medicação concomitante (PECK, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; GRAM, 1996; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000). Pode ocorrer novo pico plasmático entre 4 a 6 horas após a toma oral do medicamento, parecendo este fenómeno estar relacionado com a existência de um ciclo enterohepático (ver Figura 1.3).

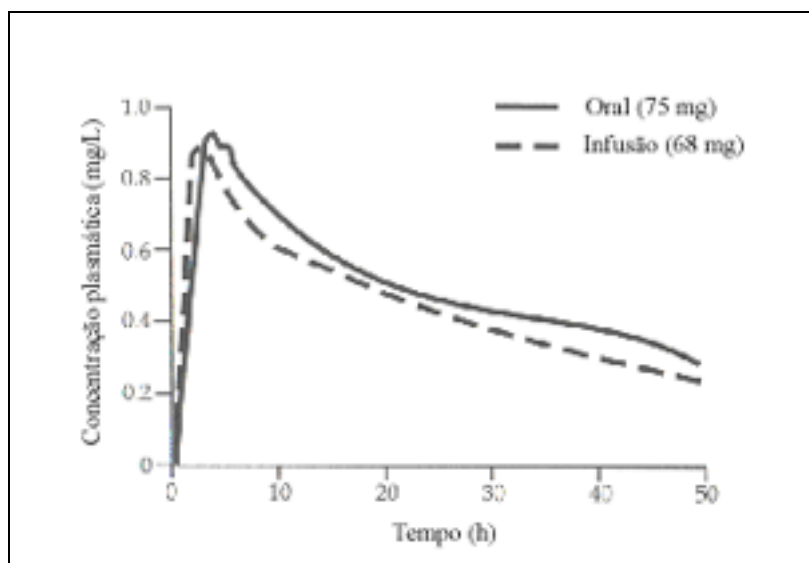


Figura 1.3 – Biodisponibilidade da Lamotrigina.\*

\* Adaptado a partir de THE WELLCOME (1996).



A estabilidade plasmática alcança-se entre o 3º e o 10º dia, dependendo do regime terapêutico (monoterapia *versus* politerapia). Inicialmente sugeriu-se uma margem terapêutica estabelecida entre 1-4 µg/mL. Contudo, ao fim de algum tempo, constatou-se que determinados doentes toleravam concentrações superiores a 10 µg/mL, com benefícios e sem manifestação de toxicidade. Até ao momento ainda não se conseguiu estabelecer um consenso relativamente à sua margem terapêutica, sendo certo que a tendência aponta para valores situados muito acima do que inicialmente se pensava ser os mais apropriados para a utilização clínica deste fármaco (RAMBECK e WOLF, 1993; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000).

### 1.2.3.2 Distribuição e ligação proteica

O volume aparente de distribuição (V/F), determinado a partir da aplicação de um modelo monocompartmental aberto, varia entre 0,9 a 1,3 L/kg. Este valor é independente da dose e não varia significativamente com a administração concomitante de outros antiepilépticos (THE WELLCOME, 1996).

A interacção entre as proteínas plasmáticas e os fármacos é muito frequente e depende das propriedades físico-químicas destes últimos. A albumina é a proteína com maior capacidade de fixação, sendo que os ácidos fracos se unem quase exclusivamente a esta proteína. Estabelece-se, deste modo, um equilíbrio entre as fracções de fármaco fixo e livre no plasma. Este parâmetro é importante porque a ligação do fármaco às proteínas pode influenciar a sua difusão nos tecidos onde se encontram os receptores, influenciando assim a resposta do medicamento (FLÓREZ e ARMIJO, 1992; BERNUS *et al.*, 1997). A união dos fármacos às proteínas plasmáticas pode variar por razões diversas, entre as quais se destaca a competição de outras substâncias (endógenas e/ou exógenas) pelos locais de fixação (FLÓREZ e ARMIJO, 1992).

A fracção de Lamotrigina ligada às proteínas plasmáticas ronda os 55%, para concentrações similares às consideradas apropriadas para a sua utilização terapêutica. Estudos realizados parecem suportar a hipótese de que, com estes valores, a Lamotrigina não desloca nem é deslocada das proteínas por outros antiepilépticos e

acaba por não influenciar as concentrações terapêuticas de fármacos como o Fenobarbital, o Ácido Valpróico e a Fenitoína (PECK, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; RAMBECK e WOLF, 1993; FITTON e GOA, 1995; GRAM, 1996; THE WELLCOME, 1996; BERNUS *et al.*, 1997; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000).

### 1.2.3.3 Metabolismo e excreção

A Lamotrigina é extensa e lentamente metabolizada a nível hepático, principalmente por via da N-glucuronidação. Esta via parece ser o passo limitante na eliminação deste fármaco (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; PERUCCA, 1996; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000).

A glucuronidação é uma reacção de conjugação (Fase II). A fracção solúvel do fígado contém enzimas que catalisam a síntese do ácido uridindifosfato glucurónico (UDPGA) a partir da glicose, ácido este que serve como doador para vários aceitadores. A transferência enzimática da molécula de UDPGA pode ocorrer com os compostos que contenham na sua estrutura os grupos OH, NH<sub>2</sub>, COOH e SH (FLÓREZ e ARMIJO, 1992).

Em geral, os ácidos glucurónicos são mais solúveis na água do que os compostos dos quais provêm, sendo mais facilmente excretados pela urina ou pela bÍlis. Embora esta seja uma via da maior importância na eliminação da Lamotrigina, a toxicidade da molécula pode aumentar caso se formem ácidos glucurónicos electrofílicos, os quais se ligam covalentemente ao ADN ou ARN, produzindo respostas imunológicas ou processos de teratogénese e/ou carcinogénese (FLÓREZ e ARMIJO, 1992).

Em voluntários sãos, cerca 70% de uma dose única de Lamotrigina foi recuperada na urina, 144 horas após a administração do fármaco: 10% correspondia a Lamotrigina inalterada, enquanto que os restantes 90% se referiam ao metabolito principal, o ácido N-2-glucurónico. Este metabolito tem uma elevada depuração renal, limitada pela taxa de formação (PECK, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000). Pode surgir um outro metabolito, o ácido N-5-glucurónico, o qual não é clivado pela enzima  $\beta$ -glucuronidase.

Sabe-se que o conjugado da Lamotrigina, o ácido N-2-glucurónico, uma vez formado, é rapidamente depurado através do rim, pelo que não é detectável no plasma. Após a administração oral de uma dose de Lamotrigina a voluntários sãos, os valores de *clearance* conseguidos situavam-se no intervalo de 0,021 a 0,035 L/h/kg, embora tenham sido encontrados valores mais elevados para doentes epiléticos, que tomavam antiepiléticos indutores do citocromo P<sub>450</sub> (PECK, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995). Porém, a velocidade de eliminação da Lamotrigina pode variar consoante a medicação concomitante, como se verá no capítulo 1.2.6.3.

#### 1.2.3.4 Tempo de semivida

O tempo de semivida ( $t_{1/2}$ ) de eliminação da Lamotrigina, verificado em voluntários sãos, é de, aproximadamente, 29 horas (PECK, 1991; BRODIE, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; GRAM, 1996). Este valor pode variar de um indivíduo para o outro, devido às diferentes taxas de depuração metabólica, embora as diferenças não sejam significativas. A prolongada semivida da Lamotrigina permite a sua administração apenas uma a duas vezes ao dia (MILLER *et al.*, 1986).

#### 1.2.3.5 Auto-indução

Quando um fármaco consegue acelerar o seu próprio metabolismo, fá-lo através de um processo que se denomina auto-indução.

Após a administração repetida de uma dose de Lamotrigina, verificou-se que o tempo de semivida baixou cerca de 25%, enquanto que a *clearance* aumentou aproximadamente 35%, sugerindo a existência de um mecanismo de auto-indução, não parecendo ter, no entanto, implicações com significado clínico (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; GRAM, 1996; THE WELLCOME, 1996; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999). Importa no entanto salientar que, até ao momento, não existe unanimidade no que diz respeito à

possibilidade de existir ou não auto-indução da Lamotrigina, facto que se fica a dever à existência de informação contraditória sobre a matéria (PECK, 1991).

### **1.2.3.6 Factores que influenciam a cinética da Lamotrigina**

#### **1.2.3.6.1 Idade**

A idade é uma variável fisiológica da maior importância em farmacoterapia. Por motivos que se prendem com as alterações anatomofisiológicas próprias do processo evolutivo sofrido desde a nascença até à terceira idade, a nossa atenção incide precisamente nesses dois extremos que são a pediatria e a geriatria.

O metabolismo e excreção de fármacos nas crianças processa-se, regra geral, mais rapidamente do que nos adultos. No entanto, devido à escassez de resultados obtidos em crianças, existem ainda poucas conclusões disponíveis.

Foram realizados dois estudos cinéticos distintos, que incluíam um primeiro grupo que continha crianças dos 10 meses até aos 5 anos e um segundo grupo onde se encontravam crianças dos 5 aos 11 anos (THE WELLCOME, 1996). Em ambos, o tempo em que se atinge a concentração máxima do fármaco no plasma é semelhante ao dos adultos, sensivelmente 2 a 3 horas. O volume aparente de distribuição é maior no primeiro grupo (1,8 a 2,3 L/kg), o que poderá estar relacionado com especificidades anatomofisiológicas próprias desse grupo etário. O tempo de semivida e a *clearance* revelaram-se semelhantes em ambos os grupos, tendo apenas ocorrido um decréscimo de aproximadamente 10 horas nas crianças que tomavam concomitantemente antiepilépticos indutores enzimáticos (GOA, ROSS e CHRISP, 1993).

Por motivos opostos aos apontados à população pediátrica, na geriatria o envelhecimento orgânico favorece o aparecimento de comportamentos cinéticos e dinâmicos distintos dos observados na população adulta. Ocorrem com maior frequência reacções adversas em idosos, porque surgem alterações no metabolismo e excreção dos medicamentos. Além disso, a composição do organismo vai-se alterando

e, naturalmente, o processo de distribuição dos medicamentos também sofre com isso (GOA, ROSS e CHRISP, 1993).

Como foi descrito anteriormente, a glucuronidação é o processo pelo qual se faz a metabolização da Lamotrigina. Todavia, com o envelhecimento, o tamanho do fígado tende a diminuir, assim como a circulação sanguínea hepática. Estes factores podem alterar a cinética de eliminação da Lamotrigina, provocando um declínio na eliminação do fármaco com base neste mecanismo (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995).

Um estudo comparativo da cinética da Lamotrigina, entre um grupo de indivíduos com idades compreendidas entre os 26 e 38 anos e um outro com idades que mediavam os 65 a 76 anos, após a toma de uma dose única de 150 mg de Lamotrigina, comprovou-se que a *clearance* do grupo mais envelhecido se apresentou reduzida em cerca de 37%, tendo a  $C_{max}$  da Lamotrigina aumentado 27% (GOA, ROSS e CHRISP, 1993). A recolha de urina demonstrou que a percentagem de Lamotrigina recuperada inalterada é mais elevada na população mais idosa, apoiando a hipótese de que o processo de glucuronidação se encontra diminuído.

#### 1.2.3.6.2 *Insuficiências orgânicas*

Como o metabolismo da Lamotrigina se efectua no fígado, é necessário que todos os indivíduos que tomem este fármaco tenham a sua função hepática em boas condições, para que a resposta obtida seja a esperada. Um grupo especial é o que sofre a síndrome de Gilbert, caracterizada por uma desordem no metabolismo das bilirrubinas e na actividade da enzima Uridina Difosfato Glucuronil Transferase (UDGT). Neste grupo, o tempo de semivida é prolongado cerca de 35%, quando comparado ao valor normal, pelo facto da *clearance* ser menos eficiente.

Estudos realizados em indivíduos com insuficiência renal permitiram constatar que, neste grupo particular, a *clearance* baixava com o conseqüente aumento da semivida da Lamotrigina, apesar de clinicamente este facto não dever ser encarado com excessiva preocupação uma vez que a eliminação depende fundamentalmente do fígado e não dos rins. Ainda no mesmo âmbito, outro aspecto observado diz respeito ao metabolito

glucunorido: este metabolito aumentou a sua concentração máxima para cerca de 4 vezes mais, embora este dado não seja preocupante, dado o seu carácter inactivo. Porém, é necessário ter uma vigilância constante, uma vez que a sua acumulação poderá, eventualmente, trazer outras consequências (THE WELLCOME, 1996).

#### 1.2.3.6.3 Gravidez

A Lamotrigina é um potente inibidor da dihidrofolato reductase, havendo um risco de provocar malformações no feto, caso a mãe receba tratamento durante a gravidez.

Presentemente, ainda não há qualquer estudo em humanos relativo a esta temática, embora experiências levadas a cabo em animais, nos quais se aplicavam doses que seriam tóxicas ao homem, não tenham revelado efeitos teratogénicos.

A única ilação que se pode tirar é que este fármaco não deve ser utilizado durante a gravidez, enquanto não hajam provas concretas e bem fundamentadas relativamente à sua inocuidade.

### 1.2.4 Eficácia clínica da Lamotrigina

O controlo da crise epiléptica é o objectivo terapêutico mais desejado no tratamento de um indivíduo com epilepsia. A verdade é que os ensaios clínicos de um novo fármaco antiepiléptico são muito rigorosos, dado que estes devem ser de eficácia igual ou superior aos já existentes e comercializados (CARRETERO, 1994).

O primeiro passo na validação da eficácia clínica do novo fármaco antiepiléptico é introduzi-lo no tratamento de um indivíduo com crises refractárias e com uma politerapia sem sucesso. Se o novo fármaco antiepiléptico exhibir eficácia nestes casos, poderá ser testado em monoterapia (FITTON e GOA, 1995). Visto que as crises de difícil tratamento são, normalmente, parciais ou generalizadas complexas, é bom que o novo fármaco antiepiléptico demonstre eficácia no seu tratamento (FITTON e GOA, 1995). Ao longo deste tópico estão descritas várias comparações da eficácia da Lamotrigina com

outros fármacos antiepilépticos, nomeadamente a Carbamazepina e a Fenitoína. A razão da sua escolha reside no facto de serem dois fármacos de primeira linha, bastante usados nos tratamentos das várias crises e de eficácia comprovada (THE WELLCOME, 1996).

#### 1.2.4.1 A Lamotrigina em monoterapia

Um estudo de 48 semanas, onde a Lamotrigina foi comparada à Carbamazepina, envolvendo 260 adultos com epilepsia diagnosticada recentemente e com crises parciais e/ou primárias generalizadas tónico-clónicas, permitiu concluir que não ocorreram diferenças significativas entre os dois fármacos, no que diz respeito ao controlo das crises epiléticas (sejam elas crises parciais, com ou sem generalização secundária, ou crises primárias generalizadas tónico-clónicas). A proporção de doentes que se manteve sem crises epiléticas durante 24 semanas foi praticamente igual para os dois fármacos: nas crises no geral, 39% para a Lamotrigina e 38% para a CBZ; nas crises parciais, 35% para a Lamotrigina e 37% para a CBZ; finalmente, nas crises generalizadas tónico-clónicas, 47% em ambas (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994; BRODIE, RICHENS e YUEN, 1995; FITTON e GOA, 1995; MESSENHEIMER, 1995; THE WELLCOME, 1996).

As dosagens dos dois fármacos foram sendo escalonadas durante quatro semanas e posteriormente ajustaram-se de acordo com a eficácia, efeitos adversos e concentrações plasmáticas (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994; BRODIE, RICHENS e YUEN, 1995; FITTON e GOA, 1995; MESSENHEIMER, 1995; THE WELLCOME, 1996). A dose de Lamotrigina utilizada foi de 100 a 300 mg/dia, enquanto que de Carbamazepina se aplicaram 300 a 1400 mg/dia.

Os doentes que fizeram tratamento com Lamotrigina aceitaram com facilidade este fármaco e poderiam continuar o tratamento com melhor eficácia do que os que tomaram Carbamazepina (65% LTG *versus* 51% CBZ). A quantidade de doentes que abandonou o tratamento devido a efeitos adversos foi praticamente duas vezes superior com a Carbamazepina do que com a Lamotrigina (15% LTG *versus* 27% CBZ). Perante os resultados obtidos, é lícito concluir que tanto a Lamotrigina como a Carbamazepina demonstram eficácia clínica no combate às crises parciais e/ou generalizadas tónico-

clónicas, em doentes com epilepsia refractária, sendo, ainda assim, melhor tolerada a Lamotrigina (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994; BRODIE, RICHENS e YUEN, 1995; FITTON e GOA, 1995; MESSENHEIMER, 1995; THE WELLCOME, 1996).

Um estudo similar ao da Carbamazepina foi feito para a Fenitoína. Neste ensaio foram incluídos 181 adultos, que durante 48 semanas tomaram 150 mg/dia de Lamotrigina e 300 mg/dia de Fenitoína (STEINER *et al.*, 1994; THE WELLCOME, 1996). A eficácia dos dois fármacos antiepilépticos foi muito semelhante nas crises no geral (43% LTG *versus* 36% PHE) e nas generalizadas idiopáticas (44% LTG *versus* 34% PHE). A Fenitoína demonstrou, no entanto, mais efeitos secundários a nível do SNC, designadamente sedação, astenia e ataxia. Tal como com a Carbamazepina, conclui-se que a Lamotrigina é melhor tolerada que a Fenitoína (STEINER *et al.*, 1994; MESSENHEIMER, 1995; THE WELLCOME, 1996).

De acordo com estes trabalhos, a Lamotrigina provou que, em regime de monoterapia, é eficaz em adultos com epilepsia diagnosticada recentemente e refractária, tendo demonstrado melhor tolerabilidade do que a Carbamazepina e a Fenitoína (MULLENS, 1998). Aliás, a sua adição na terapia já estipulada de alguns doentes levou, com sucesso, à estabilização das crises que até à data não se encontravam controladas, permitindo inclusive a retirada do fármaco inicialmente prescrito, tal como é descrito no parágrafo seguinte (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994).

Para o comprovar, existe o estudo de FAUGHT e colaboradores de 1992, envolvendo 69 pacientes sem crises especificadas e que receberam 300 a 700 mg/dia de Lamotrigina, em regime de monoterapia, após pararem a anterior medicação: 50 doentes (72%) estabilizaram as crises, 8 pacientes admitiram a Lamotrigina no seu tratamento e apenas 11 abandonaram este fármaco (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994).

Estes resultados de Lamotrigina em monoterapia estão de acordo com outros trabalhos publicados, nomeadamente (MESSENHEIMER, 1995), que reportou 6 estudos cruzados, onde os doentes receberam tratamento durante 8 a 14 semanas, com dosagens de 150 a 400 mg/dia; 5 dos estudos demonstraram redução na frequência das crises, quando comparadas com o placebo.



A verdade é que actualmente, nos Estados Unidos, a Lamotrigina é indicada, em regime de monoterapia, para adultos com crises parciais, sendo esta uma inegável prova da sua eficácia conhecendo-se como se conhece o grau de exigência da FDA (Food and Drug Administration).

#### 1.2.4.2 A Lamotrigina em politerapia

Este tipo de ensaio clínico é executado em doentes cujo controlo da epilepsia não é conseguido com os fármacos antiepilépticos tradicionais. Nestes ensaios, todos os indivíduos têm epilepsia de prognóstico muito pobre ou desconhecido, que os acompanha há muito tempo (mais de 20 anos) e com crises epiléticas difíceis de controlar (THE WELLCOME, 1996).

Um total de 8 testes duplamente-cegos, cruzados e comparados com placebo, foram realizados em doentes que incluíam na sua terapia um a quatro fármacos antiepilépticos e que tinham em comum crises parciais refractárias. A fase de tratamento tinha a duração de oito a dezasseis semanas, seguidas de períodos de descanso de quatro a seis semanas, nos quais era retirada Lamotrigina da terapia. Estes estudos foram adoptados por vários grupos de cientistas em diferentes zonas do globo e, ainda hoje, servem de referência, sendo conhecidos pelos nomes das localidades onde foram executados os ensaios, designadamente Cardiff, Chalfont e Bordeaux (RICHENS e YUEN, 1991; YUEN, 1994).

Em todos estes trabalhos, a dose diária de Lamotrigina administrada variou entre 50 a 400 mg, obtendo-se uma concentração plasmática de aproximadamente 1,47 µg/mL (YUEN, 1994). Dos vários trabalhos atrás descritos, foi possível concluir que a associação da Lamotrigina no tratamento reduziu, em 7 a 61% dos indivíduos, a frequência das crises epiléticas para 50% (esta diferença entre 7 e 61 está relacionada com as diferentes populações utilizadas nos vários estudos). Ficou comprovado que a Lamotrigina demonstrou eficácia no tratamento de crises parciais refractárias que, de outra forma, não conseguiam ser controladas (RICHENS e YUEN, 1991; SMITH *et al.*, 1991a; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994; FITTON e GOA, 1995). A Lamotrigina

também reduziu significativamente as crises generalizadas tónico-clónicas nos trabalhos Cardiff, Liverpool e Chalfont (YUEN, 1994).

Alguns autores defendem a ideia de que a adição de Lamotrigina ao tratamento de doentes com crises primárias e secundárias generalizadas tónico-clónicas reduz para 50% as suas crises epiléticas (42% num estudo com 677 doentes adultos), podendo mesmo ficar sem crises (14% no mesmo estudo). Perante estes dados, parece ser que a Lamotrigina é mais eficaz nas crises generalizadas (SANDER *et al.*, 1991; STEWART, HUGHES e REYNOLDS, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994; FITTON e GOA, 1995), ainda que também o seja, em menor grau, nas crises parciais (SCHAPEL *et al.*, 1991a). Aliás, segundo SANDER e colaboradores de 1991, esta maior eficácia foi também demonstrada em 150 doentes, onde a maioria tinha crises parciais, 21% (32 doentes) obtiveram redução de 50% nas crises ao tomarem Lamotrigina, enquanto que em 23 adultos com crises generalizadas refractárias (desde ausências, crises mioclónicas, atónicas, tónico-clónicas e tónicas), 48% (11) tiveram redução em 50% nas suas crises.

Alguns estudos efectuados para analisar se a Lamotrigina, quando administrada de forma crónica, apresentava alterações no seu perfil de eficácia e/ou toxicidade, vieram comprovar que nada disso acontece (PISANI *et al.*, 1991; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996).

Após a reunião dos vários trabalhos publicados até à data, verificou-se que a Lamotrigina é eficaz no tratamento das crises parciais simples e complexas, assim como nas primárias e secundárias generalizadas tónico-clónicas (MILLER *et al.*, 1986; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995). A Lamotrigina demonstrou igual eficácia em doentes com epilepsias idiopáticas, incluindo as ausências, e em indivíduos com síndrome Lennox-Gastaut (OLLER, RUSSI e OLLER DAURELLA, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; YUEN, 1994; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996). A maioria dos doentes que faz tratamento com Lamotrigina sente-se muito bem psicologicamente, o que relaciona este fármaco com possíveis efeitos psicotrópicos (SMITH *et al.*, 1991b; FITTON e GOA, 1995).

Após uma breve análise do subcapítulo 1.2.4.1 e do presente, conclui-se que em grande parte dos doentes com epilepsia refractária e de difícil controlo com a

medicação existente, a terapia pode ser convertida e mantida em regime de monoterapia com Lamotrigina.

#### 1.2.4.3 Utilização de Lamotrigina nas crianças

A epilepsia é uma doença muito difícil de tratar nas crianças, mais ainda do que nos adultos, e as crises mal controladas podem comprometer o intelecto dos jovens que não sejam convenientemente acompanhados (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; DULAC, 1995).

Em estudos não comparativos, a associação da Lamotrigina ( $\leq 15$  mg/kg/dia; 400 mg dia) a uma terapia já existente, demonstrou eficácia em crianças e adolescentes com crises múltiplas e refractárias. Neste estudo, dos 55 pacientes, aproximadamente 38% tiveram redução em 50% na frequência das crises e 7% ficaram sem crises após três meses de tratamento (YUEN e RAFTER, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995).

As crises generalizadas, incluindo as ausências atípicas e típicas, as crises atónicas e tónicas e a síndrome de Lennox-Gastaut foram as que mais sucesso obtiveram no tratamento com Lamotrigina (GOA, ROSS e CHRISP, 1993). Estes dados foram apoiados por estudos fotoconvulsivos, onde se observou que a Lamotrigina diminuía a frequência dos picos e ondas no electroencefalograma (MESSENHEIMER, 1995). Alguns doentes demonstraram, também, evolução no comportamento e aprendizagem (RICHENS e YUEN, 1991; YUEN e RAFTER, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995). Aliás, a 12 crianças com epilepsia incontrolável, que tornava as suas vidas incapazes e inconstantes (devido às hospitalizações permanentes), adicionou-se Lamotrigina (8 a 22 mg/kg/dia) à sua terapia; sete das crianças permaneceram com este esquema terapêutico durante 37 meses e 4 destas ficaram com as suas crises controladas e converteram-se para regime de monoterapia com Lamotrigina (MIMS *et al.*, 1992).

Estes resultados são apoiados pelo estudo levado a cabo por SCHLUMBERGER e colaboradores de 1994, onde 38% das 120 crianças reduziu em 50% as suas crises. De um total de 9 doentes com ausências, 3 revelaram controlo nas crises e 4 reduziram em

50% as suas crises. Três das 10 crianças com a síndrome Lennox-Gastaut ficaram completamente curadas ou reduziram em 50% as suas crises.

A Lamotrigina parece ter maior eficácia junto das crises parciais complexas, atípicas, ausências típicas e ausências mioclónicas (OLLER, RUSSI e OLLER DAURELLA, 1991; YUEN e RAFTER, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; SCHLUMBERGER *et al.*, 1994; FITTON e GOA, 1995). As crianças com lesões cerebrais, síndrome Lennox-Gastaut e espasmos infantis reagem muito bem ao tratamento com Lamotrigina. Inclusivamente, parece que este fármaco tem efeito positivo na irritabilidade, diminuindo-a, e nos sintomas autistas (OLLER, RUSSI e OLLER DAURELLA, 1991; YUEN e RAFTER, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; SCHLUMBERGER *et al.*, 1994; FITTON e GOA, 1995).

### 1.2.5 Segurança e tolerabilidade

Quando se inicia um tratamento com um determinado fármaco é necessário estar atento a todos os sinais e sintomas que podem eventualmente ocorrer, isto porque, apesar do medicamento ter sido testado, as diferenças interindividuais são muitas e as interacções e reacções ao fármaco podem surgir. A segurança surge sempre como palavra de ordem quando um novo medicamento entra no mercado.

A tolerabilidade é um parâmetro de difícil avaliação, visto que é frequente a politerapia no controlo da epilepsia. No entanto, os trabalhos publicados até à data já têm por base relatos de doentes que receberam tratamento com este fármaco, tanto em politerapia como em monoterapia (FITTON e GOA, 1995).

A Lamotrigina possui os requisitos necessários para que seja considerada um potencial fármaco antiepiléptico para uso em regime de monoterapia. No entanto, tal como todos os fármacos, a Lamotrigina tem alguns efeitos adversos. Para um estudo mais fidedigno dos efeitos adversos, utiliza-se como comparação fármacos de primeira linha, como a Carbamazepina e a Fenitoína. Além do mais, esta comparação é viável, visto que estes três fármacos actuam sobre o mesmo tipo de crises epilépticas, parciais e/ou generalizadas tónico-clónicas (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; STEINER *et al.*, 1994; BRODIE, RICHENS e YUEN, 1995; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996;

MATSUO, 1999). Numa primeira análise e de acordo com estudos comparativos dos diferentes fármacos em regime de monoterapia, a Lamotrigina parece ser o fármaco antiepiléptico melhor tolerado, no que diz respeito aos efeitos do SNC. Astenia, tonturas e sonolência ocorrem menos nos pacientes que tomam Lamotrigina, do que nos que fazem tratamento com os outros dois fármacos antiepilépticos (Tabela 1.5).

Tabela 1.5 – Tolerabilidade da Lamotrigina em regime de monoterapia, indicando a incidência dos efeitos adversos em pacientes com epilepsia diagnosticada recentemente ou epilepsia refractária.\*

Efeitos adversos	Incidência (% de pacientes)		
	Lamotrigina (n = 443)	Carbamazepina (n = 246)	Fenitoína (n = 95)
Cefaleia	20	17	19
Astenia †	16	24	29
Rash	12	14	9
Náusea	10	10	4
Tontura †	8	14	13
Sonolência †	8	20	28
Insónia	6	2	3
Gripe	5	4	3
Rinite	4	4	2
Vômito	4	4	1

Outros sintomas poderão aparecer, nomeadamente diplopia, visão turva, irritabilidade e confusão, assim como outros sintomas não relacionados com o SNC, como rinite, faringite, distúrbios gastrointestinais e exantema ou *rash* cutâneo (Tabela 1.6) (BETTS *et al.*, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; BRODIE, RICHENS e YUEN, 1995; FITTON e GOA, 1995; MESSENHEIMER, 1995; THE WELLCOME, 1996; MATSUO, 1999; CASAS-FERNÁNDEZ, 2000).

Tabela 1.6 – Estudo de tolerabilidade da Lamotrigina, onde cerca 10% dos pacientes reportaram efeitos adversos em ensaios duplamente-cegos.\*

\* Adaptado a partir de FITTON e GOA (1995).

† Efeito que, estatisticamente, é menos comum ocorrer durante a terapia com Lamotrigina, do que com Carbamazepina e/ou Fenitoína.

Efeitos adversos	Incidência (% de pacientes)	
	Lamotrigina (n = 344)	Placebo (n = 112)
Cansaço	50 <sup>†</sup>	18
Cefaleia	37	36
Diplopia	33 <sup>†</sup>	11
Ataxia	24 <sup>†</sup>	5
Visão turva	23 <sup>†</sup>	9
Náusea	22	15
Rinite	17	19
Sonolência	14 <sup>†</sup>	7
Faringite	13	12
Coordenação anormal	12	6
Gripe	11	9
Tosse	10	8
<i>Rash</i>	10	5
Dispepsia	10	5
Vômito	10	9

Os *rashes* são uma reacção adversa que conduzem, frequentemente, à suspensão da terapêutica. O exantema cutâneo tem aparência maculopapular e aparece, normalmente, 2 a 4 semanas após o início do tratamento (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; INFARMED, 1999; MATSUO, 1999). Os *rashes* começam por ser um simples exantema moniliforme, progredindo, se não tratado de forma adequada, para a Síndrome de Steven-Jonhson (SSJ), descamação das membranas mucosas, culminando, em certos casos, na Necrose Epidérmica Tóxica (NET), que pode aparecer isoladamente ou inserir-se num quadro clínico com o envolvimento de vários órgãos, designada Síndrome de Hipersensibilidade aos Antiepilépticos (SHA), uma reacção de hipersensibilidade sistémica rara, mas potencialmente mortal (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; SCHAUB *et al.*, 1994; FITTON e GOA, 1995; INFARMED, 1999; MATSUO, 1999).

Os factores de risco que parecem aumentar a incidência do *rash* cutâneo são: idade (visto estudos científicos revelarem que nas crianças os *rashes* graves são três vezes mais frequentes) (MATSUO, 1999), doses iniciais elevadas, escalonamento demasiado

\* Adaptado a partir de MATSUO (1999).

† Estatisticamente relevante em relação ao placebo.

rápido da terapêutica inicial, associação ao Ácido Valpróico, embora segundo FAUGHT e colaboradores de 1999, este fármaco em nada interfira com o aparecimento do *rash* cutâneo e, possivelmente, antecedentes de reacção alérgica ou cutânea a outros antiepilépticos (BETTS *et al.*, 1991; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; BRODIE, RICHENS e YUEN, 1995; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996; INFARMED, 1999; MATSUO, 1999). Concluiu-se que, caso o doente faça politerapia, o risco é muito menor se o tratamento for iniciado com doses baixas, que serão aumentadas de forma faseada e gradual (THE WELLCOME, 1996).

A Lamotrigina é um inibidor fraco da enzima dihidrofolato reductase, surgindo a hipótese de interferir no metabolismo do folato quando o tratamento é longo. De acordo com ensaios clínicos realizados em doentes que tomam Lamotrigina há pelo menos 5 anos, verificou-se que não ocorreram alterações nas concentrações da hemoglobina, o volume dos eritrócitos não variou e as concentrações de folatos nas células sanguíneas manteve-se igual (FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996). A anemia megaloblástica, patologia associada à inibição da dihidrofolato reductase, pode aparecer, embora existam muito poucos registos (FITTON e GOA, 1995). Foi reportado um caso de um indivíduo heterozigótico para a  $\beta$  talassémia, que ao tomar Lamotrigina, a sua hematopoesse ficou inibida (pois a Lamotrigina acabou por interferir com o metabolismo dos folatos). Este e outros casos descritos deixam subjacente que os doentes com problemas hematológicos, ao iniciarem tratamento com Lamotrigina, devem fazer periodicamente análises para controlo (BETTS *et al.*, 1991; FITTON e GOA, 1995; HAEDICKE, ANGRICK e HAUSWALDT, 1995).

Não há evidências de que Lamotrigina origine dependência física, altere o peso corporal e os parâmetros hematológicos, bioquímicos, urinários e hepáticos (BINNIE *et al.*, 1989; BETTS *et al.*, 1991; FITTON e GOA, 1995; MESSENHEIMER, 1995; THE WELLCOME, 1996). Foi ainda provado que tem efeitos mínimos no SNC (FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996). A ausência de efeitos no crescimento, sinais vitais e parâmetros de laboratório, suportam a ideia de que a Lamotrigina não afecta o sistema endócrino. Os sinais vitais (pressão sanguínea sistólica e diastólica) não apresentam qualquer alteração ao longo do tempo de administração de Lamotrigina (THE WELLCOME, 1996).

Por último, até à data não foram relatadas mortes directamente imputadas à administração da Lamotrigina em doentes epiléticos, sendo que os três casos mortais por coagulação intravascular e deficiência no funcionamento de vários órgãos foram atribuídos à crise epilética e não à acção do fármaco (SCHAUB *et al.*, 1994; FITTON e GOA, 1995).

## **1.2.6 Interação com outros antiepiléticos**

Dado que a Lamotrigina é frequentemente utilizada como adjuvante na terapia convencional, torna-se necessário avaliar o potencial de interacção entre os diferentes antiepiléticos. Na realidade, a Lamotrigina não parece afectar a eliminação da maioria dos antiepiléticos, com a excepção do Epóxido – 10,11 – Carbamazepina (CBZ-E), o principal metabolito da Carbamazepina.

### **1.2.6.1 Efeito de outros antiepiléticos na farmacocinética da Lamotrigina**

Embora a Lamotrigina não altere a eliminação de outros antiepiléticos, a situação inversa ocorre com muita frequência. O metabolismo da Lamotrigina é alterado por antiepiléticos reconhecidamente indutores enzimáticos como a Fenitoína, a Carbamazepina e o Fenobarbital. Como se observa na Figura 1.4, o tempo de semivida da Lamotrigina baixou para cerca de 15 horas, quando co-administrada com Fenitoína e Carbamazepina, enquanto que em voluntários sãos, em regime de monoterapia com Lamotrigina, este valor era de, aproximadamente, 25 a 30 horas (BRODIE, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; KÄLVIÄINEN, KERÄNEN e RIEKKINEN, 1993; RAMBECK e WOLF, 1993; FITTON e GOA, 1995).



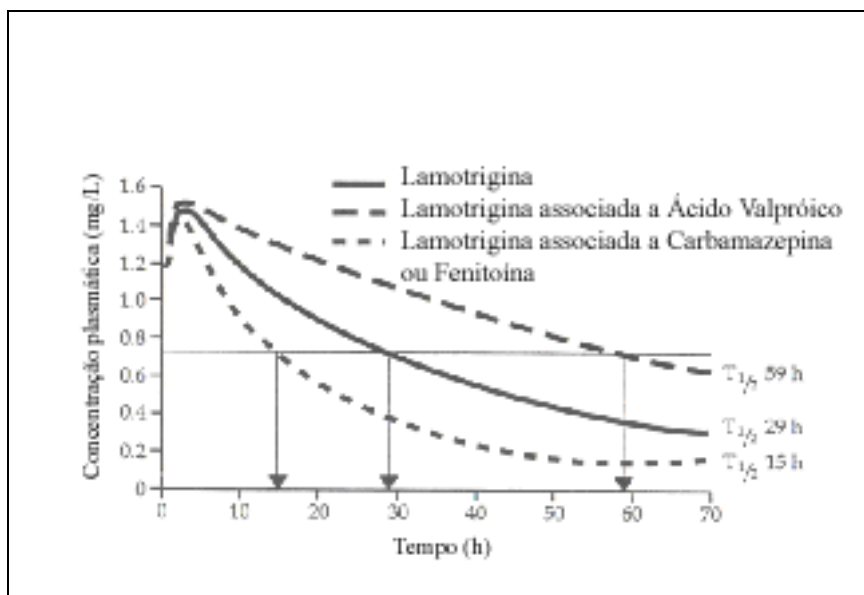


Figura 1.4 – Variação do tempo de semivida da Lamotrigina com a administração concomitante de antiepilépticos indutores enzimáticos.\*

Em contraste, a administração concomitante de Ácido Valpróico, inibidor das enzimas microsossomais hepáticas, prolonga o tempo de semivida da Lamotrigina para quase 60 horas (BRODIE, 1992; YAU *et al.*, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; KÄLVIÄINEN, KERÄNEN e RIEKKINEN, 1993; RAMBECK e WOLF, 1993; FITTON e GOA, 1995). A justificação para este facto está relacionada com o mecanismo de metabolização: possivelmente os dois fármacos competem pelo mesmo local de glucuronidação hepática (FITTON e GOA, 1995). De acordo com estes resultados, o reajuste posológico da Lamotrigina é uma necessidade sempre e quando se proceda à sua associação com o Ácido Valpróico (THE WELLCOME, 1996; FAUGHT *et al.*, 1999).

### 1.2.6.2 Efeito da Lamotrigina na farmacocinética de outros antiepilépticos

A Lamotrigina parece não afectar o sistema hepático das oxídases e, assim sendo, não altera a eliminação dos fármacos que são metabolizados por esta via. Desta forma, antiepilépticos como Fenitoína, Carbamazepina, Fenobarbital e Ácido Valpróico não

\* Adaptado a partir de THE WELLCOME (1996).

são afectados pelo concomitante uso da Lamotrigina (ANDERSON *et al.*, 1992; BRODIE, 1992; GOA, ROSS e CHRISP, 1993; RAMBECK e WOLF, 1993; FITTON e GOA, 1995; GRAM, 1996).

Não obstante, este fármaco pode aumentar a concentração do CBZ-E (em alguns casos, cerca 45%) (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; KÄLVIÄINEN, KERÄNEN e RIEKKINEN, 1993; RAMBECK e WOLF, 1993; FITTON e GOA, 1995). Este efeito foi observado quando a Lamotrigina foi administrada a doentes que se encontravam a receber tratamento com Carbamazepina. O surgimento de sintomas como enxaquecas, vertigens e náuseas, que sugerem uma disfunção cerebral e podem resultar da acumulação crescente de CBZ-E (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; KÄLVIÄINEN, KERÄNEN e RIEKKINEN, 1993; FITTON e GOA, 1995). Todavia, esta questão é ambígua e as opiniões divergem, dado que há quem corrobore a ideia de que estes efeitos não dizem respeito à acção cinética dos dois fármacos, mas sim a uma interacção dinâmica (RAMBECK e WOLF, 1993; FITTON e GOA, 1995). Existem mesmo outros estudos que indicam que a Lamotrigina não tem qualquer efeito sobre o CBZ-E (SCHAPEL *et al.*, 1991b). Seja como for, por mera medida de precaução, aconselha-se a administração de doses mais reduzida de Lamotrigina a doentes em politerapia com Carbamazepina (com eventual controlo dos níveis de CBZ e CBZ-E caso isso seja exequível).

Pelas razões atrás apontadas, o tratamento com Lamotrigina deve ser iniciado com concentrações baixas, que irão aumentando gradualmente ao longo de 4 semanas, evitando o risco de aparecimento de *rash* cutâneo (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996), e a sua exclusão de um programa terapêutico também deverá efectuar-se de forma gradual. De acordo com as suas propriedades cinéticas, a Lamotrigina pode ser tomada apenas uma a duas vezes ao dia. Nas Tabelas 1.3-1.4 ficam registadas algumas sugestões de tratamento com os diferentes fármacos, em adultos e crianças com idade superior e inferior a 12 anos.

Tabela 1.7 – Dosagem de Lamictal<sup>®</sup>: adultos e crianças com mais de 12 anos.\*

Esquema terapêutico	Dose inicial		Dose diária
	1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> semanas	3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> semanas	
Monoterapia	25 mg, uma vez ao dia	50 mg, uma vez ao dia	100 a 200 mg, numa só dose ou divididas em duas doses.
Adicionado ao programa terapêutico de doentes que não tomam Ácido Valpróico	50 mg, uma vez ao dia	100 mg diárias, divididas em duas doses	200 a 400 mg diárias, divididas em duas doses
Adicionado ao programa terapêutico de doentes que tomam Ácido Valpróico <sup>†</sup>	25 mg, em dias alternados	25 mg, uma vez ao dia	100 a 200 mg diárias, uma só vez ao dia ou divididas em duas doses

Tabela 1.8 – Dosagem de Lamictal<sup>®</sup>: crianças entre os 2 e 12 anos.\*

Esquema terapêutico	Dose inicial		Dose diária
	1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> semanas	3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> semanas	
Adicionado ao programa terapêutico de crianças que não tomam Ácido Valpróico	2 mg/kg/dia, divididas em duas doses	5 mg/kg/dia, divididas em duas doses	5 a 15 mg/kg/dia, divididas em duas doses
Adicionado ao programa terapêutico de crianças que tomam Ácido Valpróico <sup>†</sup>	2 mg/kg/dia, divididas em duas doses (crianças que pesem mais de 25 kg, devem tomar 5 mg/kg em dias alternados)	0,5 mg/kg/dia, uma vez ao dia	1 a 5 mg/kg/dia, numa só dose ou divididas em duas doses

### 1.2.6.3 Interação com outros medicamentos

Como a Lamotrigina é eliminada predominantemente pela via de glucuronidação, a co-administração de fármacos que também utilizem esta via metabólica poderão ser potencialmente fonte de interferência, nomeadamente no que diz respeito à redução da taxa de eliminação da Lamotrigina.

\* Adaptado a partir de THE WELLCOME (1996).

<sup>†</sup> Quer isolado, quer em combinação com outros antiepilépticos indutores enzimáticos.

A co-administração de Paracetamol (900 mg 3 vezes ao dia) e Lamotrigina (300 mg) em voluntários sãos levou a uma diminuição do tempo de semivida desta (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996).

Como a Carbamazepina e a Fenitoína induzem as monooxidasas hepáticas, podem diminuir a eficácia da pílula contraceptiva. Contudo, a co-administração de Lamotrigina com contraceptivos orais não altera a eficácia de ambos. Estudos feitos em mulheres saudáveis revelaram que os níveis plasmáticos de contraceptivos orais combinados (30 µg de Etinilestradiol e 150 µg de Levonogestrel) não eram alterados quando tomavam Lamotrigina (150 mg/dia, durante 2 semanas) (GOA, ROSS e CHRISP, 1993; FITTON e GOA, 1995; THE WELLCOME, 1996). Por conseguinte, parece que a Lamotrigina pode ser administrada conjuntamente com a pílula, sem haver o perigo de falhar a contracepção.

## **2    Objetivo**

A Lamotrigina é um antiepiléptico de nova geração, cada vez mais utilizado na abordagem de epilepsias parciais e generalizadas, quer como adjuvante de tratamentos clássicos quer em monoterapia. Embora a utilização da Lamotrigina na prática clínica seja razoavelmente bem tolerada pelos doentes, os benefícios resultantes da sua administração são de avaliação mais complexa, devido à grande variabilidade inter-individual observada ao nível da dosagem requerida para a obtenção da resposta terapêutica adequada, constatando-se que para alguns doentes o controlo apenas é conseguido com concentrações francamente superiores às inicialmente referidas como limites da margem terapêutica (1-4 µg/mL).

Parece claro que existe na actualidade um défice de conhecimento relacionado com a forma como se correlacionam as concentrações séricas de Lamotrigina e a resposta farmacológica obtida após a administração de uma determinada dose. Pela sua especificidade, a resolução prática para este problema passa pela utilização de animais de laboratório e técnicas adequadas, que permitam a caracterização neurofarmacocinética da Lamotrigina.

As características da formulação galénica e/ou veículo são de grande importância, uma vez que não devem influenciar a absorção do fármaco, nem condicionar a sua dissolução. Aliás, um veículo, por si próprio, deve ser biologicamente inerte, não deve influenciar os resultados da experiência, nem interferir com as características biofísicas do fármaco (DIEHL *et al.*, 2001).

O objectivo do presente trabalho consiste precisamente no estudo piloto conducente à selecção dos veículos e formulações mais adequados para a administração da Lamotrigina em animais de laboratório, tendo presente a sua influência na biodisponibilidade do fármaco e respectivas consequências, para uma apropriada análise do perfil cinético e dinâmico deste antiepiléptico de nova geração.

### **3 Material e métodos**

### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar adultos machos, com peso compreendido entre os 250 e 320 g (Harlan Ibérica, Barcelona, Espanha). Os animais encontravam-se alojados em armários biotério, a uma temperatura constante de 22-23 °C, com sistema de humidade e ventilação adequados e com um ciclo de luz, claro-escuro, de 12 horas. Não foi condicionado o acesso dos animais à água e aos alimentos. Todo procedimento associado à experimentação animal estava de acordo com as normas europeias do tratamento e uso de animais de laboratório (Portaria 1005/92).

### **3.2 Reagentes padrão**

A Lamotrigina (BW430C78), o isotionato de Lamotrigina [2-hidroxietanosulfonato de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina] e o Padrão interno (BW725C78) [3,5-diamina-6-(2-metoxifenil)-1,2,4-triazina] foram gentilmente cedidos pela Wellcome Research Laboratories<sup>®</sup> (Cardiff, U.K.). A Lamotrigina e o isotionato de Lamotrigina foram utilizados na preparação das formulações a administrar aos animais, tendo o Padrão interno sido utilizado para a determinação quantitativa de Lamotrigina nas matrizes biológicas (plasma e cérebro).

### **3.3 Anestésicos**

A Cetamina [Hidroclorato de 2-(*o*-clorofenil)-2-(metilamino)-ciclohexanona] (Laboratórios Pfizer<sup>®</sup>) e a Clorpromazina [2-cloro-10-(3-dimetilaminopropil)-fenotiazina] (Laboratórios Vitória<sup>®</sup>) foram utilizadas para a preparação de uma solução anestésica a utilizar de acordo com o protocolo experimental.



### 3.4 **Formulações galénicas**

Tendo presente o objectivo deste trabalho, procedeu-se então a uma pesquisa bibliográfica que conduziu à possibilidade de se experimentarem três formulações distintas contendo Lamotrigina, administradas intraperitonealmente na dose de 10 mg/kg (5 mg/mL):

- **suspensão:** Lamotrigina suspensa em metilcelulose a 0,25% (em água destilada);
- **solução lipofílica:** Lamotrigina dissolvida em propilenoglicol a 50% (em água destilada);
- **solução aquosa:** isotionato de Lamotrigina dissolvido, directamente, em água destilada.

### 3.5 **Desenho experimental**

Os animais foram divididos em grupos de 24 ratos. A cada grupo foi administrada, por via intraperitoneal, uma formulação diferente. Após a administração, procedia-se à recolha de amostras de plasma e cérebro em tempos predeterminados (0,25, 0,5, 2, 12, 24 e 48 horas). Antes de se proceder à punção cardíaca aberta, cada animal foi anestesiado, via intramuscular, com uma solução anestésica de Hidroclorato de Cetamina (7,7 mg/kg) e Clorpromazina (2,3 mg/kg). O sangue foi colocado em tubos com anticoagulante citrato e seguidamente centrifugado a 4500 rotações/min, a 15 °C. Logo após a recolha do sangue, o cérebro era imediatamente removido, pesado, colocado em tampão fosfato fisiológico (5 mL tampão por g de tecido, pH = 7,4) para se proceder à sua homogeneização. A homogeneização era efectuada em banho de gelo, com o homogeneizador pré-seleccionado para as 300 rotações/min. As amostras de plasma e cérebro eram divididas em alíquotas, devidamente identificadas e congeladas de imediato a -25 °C, até ao momento da quantificação da Lamotrigina. Todo o procedimento se encontra esquematizado na Figura 3.1.

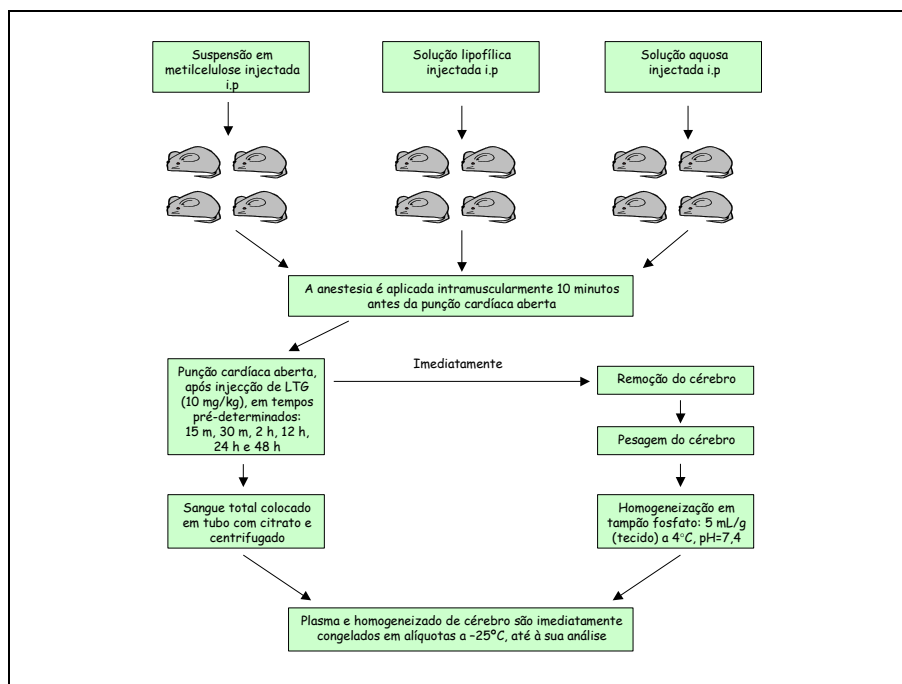


Figura 3.1 – Esquema do procedimento utilizado.

### 3.6 Técnica analítica

A quantificação da Lamotrigina nas diferentes matrizes biológicas (plasma e homogeneizado de cérebro) foi efectuada através de uma técnica de cromatografia líquida de elevada resolução (HPLC) previamente desenvolvida e validada (CASTELBRANCO *et al.*, 2001). Sucintamente, de um ponto de vista laboratorial, como passo prévio à quantificação propriamente dita, houve a necessidade de se proceder a uma fase de extracção a partir das matrizes biológicas. Tanto para o plasma como para o homogeneizado de cérebro, o processo consiste basicamente no mesmo, com excepção de uma etapa de desproteinização que apenas se destina a este último (Figura 3.2).

O **plasma** (1 mL) é introduzido num tubo cilíndrico de vidro, ao qual se adiciona 100  $\mu$ L de padrão interno (40 mg/L). Logo de seguida é introduzido 1 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 2 M, para alcalinizar o meio e garantir que a Lamotrigina permanece na sua forma molecular e, assim, assegurar a passagem à fase orgânica. Agita-se ligeiramente durante 10 segundos e adiciona-se 5 mL de acetato de etilo (este

reagente é que promove a extracção propriamente dita). Os tubos são tapados, agitados durante 10 segundos e colocados num agitador horizontal (400 oscilações/minuto), durante 10 minutos. Seguidamente são centrifugados a 15 °C, durante 10 minutos, a 1585 g. A fase orgânica é transferida para um tubo cónico de 10 mL e evaporada à secura, sob corrente de azoto, num bloco de aquecimento a 45 °C. O resíduo seco que se obtém é redissolvido em 200 µL de fase móvel (Figura 3.2) imediatamente antes da análise.

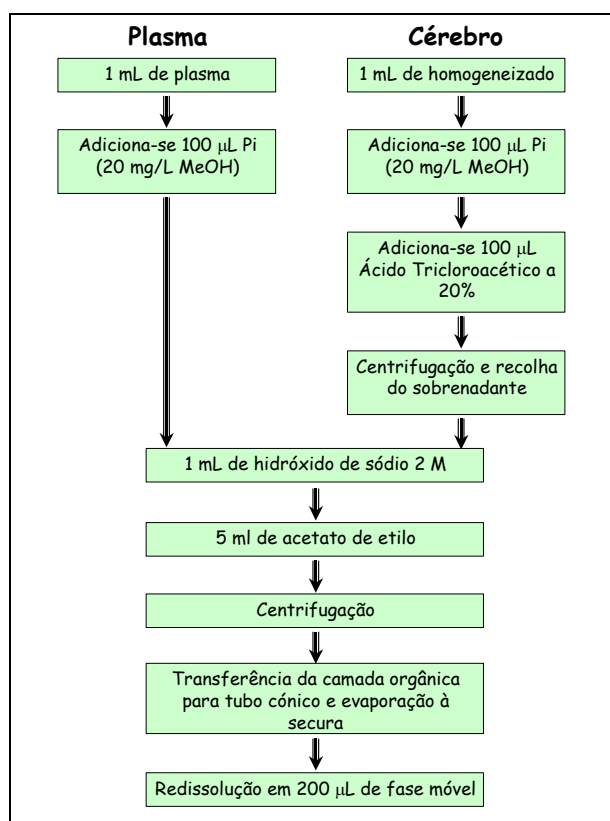


Figura 3.2 – Tratamento das amostras biológicas.

O **homogeneizado de cérebro** (1 mL) é inserido num tubo cónico de vidro ao qual é adicionado 100 µL de padrão interno (20 mg/L). Para a desproteinização junta-se 100 µL de uma solução aquosa de ácido tricloroacético a 20%. Após esta mistura, os tubos são centrifugados a 1585 g, durante 10 minutos, a 15 °C. O processo seguinte é exactamente igual ao descrito para o plasma. (Figura 3.2).

O aparelho utilizado foi o cromatógrafo líquido BAS-480, equipado com uma bomba PM-80, um injector manual Rheodyne com *bucle* de 50 µL, um detector de

ultravioleta visível BAS UV-116 UV-Vis e um sistema de processamento e integração de dados BAS DA-5 *Chromatography Control and Report* (Bioanalytical Systems, West Lafayette, IN, USA). A separação cromatográfica foi levada a cabo numa coluna de fase reversa, com 15 cm de comprimento por 4 mm de diâmetro interno e enchimento LiChrospher 100 RP-18 de 5 µm de tamanho de partícula (LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) LiChroCART 125-4). A separação ocorreu durante 10 minutos à temperatura ambiente. A fase móvel é constituída por uma mistura de 35% de metanol, 64,7% de uma solução aquosa de dihidrogenofosfato de potássio 0,1 M e 0,3% de trietilamina. A fase móvel, após ter sido preparada com água destilada e desionizada, filtrada através de um filtro de membrana com diâmetro de poro 0,45 µm e desgaseificada num banho de ultra-sons antes de cada utilização, foi eluída através do sistema a 1 mL/min. A detecção realizou-se com um detector de ultravioleta visível, pré-seleccionado a 306 nm. A linearidade do método foi demonstrada para o intervalo de concentrações 0,1-15,0 mg/L (plasma) e 0,1-5,0 mg/L (homogeneizado de cérebro), estando o limite de detecção da Lamotrigina, para o plasma e o homogeneizado de cérebro, avaliado em 0,01 mg/L e 0,02 mg/L, respectivamente. Os resultados da validação do método estão de acordo com todas as recomendações internacionais, demonstrando a sua aplicabilidade para a quantificação da Lamotrigina nas matrizes biológicas consideradas (CASTEL-BRANCO *et al.*, 2001).

Por último, referir que as rectas de calibração eram preparadas nos dias em que se fazia a quantificação da Lamotrigina, rectas estas que tornavam possível determinar as concentrações de Lamotrigina nas amostras, por interpolação das respostas cromatográficas obtidas nesse dia. As rectas de calibração podiam ser ou não aceites, o que acontecia através da avaliação do coeficiente de correlação obtido entre o desvio dos valores experimentais em relação aos valores nominais e o desvio dos valores experimentais em relação aos valores da recta no ensaio inter-dia da validação. As rectas que apresentaram coeficientes de correlação inferiores a 0,98, desvios superiores a 15% ou 20% (limite de quantificação) ou se desviaram da recta da validação em mais de 20% foram rejeitadas. As amostras de plasma e homogeneizado de cérebro foram analisadas em dias separados, com a finalidade de evitar contaminações do sistema e otimizar o tempo de trabalho. Os reagentes e colunas utilizados na análise cromatográfica foram adquiridos na Merck® (Merck KgaA, Darmstadt, Germany).

## **4 Resultados**

#### 4.1 Concentrações plasmáticas e cerebrais de acordo com o tipo de formulação utilizada

Tabela 4.1 – Concentrações plasmáticas de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e suspensão (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

Concentração plasmática da Lamotrigina (mg/L)						
Tempo (h)	Solução aquosa	CV *	Solução lipofílica	CV *	Suspensão	CV *
0,25	5,43 $\pm$ 0,45	8,25	3,01 $\pm$ 2,11	69,95	0,82 $\pm$ 0,26	31,59
0,5	4,45 $\pm$ 0,49	10,87	2,05 $\pm$ 0,61	29,76	1,70 $\pm$ 0,11	6,20
2	4,56 $\pm$ 0,78	17,11	4,27 $\pm$ 0,53	12,34	4,24 $\pm$ 1,07	25,27
12	3,31 $\pm$ 0,46	13,77	3,31 $\pm$ 0,40	11,99	3,93 $\pm$ 1,23	31,40
24	2,33 $\pm$ 0,28	11,88	2,69 $\pm$ 0,69	25,75	2,88 $\pm$ 1,11	38,69
48	1,23 $\pm$ 0,40	32,69	1,33 $\pm$ 0,11	8,51	1,55 $\pm$ 0,49	32,00

Tabela 4.2 – Concentrações cerebrais de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e suspensão (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

Concentração cerebral da Lamotrigina (mg/L)						
Tempo (h)	Solução aquosa	CV *	Solução lipofílica	CV *	Suspensão	CV *
0,25	1,05 $\pm$ 0,19	18,18	0,85 $\pm$ 0,56	66,17	0,31 $\pm$ 0,06	19,89
0,5	1,56 $\pm$ 0,23	14,40	0,62 $\pm$ 0,16	25,23	0,45 $\pm$ 0,04	9,61
2	1,61 $\pm$ 0,28	17,65	1,72 $\pm$ 0,31	18,12	1,67 $\pm$ 0,61	36,84
12	1,14 $\pm$ 0,13	11,56	1,14 $\pm$ 0,21	18,74	1,37 $\pm$ 0,13	9,39
24	0,70 $\pm$ 0,05	6,86	1,00 $\pm$ 0,20	20,24	0,94 $\pm$ 0,23	24,55
48	0,60 $\pm$ 0,12	19,53	0,56 $\pm$ 0,14	25,92	0,61 $\pm$ 0,33	53,92

\* Coeficiente de variação (em %).

## 4.2 Comparação do perfil das concentrações plasmáticas de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada

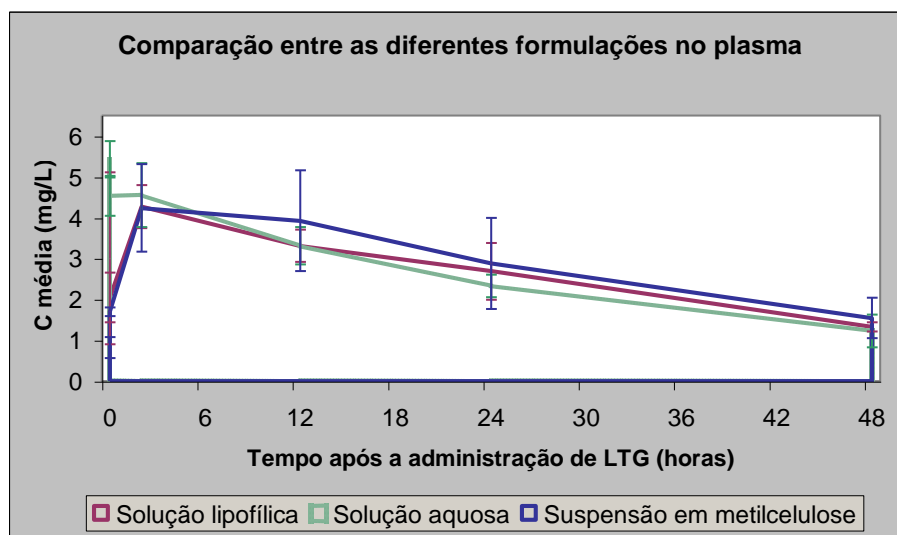


Figura 4.1 – Curvas plasmáticas de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

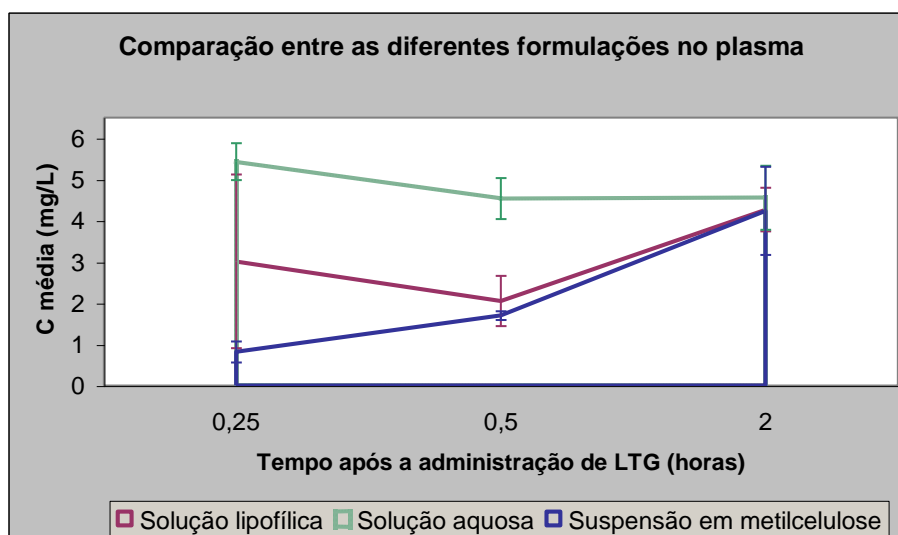


Figura 4.2 – Gráfico baseado na Figura 4.1, que apresenta em detalhe as curvas plasmáticas nas 2 primeiras horas após a administração do fármaco, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

### 4.3 Comparação do perfil das concentrações cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada

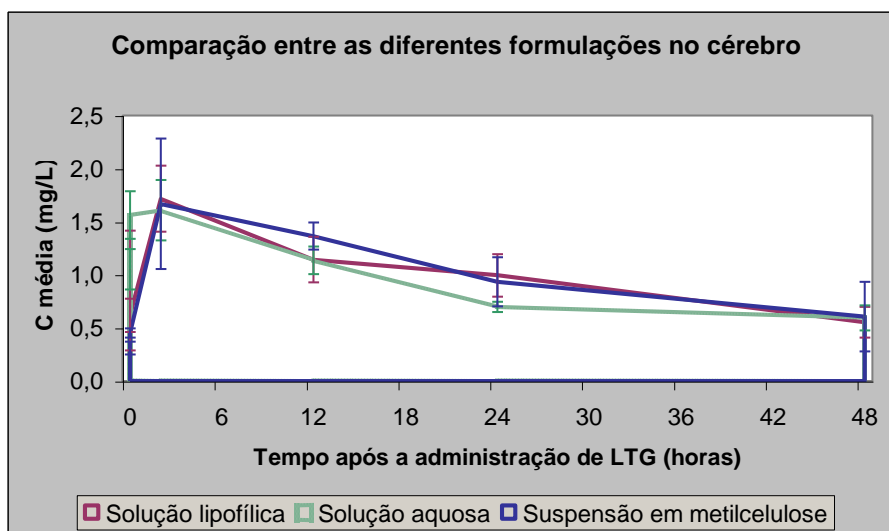


Figura 4.3 – Curvas cerebrais de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

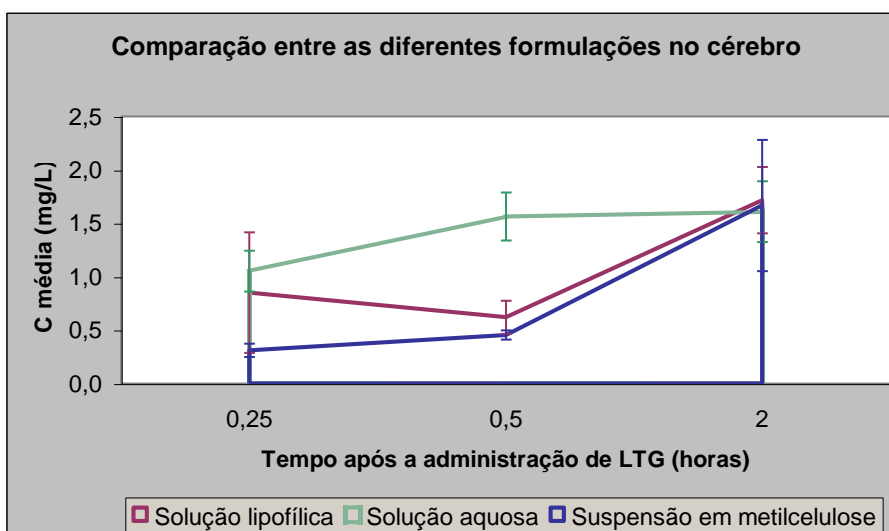


Figura 4.4 – Gráfico baseado na Figura 4.3, que apresenta em detalhe as curvas cerebrais nas 2 primeiras horas após a administração do fármaco, sob a forma de solução aquosa, solução lipofílica e de suspensão (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).



#### 4.4 Comparação do perfil das concentrações plasmáticas e cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada

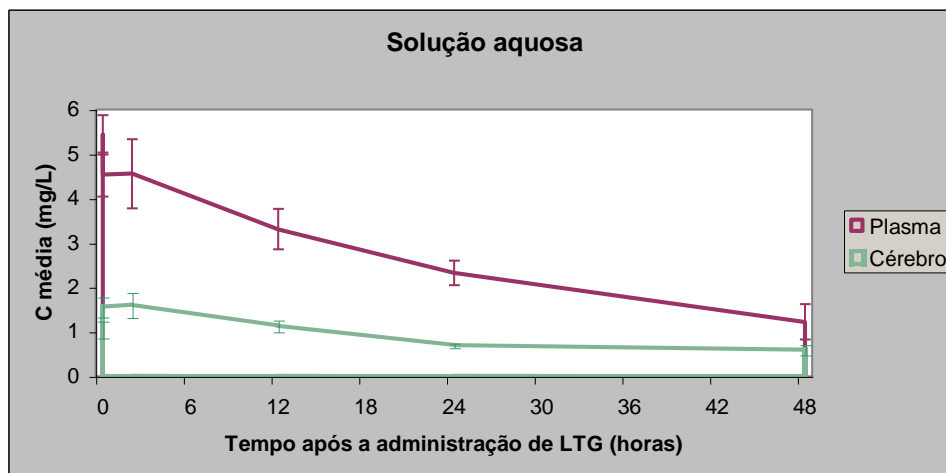


Figura 4.5 – Curvas plasmática e cerebral de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução aquosa de isotionato de Lamotrigina (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

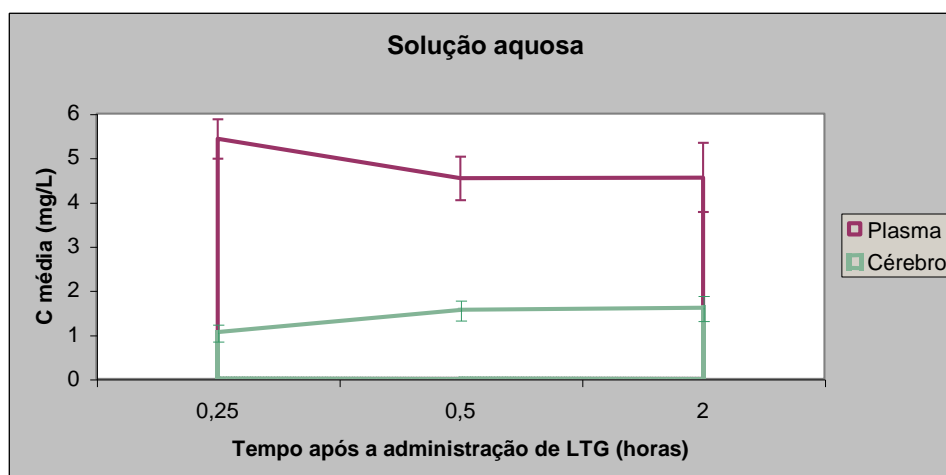


Figura 4.6 – Gráfico baseado na Figura 4.5, que apresenta em detalhe as curvas plasmática e cerebral nas 2 primeiras horas após a administração da solução aquosa de isotionato de Lamotrigina.

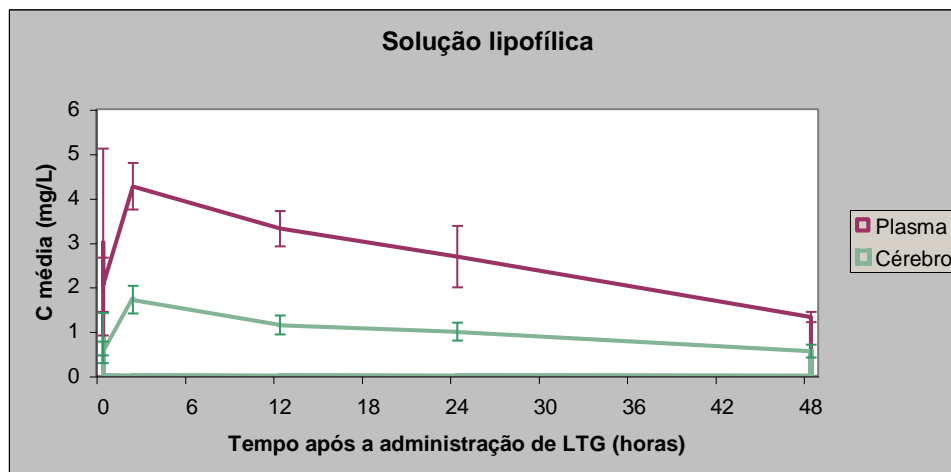


Figura 4.7 – Curvas plasmática e cerebral de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50% (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

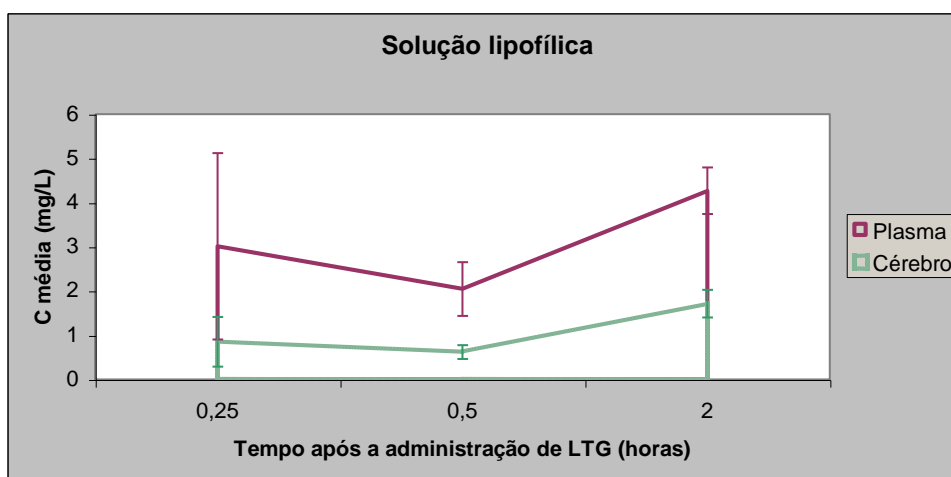


Figura 4.8 – Gráfico baseado na Figura 4.7, que apresenta em detalhe as curvas plasmática e cerebral nas 2 primeiras horas após a administração da solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50%.

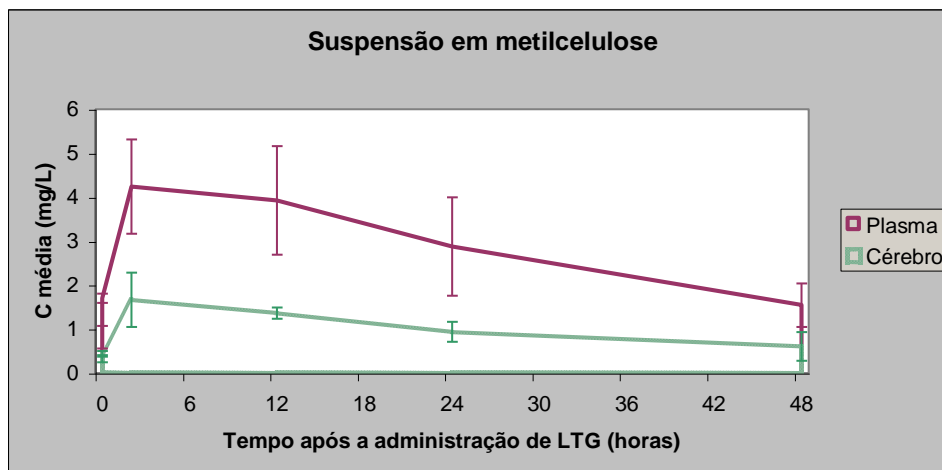


Figura 4.9 – Curvas plasmática e cerebral de Lamotrigina, obtidas após a sua administração i.p. de 10 mg/kg, sob a forma de suspensão em metilcelulose a 0,25% (média  $\pm$  desvio padrão; n = 4).

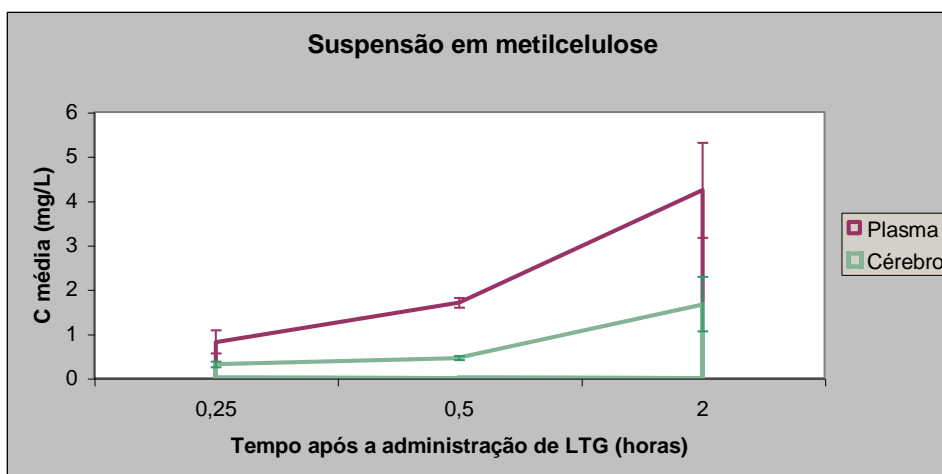


Figura 4.10 – Gráfico baseado na Figura 4.9, que apresenta em detalhe as curvas plasmática e cerebral nas 2 primeiras horas após a administração da suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25%.

## **5 Discussão**

## 5.1 Animais

Em experimentação animal, antes de se iniciar qualquer trabalho laboratorial, é necessário proceder-se à selecção da espécie animal, tendo sempre presente os seguintes pressupostos: 1) definição do objectivo do trabalho; 2) eleição do processo chave da pesquisa; 3) determinação das espécies animais que se podem adaptar a esse mesmo processo chave; 4) selecção de entre as diversas espécies a que mais vantagens apresenta e mais facilmente se adapta ao trabalho laboratorial propriamente dito, com base em princípios éticos, práticos e científicos. Adicionalmente, a selecção da espécie a utilizar deve também fundamentar-se numa apropriada pesquisa bibliográfica (ver que espécies foram seleccionadas em projectos similares precedentes) (HOFFMAN *et al.*, 1979; VAN ZUTPHEN, BAUMANS e BEYNEN, 1993). No presente trabalho, o animal de experimentação eleito foi o rato (*Rattus norvegicus*), tendo-se optado pelo rato Wistar, visto mostrar-se adequado aos objectivos do trabalho e ser fácil de adquirir, manejar e controlar. Nas experiências efectuadas, todos os ratos eram machos, para assim evitar interferências do ciclo hormonal das fêmeas, adultos (8 semanas de vida), para assegurar a maturação de todos os sistemas biológicos do animal, e com peso compreendido entre 250 e 320 gramas.

O ser humano e o rato partilham um antepassado comum, *Eomaia scansoria*, contemporâneo dos dinossáurios, uma criatura do tamanho de um rato e representativo da linhagem dos Eutérios. Portanto, este ancestral é a base de todos os mamíferos placentários actuais. Nesta história natural, o mais interessante é que, desde que a linhagem dos humanos e ratos divergiu (há aproximadamente 75 milhões de anos), o processo de evolução tem alterado as suas sequências genómicas, o que causou a divergência de ambos (MOUSE, 2002). No entanto, estudos recentes confirmaram o que já há muito se suspeitava: o código genético do rato é tão extenso quanto o do homem. O homem possui, aproximadamente, 30 mil genes importantes, responsáveis pela síntese de proteínas, enquanto que novas descobertas demonstraram que o rato tem, sensivelmente, entre 27000 a 30500 (BOGUSKI, 2002).

Os ratos são um instrumento precioso na investigação básica de várias áreas do conhecimento (genética, imunologia, farmacologia, oncologia, cardiologia,

comportamento, aprendizagem, memória e doenças psiquiátricas) (BOGUSKI, 2002). Nas últimas duas décadas, o rato tem sido utilizado de forma tão generalizada, por duas razões fundamentais. Primeiro, porque o rato é um mamífero e, como tal, tem muitos parâmetros fisiológicos, anatômicos e metabólicos paralelos aos do homem. Além do mais, é notável como as diferenças anatômicas se revelam, quase exclusivamente, no tamanho e forma, uma vez que a análise detalhada de órgãos, tecidos e células mostra muitas semelhanças, estendendo-se a todos os sistemas constituintes do organismo, à homeostasia fisiológica, à reprodução, ao comportamento e ao desenvolvimento de doenças (BRADLEY, 2002). A outra razão diz respeito à compatibilidade genética entre as duas espécies, isto é, as similaridades na biologia e patologia entre o rato e o homem reflecte-se nos seus genomas (BRADLEY, 2002). A utilização do rato em trabalhos de investigação na área da epilepsia é bastante frequente, pela facilidade que existe em induzir crises epilépticas nestes animais (LÖSCHER e SCHMIDT, 1988). Acresce que, ao ser de reduzido tamanho, fácil manuseamento e controlo, rápida reprodução, permitindo o controlo das gerações no próprio laboratório, e apresentar um modelo fisiológico e genético muito similar ao do homem, a sua selecção não oferecerá grande contestação (MALAKOFF, 2000). Na verdade, os circuitos neuronais do rato e a expressão genética de algumas proteínas e receptores são semelhantes ao do cérebro humano. No homem, o sistema nervoso é dividido em sistema nervoso central, constituído pelo cérebro e medula espinal, e em sistema nervoso periférico, composto pelos nervos, gânglios dorsais e gânglios autónomos (MOFFETT, MOFFETT e SCHAUF, 1993). O rato também possui esta distinção no seu sistema nervoso (BIVIN, BREWER e CRAWFORD, 1979). Em ambos, o sistema nervoso periférico é constituído pelos nervos cranianos, que provêm do cérebro, e pelos nervos espinais, que surgem da medula espinal (MOFFETT, MOFFETT e SCHAUF, 1993). No rato e no homem, os nervos cranianos totalizam 12 pares, enquanto que os nervos espinais são 34 pares no rato e 31 pares no homem. As funções atribuídas a cada grupo de nervos são semelhantes.

## 5.2 Administração do fármaco

A absorção de um fármaco corresponde à sua incorporação no organismo a partir do local onde é administrado. As barreiras que um fármaco tem de ultrapassar para que atinja a circulação sistémica dependem da via de administração utilizada e das propriedades físico-químicas da molécula em questão. Assim sendo, facilmente se compreende que a selecção da via de administração a utilizar numa determinada experiência deve estar de acordo com os objectivos a atingir, tendo em consideração as características do fármaco que se pretende estudar (FLÓREZ e ARMIJO, 1992).

A opção pela via intraperitoneal ficou-se a dever ao facto de se pretender obter níveis plasmáticos tão rápido quanto possível, que permitam caracterizar a disposição (distribuição e eliminação) da Lamotrigina, sem haver uma preocupação real com a absorção em si mesma. Na verdade, a existência de um complexo processo de absorção era justamente o que se queria evitar, para que tal não se transformasse num passo limitante, que seria um inconveniente para os objectivos que se pretendiam atingir. Através da elevada vascularização do peritoneu, existia a garantia que a Lamotrigina atingiria a circulação sistémica de uma forma reprodutível e num curto espaço de tempo (FLÓREZ e ARMIJO, 1992; DIEHL *et al.*, 2001).

Acontece que mesmo numa via de administração como a intraperitoneal, a biodisponibilidade dependerá da forma como se veicula o princípio activo seleccionado (LÖSCHER, NOLTING e FASSBENDER, 1990). Aliás, a selecção do veículo e formulação adequados são absolutamente preponderantes na experimentação animal, constituindo uma etapa preliminar sempre que se pretenda proceder à caracterização de perfis cinéticos e/ou dinâmicos *a posteriori* (DIEHL *et al.*, 2001), tal como acontece no caso vertente.

A Lamotrigina, pela sua lipofilia, permite um trabalho de formulação que poderá influenciar decisivamente a forma como o fármaco é absorvido, que o mesmo é dizer, a sua biodisponibilidade. Mediante a informação disponível sabemos de antemão que a Lamotrigina é um fármaco antiepiléptico lipofílico, com ligação moderada às proteínas plasmáticas e que penetra com facilidade no tecido cerebral (MEYER *et al.*, 1999). Assim sendo, o desafio reside na selecção de uma formulação capaz de colocar de forma rápida e completa a Lamotrigina na circulação sistémica após a sua

administração. Desta forma, e após pesquisa bibliográfica, os veículos e formulações escolhidos para a execução deste trabalho foram: suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25% (WHEATLEY e MILLER, 1989), solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50% (WALKER *et al.*, 2000) e solução aquosa de Lamotrigina (CONROY *et al.*, 1999), encontrando-se esta sob a forma de isotionato de Lamotrigina.

### **5.3 Procedimento experimental**

A administração da Lamotrigina numa dose única de 10 mg/kg surge na sequência desta ser a dose referida como a recomendada para o desencadear da resposta anticonvulsivante no rato, para além de que os níveis plasmáticos assim obtidos são semelhantes aos da margem terapêutica proposta para a sua utilização em doentes epiléticos (MORRIS *et al.*, 1998; WHEATLEY e MILLER, 1989).

Para a recolha das amostras, foram estudados vários anticoagulantes, nomeadamente a heparina, citrato e o ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA), para que fossem evitadas eventuais interferências destes na determinação da Lamotrigina e do seu padrão interno pela técnica de HPLC. A escolha recaiu sobre o citrato, fundamentalmente por duas razões: por um lado, porque com este anticoagulante obtém-se maior quantidade de plasma (partindo do mesmo volume de sangue) e, por outro, o citrato origina cromatogramas de plasma mais limpos do que os demais anticoagulantes.

Mesmo nos primórdios da experimentação animal, a maioria dos investigadores teve a preocupação em anestésiar ou aplicar analgésicos aos animais, aquando da sua utilização em experiências científicas, na tentativa de lhes controlar a dor, sofrimento e *stress*. Com esta actuação evita-se que esses mesmos sintomas provoquem alterações fisiológicas que modifiquem, eventualmente, as respostas de um determinado estudo, induzindo a equipa de investigação em erro (FLECKNELL, 1985). Relativamente à selecção do anestésico a utilizar, houve uma atenção redobrada, tendo em consideração três aspectos distintos, mas complementares entre si, para o sucesso experimental: 1) encontrar um anestésico que, ao ser aplicado, minimizasse efectivamente o sofrimento



do animal; 2) encontrar um anestésico que não interferisse cinética e dinamicamente com a Lamotrigina; 3) encontrar um anestésico que não interferisse com a técnica analítica para a determinação do fármaco em questão. Assim sendo, após árdua pesquisa bibliográfica, a escolha da solução anestésica recaiu sobre a associação da Cetamina com a Clorpromazina. De facto, em relação à Cetamina, até ao momento apenas foi demonstrada a inconveniência da sua utilização conjunta com a Fenitoína, ainda que tal não se tenha ficado a dever a qualquer interferência do ponto de vista cinético (SECHI *et al.*, 1989). A associação com a Clorpromazina teve apenas como finalidade o aproveitamento da sua acção neuroléptica e cardioprotectora, nomeadamente para facilitar que a recolha de sangue por punção cardíaca se processasse sem dificuldade.

#### **5.4 Perfil das concentrações plasmáticas de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada**

Como é visível através da informação veiculada através das Figuras 4.1-4.2, a cinética de incorporação da Lamotrigina apresenta diferenças sensíveis, consoante o tipo de formulação utilizada. Numa análise geral aos gráficos, a primeira característica que sobressai é que, independentemente da formulação utilizada, a partir de um determinado tempo após a administração (2 horas), existe declaradamente uma situação de paralelismo e inclusive, alguma sobreposição em relação às concentrações plasmáticas observadas, independentemente do tipo de formulação utilizada. Contudo, embora as 3 formulações permitam a obtenção de traçados gráficos semelhantes 2 horas após a administração, importa referir que durante as primeiras duas horas existem diferenças notórias, que dependem da forma como se processa a incorporação da Lamotrigina no corpo (Tabela 4.1 e Figura 4.2).

Como consequência prática temos que a biodisponibilidade da Lamotrigina se apresenta superior quando se utiliza a solução aquosa de isotionato de Lamotrigina, em contraposição com os resultados obtidos após a administração da Lamotrigina, tanto dissolvida em propilenoglicol a 50%, como suspensa em metilcelulose a 0,25%, sendo

que este tipo de comportamento era relativamente previsível, tendo em consideração descrições prévias a este respeito (LÖSCHER, NOLTING e FASSBENDER, 1990).

Os resultados obtidos não podem ser dissociados das características físico-químicas da Lamotrigina, nem das propriedades das formulações galénicas através das quais ela foi introduzida no local de absorção. Assim sendo, é perfeitamente natural que a suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25% esteja associada a uma absorção mais lenta e errática, visto que as partículas têm maiores dimensões e, por conseguinte, apresentam maior resistência à transposição do peritoneu. A cinética de absorção da Lamotrigina, a partir da solução lipofílica, sofrerá uma alteração no sentido da diminuição da sua biodisponibilidade, como consequência do carácter lipofílico do veículo que, certamente, torna mais complexa a libertação da Lamotrigina, para posterior passagem através do peritoneu. Finalmente, no caso da solução aquosa de isotionato de Lamotrigina, verifica-se que o carácter hidrofílico da formulação permite uma rápida dispersão do princípio activo, tornando-o, dessa forma, mais acessível a fenómenos de difusão e correspondente passagem desde o local de absorção até o plasma.

Parece ser incontornável que a entrada do fármaco na circulação sistémica, dependendo do tipo de formulação utilizada, poderá constituir um passo limitante em relação aos processos de disposição o que, atendendo aos objectivos do presente trabalho, constituiria uma situação indesejável. De facto, a avaliação da biodisponibilidade em sentido lato, constitui uma informação extremamente valiosa no sentido de evitar, tanto quanto possível, que o processo de incorporação da Lamotrigina possa assumir um papel de passo limitante em relação à cinética global deste fármaco, especialmente quando, como é o caso, se pretende também avaliar o processo de distribuição cerebral da Lamotrigina (LÖSCHER, NOLTING e FASSBENDER, 1990).

### **5.5 Perfil das concentrações cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada**

Analisando a informação proveniente das Figuras 4.3-4.4, facilmente se constata que a cinética de distribuição da Lamotrigina para o tecido cerebral apresenta diferenças sensíveis consoante o tipo de formulação utilizada. Na realidade, a primeira característica que sobressai é que, independentemente da formulação utilizada, a partir de um determinado tempo após a administração (2 horas), as concentrações cerebrais atingidas apresentam grande similaridade. Esta constatação suporta a hipótese de que a Lamotrigina transpõe com facilidade a barreira hematoencefálica, chegando dessa forma ao tecido cerebral. Contudo, embora as 3 formulações permitam a obtenção de traçados gráficos semelhantes 2 horas após a administração, importa referir que durante as primeiras duas horas existem diferenças notórias que dependem da forma como se processa a incorporação de Lamotrigina no corpo.

Efectivamente, a utilização de uma solução aquosa de isotionato de Lamotrigina permite a obtenção de concentrações elevadas de fármaco no cérebro, 30 minutos após a sua administração por via intraperitoneal, enquanto que para as outras duas formulações consideradas, valores equivalentes de Lamotrigina no cérebro apenas são atingidos cerca de 2 horas após a sua administração (Figura 4.4 e Tabela 4.2). Assim sendo, é visível que a solução aquosa de isotionato de Lamotrigina apresenta características que nos permitem afirmar que se trata da formulação mais adequada para o prosseguimento de trabalho de investigação sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica da Lamotrigina no modelo experimental seleccionado.

### **5.6 Análise dos perfis plasmáticos e cerebrais de Lamotrigina de acordo com o tipo de formulação utilizada**

A importância da avaliação da relação entre as concentrações plasmáticas e cerebrais de Lamotrigina resulta do interesse em obter informação que nos permita

relacionar concentrações plasmáticas com concentrações cerebrais e, em última instância, correlacionar estas últimas com a resposta farmacológica da Lamotrigina. Na realidade, o objectivo primordial reside no facto de compreendermos de que forma a Lamotrigina é capaz de atingir o local de acção o que, na presente situação, o mesmo é dizer, qual a taxa de sucesso com que a Lamotrigina é capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica e atingir o tecido cerebral, tendo em consideração a ausência de constrangimentos relativamente ao processo de incorporação e mantendo presente o carácter lipofílico da molécula (LÖSCHER e FREY, 1984; SECHI *et al.*, 1989; CORNFORD *et al.*, 1992). Aliás, a capacidade de penetração de fármacos no cérebro é basicamente condicionada por três aspectos relacionados com as propriedades físico-químicas das moléculas em apreço: o grau de ionização do fármaco, a lipossolubilidade do fármaco e o grau de ligação às proteínas plasmáticas (LÖSCHER e FREY, 1984; WALKER *et al.*, 2000). Por outro lado, o motivo pelo qual é importante pesquisar a neurofarmacocinética de um antiepiléptico, relaciona-se com três importantes factores: a optimização da terapia, a determinação da concentração plasmática ideal e a determinação do modo de acção e respectivos mecanismos farmacológicos (WALKER *et al.*, 2000).

O reconhecimento da formulação galénica apropriada para a incorporação da Lamotrigina na circulação sistémica é fundamental para a realização posterior de estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos, tal como já foi referido anteriormente.

Neste trabalho, foi possível verificar que as 3 diferentes formulações exibiram comportamentos distintos, perante as mesmas condições experimentais (Tabelas 4.1-4.2). Do mesmo modo, as Figuras 4.4-4.10 permitem-nos compreender a forma como a passagem da Lamotrigina pelo corpo pode ser visualizada sob duas perspectivas distintas: a primeira reporta-se à absorção do fármaco do peritoneu para o plasma (curvas plasmáticas) e a segunda corresponde à distribuição do fármaco pelo tecido cerebral (curvas cerebrais). A análise conjunta destas curvas ajuda a entender a relação existente entre estes dois processos e permite comparar o perfil apresentado pelas três formulações.

Numa apreciação global, a solução aquosa de isotionato de Lamotrigina foi a formulação galénica que primeiro exibiu o pico plasmático, por comparação com a suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25% e a solução lipofílica de

Lamotrigina em propilenoglicol a 50%. Este comportamento evidencia que a absorção plasmática do fármaco foi mais rápida quando se procedeu à sua administração na forma de solução aquosa. Além disso, esta solução é a formulação galénica que menor dispersão de resultados exibiu, facto que facilmente se comprova pela análise dos respectivos coeficientes de variação, enquanto que a suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25% e a solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50% apresentaram maior dispersão e, conseqüentemente, revelaram menor reprodutibilidade nos resultados obtidos (Tabelas 4.1-4.2). Situação semelhante ocorre em relação à distribuição da Lamotrigina para o tecido cerebral, confirmando a utilidade do presente trabalho na necessidade de se proceder a uma adequada selecção da formulação a utilizar para a administração de Lamotrigina nos animais, sem que esse processo de incorporação distorça a capacidade da molécula atingir concentrações elevadas e de forma rápida no seu local de acção.

Em todas as formulações existe linearidade entre a concentração de Lamotrigina no plasma e no cérebro, uma vez atingido o equilíbrio de distribuição estimado em 2 horas após a administração de Lamotrigina ( $r^2=0,945$  para a solução aquosa de isotionato de Lamotrigina;  $r^2=0,961$  para a solução lipofílica de Lamotrigina em propilenoglicol a 50%;  $r^2=0,950$  para a suspensão de Lamotrigina em metilcelulose a 0,25%). Importa contudo referir que a utilização da solução aquosa de isotionato de Lamotrigina apresenta vantagens óbvias sobre as outras duas formulações, vantagens essas alicerçadas na menor variabilidade apresentada pelos resultados obtidos e pela garantia de que o processo de incorporação não condiciona, de forma alguma, a presença de fármaco no local de acção, ou seja, não constitui um passo limitante para a distribuição da Lamotrigina pelos diferentes tecidos, incluindo naturalmente o tecido cerebral (local de acção por excelência).

## **6 Conclusões**

A Lamotrigina é um antiepiléptico de nova geração, cada vez mais utilizado na nova abordagem às epilepsias parciais e generalizadas, quer como coadjuvante de tratamentos clássicos, quer em monoterapia. A sua utilização na prática clínica é razoavelmente bem tolerada pelos doentes, embora os benefícios da sua administração sejam de avaliação mais complexa, devido à grande variabilidade interindividual observada ao nível da dosagem requerida para obtenção da resposta terapêutica adequada (BRODIE, 1992; MEYER *et al.*, 1999; OLIVEROS-JUSTE *et al.*, 1999).

Como acontece com os antiepilépticos em geral, a Lamotrigina necessita de atravessar a barreira hematoencefálica, de forma a exercer o seu efeito terapêutico. A caracterização deste tipo de processos recorre com frequência à experimentação animal, para perceber quais os perfis cinético e dinâmico que explicam a forma como um determinado fármaco actua no organismo. A Lamotrigina não constitui excepção e, por esse motivo, o primeiro passo consiste na selecção da formulação galénica que irá permitir estudos mais aprofundados, baseados na sua administração em animais de laboratório.

Contudo, a formulação a seleccionar deverá apresentar uma biodisponibilidade adequada aos propósitos que estão na base da investigação farmacológica. O presente trabalho é um bom exemplo disso mesmo, uma vez que foram experimentadas 3 formulações diferentes, que exibiram, sem sombra de dúvida, perfis de absorção claramente distintos. Neste particular, constatou-se que a solução aquosa foi a formulação que apresentou menor dispersão nos resultados e que, por esse motivo, assegura uma maior reprodutibilidade dos mesmos. Além disso, apresentou um melhor perfil de absorção, estreitamente correlacionado com a evolução das concentrações cerebrais. As outras duas formulações apresentaram uma absorção mais lenta e errática, apesar das 3 formulações terem em comum o facto de apresentarem linearidade entre as curvas plasmática *versus* cerebral, uma vez ultrapassadas as 2 horas após administração.

Em conclusão, a solução aquosa de isotionato de Lamotrigina parece ser a melhor formulação a aplicar no desenvolvimento de trabalhos experimentais com vista à caracterização neurofarmacocinética da Lamotrigina, pelo facto de:

- apresentar uma absorção mais rápida (passagem peritoneu/plasma);
- apresentar menor dispersão no perfil de absorção (maior reprodutibilidade);

- demonstrar linearidade entre a curva plasmática e a cerebral, uma vez atingido o equilíbrio de distribuição (2 horas após a administração);
- apresentar uma biodisponibilidade que favorece o rápido equilíbrio entre as concentrações plasmática *versus* cerebral (a incorporação não é passo limitante).



## **7 Bibliografia**

- ANDERSON, G.D. [*et al.*] (1992) – Effect of Lamotrigine (LTG, Lamictal®) on the Pharmacokinetics and Biotransformation of Valproate. **Epilepsia**. 33:Suppl. 3 (1992) 82.
- BEGHI, E.; PERUCCA, E. (1995) – The Management of Epilepsy in the 1990s: Acquisitions, Uncertainties and Priorities for Future Research. **Drugs**. 49:5 (1995) 680-694.
- BERKOVIC, S.F.; SCHEFFER, I.E. (2001) – Genetics of the Epilepsies. **Epilepsia**. 42:Suppl. 5 (2001) 16-23.
- BERNUS, I. [*et al.*] (1997) – Anticonvulsant Therapy in Aged Patients: Clinical Pharmacokinetic Considerations. **Drugs & Aging**. 10:4 (1997) 278-289.
- BETTS, T. [*et al.*] (1991) – Human Safety of Lamotrigine. **Epilepsia**. 32:Suppl. 2 (1991) S17-S21.
- BIALER, M. (1992) – Pharmacokinetic Evaluation of Sustained Release Formulations of Antiepileptic Drugs: Clinical Implications. **Clinical Pharmacokinetics**. 22:1 (1992) 11-21.
- BINNIE, C.D. [*et al.*] (1989) – Double-blind crossover trial of lamotrigine (Lamictal®) as add-on therapy in intractable epilepsy. **Epilepsy Research**. 4:3 (1989) 222-229.
- BIVIN, W.S.; CRAWFORD, M.P.; BREWER, N.R. (1979) – Morphophysiology. In BAKER, H.J., ed. lit. – **The laboratory rat**. London: Academic Press, Inc., 1979. Vol. 1, chapter 4: p.73-100.
- BLUME, W.T.; WOLF, P. (1997) – Introduction to the Epilepsies. In ENGEL, J.; PEDLEY, T.A., ed. lit. – **Epilepsy: A Comprehensive Textbook**. Philadelphia: Lippincott -Raven Publishers, 1997. Vol. 1, chapter 67: p.765-772.
- BOGUSKI, M.S. (2002) – The mouse that roared. **Nature**. 420 (2002) 515-516.
- BRADLEY, A. (2002) – Mining the mouse genome. **Nature**. 420 (2002) 512-514.
- BRODIE, M.J. (1992) – Lamotrigine. **Lancet**. 339 (1992) 1397-1400.
- BRODIE, M.J.; RICHENS, A.; YUEN, A.W.C. (1995) – Double-blind comparison of lamotrigine and carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. **Lancet**. 345 (1995) 476-479.
- CARRETERO, M. (1994) – Lamotrigina. **OFFARM**. Noviembre (1994) 20-22.
- CASAS-FERNÁNDEZ, C. (2000) – Datos actuales sobre la lamotrigina. **Revista de Neurología**. 30:Supl. 1 (2000) S120-S125.
- CASTEL-BRANCO, M.M. [*et al.*] (2001) – Lamotrigine analysis in blood and brain by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**. 755:1-2 (2001) 119-127.
- CHADWICK, D. (1990) – Diagnosis of epilepsy. **Lancet**. 336 (1990) 291-295.

COMMISSION on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy (1981) – Proposal for Revised Clinical and Electroencephalographic Classification of Epileptic Seizures. **Epilepsia**. 22 (1981) 489-501.

COMMISSION on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy (1985) – Proposal for Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes. **Epilepsia**. 26:3 (1985) 268-278.

COMMISSION on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy (1989) – Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes. **Epilepsia**. 30:4 (1989) 389-399.

CONROY, B.P. [*et al.*] (1999) – Lamotrigine Attenuates Cortical Glutamate Release during Global Cerebral Ischemia in Pigs on Cardiopulmonary Bypass. **Anesthesiology**. 90:3 (1999) 844-854.

COOPER, E.C. (2001) – Potassium Channels: How Genetic Studies of Epileptic Syndromes Open Paths to New Therapeutic Targets and Drugs. **Epilepsia**. 42: Suppl. 5 (2001) 49-54.

CORNFORD, E.M. [*et al.*] (1992) – Blood-Brain Barrier Penetration of Felbamate. **Epilepsia**. 33:5 (1992) 944-954.

DARNELL, J.; LODISH, H.; BALTIMORE, D. (1990) – Nerve Cells and the Electric Properties of Cell Membranes. In DARNELL, J.; LODISH, H.; BALTIMORE, D., ed. lit. – **Molecular Cell Biology**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Scientific American Books, 1990. Chapter 20: p.763-814.

DECKERS, C.L.P. [*et al.*] (2001) – Monotherapy versus Polytherapy for Epilepsy: A Multicenter Double-Blind Randomized Study. **Epilepsia**. 42:11 (2001) 1387.

DICHTER, M.A.; AYALA, G.F. (1987) – Cellular Mechanisms of Epilepsy: A Status Report. **Science**. 237 (1987) 157-164.

DICHTER, M.A. (1989) – Cellular Mechanisms of Epilepsy and Potential New Treatment Strategies. **Epilepsia**. 30:Suppl. 1 (1989) S3-S12.

DIEHL, K-H. [*et al.*] (2001) – A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. **Journal of Applied Toxicology**. 21 (2001) 15-23.

DREIFUSS, F.E. (1997) – Classification of Epileptic Seizures. In ENGEL, J.; PEDLEY, T.A., ed. lit. – **Epilepsy: A Comprehensive Textbook**. Philadelphia: Lippincott -Raven Publishers, 1997. Vol. 1, chapter 44: p.517-524.

DULAC, O. (1995) – Choice of Antiepileptic Drugs in Childhood. **Epilepsia**. 36:Suppl. 3 (1995) S89.

ESTEVES, A. (1994) – Antiepiléticos. In GARRET, J.; OSSWALD, W.; GUIMARÃES, S., ed. lit. – **Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas**. 3ª ed. Porto: Porto Editora, 1994. Vol. 1, cap. 19: p.250-262.

FAUGHT, E.R. [et al.] (1992) – Clinical Experience with Lamotrigine (Lamictal®) Monotherapy for Partial Seizures in Adult Outpatients. **Epilepsia**. 33:Suppl. 3 (1992) 82.

FAUGHT, E. [et al.] (1999) – Adding lamotrigine to valproate: incidence of rash and other adverse effects. Postmarketing Antiepileptic Drug Survey (PADS) Group. **Epilepsia**. 40:8 (1999) 1135-1140.

FITTON, A.; GOA, K.L. (1995) – Lamotrigine: An Update of its Pharmacology and Therapeutic Use in Epilepsy. **Drugs**. 50:4 (1995) 691-713.

FLECKNELL, P.A. (1985) – The management of post-operative pain and distress in experimental animals. **Animal Technology**. 36:2 (1985) 97-103.

FLÓREZ, J.; ARMIJO, J.A. (1992) – Fármacos antiepiléticos y anticonvulsivantes. In FLÓREZ, J.; ARMIJO, J.A.; MEDIAVILLA, A., ed. lit. – **Farmacología humana**. 2ª ed. Barcelona: Ediciones Científicas y Técnicas, S. A., 1992. Cap. 31: p.425-437.

GOA, K.L.; ROSS, S.R.; CHRISP, P. (1993) – Lamotrigine: A Review of its Pharmacological Properties and Clinical Efficacy in Epilepsy. **Drugs**. 46:1 (1993) 152-176.

GOLDSMITH, P.; DE BITTENCOURT, P.R.M. (1995) – Rationalized polytherapy for epilepsy. **Acta Neurologica Scandinavica**. Suppl. 162 (1995) 35-39.

GRAM, L. (1996) – Pharmacokinetics of New Antiepileptic Drugs. **Epilepsia**. 37:Suppl. 6 (1996) S12-S16.

HACHAD, H.; RAGUENEAU-MAJLESSI, I.; LEVY, R.H. (2002) – New antiepileptic drugs: review on drug interactions. **Therapeutic Drug Monitoring**. 24:1 (2002) 91-103.

HAEDICKE, C.; ANGRICK, B.; HAUSWALDT, C. (1995) – Letters to the Editor: Lamotrigine versus Carbamazepine in epilepsy. **Lancet**. 345 (1995) 1302.

HOFFMAN, H.A. [et al.] (1979) – Genetic quality control of laboratory animals with emphasis on genetic monitoring. In **7<sup>th</sup> ICLAS Symp.** Utrecht, 1979. p.307-317.

HOLMES, G.L. (1993) – Critical issues in the treatment of epilepsy. **American Journal Hospital Pharmacy**. 50:Suppl. 5 (1993) S5-S16.

INFARMED (1999) – Lamotrigina: Risco de Reações Graves com Clínica “Inocente”. **Boletim de Farmacovigilância**. 3:4 (1999) 3-4.

LEACH, M.J.; MARDEN, C.M.; MILLER, A.A. (1986) – Pharmacological Studies on Lamotrigine, A Novel Potential Antiepileptic Drug: II. Neurochemical Studies on the Mechanism of Action. **Epilepsia**. 27:5 (1986) 490-497.

LEACH, M.J.; BAXTER, M.G.; CRITCHLEY, M.A.E. (1991) – Neurochemical and Behavioral Aspects of Lamotrigine. **Epilepsia**. 32:Suppl. 2 (1991) S4-S8.

LÖSCHER, W.; FREY, H-H. (1984) – Kinetics of Penetration of Common Antiepileptic Drugs into Cerebrospinal Fluid. **Epilepsia**. 25:3 (1984) 346-352.

LÖSCHER, W.; SCHMIDT, D. (1988) – Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. **Epilepsy Research**. 2:3 (1988) 145-181.

LÖSCHER, W.; NOLTING, B.; FASSBENDER, C.P. (1990) – The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. I. The influence of administration vehicles. **Epilepsy Research**. 7 (1990) 173-181.

KÄLVIÄINEN, R.; KERÄNEN, T.; RIEKKINEN SR., P.J. (1993) – Place of Newer Antiepileptic Drugs in the Treatment of Epilepsy. **Drugs**. 46:6 (1993) 1009-1024.

MALAKOFF, D. (2000) – The Rise of the Mouse, Biomedicine's Model Mammal. **Science**. 288 (2000) 217-257.

MATSUO, F. (1999) – Lamotrigine. **Epilepsia**. 40:Suppl. 5 (1999) S30-S36.

MELDRUM, B.S. (1996) – Update on the Mechanism of Action of Antiepileptic Drugs. **Epilepsia**. 37:Suppl. 6 (1996) S4-S11.

MESSENHEIMER, J.A. (1995) – Lamotrigine. **Epilepsia**. 36:Suppl. 2 (1995) S87-S94.

MEYER, F.P. [*et al.*] (1999) – Lamotrigine Concentrations in Human Serum, Brain Tissue, and Tumor Tissue. **Epilepsia**. 40:1 (1999) 68-73.

MILLER, A.A. [*et al.*] (1986) – Pharmacological Studies on Lamotrigine, A Novel Potential Antiepileptic Drug: I. Anticonvulsant Profile in Mice and Rats. **Epilepsia**. 27:5 (1986) 483-489.

MIMS, J. [*et al.*] (1992) – Compassionate Plea Use of Lamotrigine in Children with Incapacitating and/or Life-Threatening Epilepsy. **Epilepsia**. 33:Suppl. 3 (1992) 83.

MOFFETT, D.F.; MOFFETT, S.B.; SCHAUF, C.L. (1993) – The Somatosensory System and an Introduction to Brain Function. In MOFFETT, D.F.; MOFFETT, S.B.; SCHAUF, C.L., ed. lit. – **Human Physiology**. 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis: Foundations & Frontiers, 1993. Chapter 9: p.218-247.

MORRIS R.G. [et al.] (1998) – Lamotrigine and therapeutic drug monitoring: retrospective survey following the introduction of a routine service. **British Journal of Clinical Pharmacology**. 46 (1998) 547-551.

MOUSE Genome Sequencing Consortium (2002) – Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. **Nature**. 420 (2002) 520-562.

MULLENS, E.L. (1998) – Clinical Experience with Lamotrigine Monotherapy in Adults with Newly Diagnosed Epilepsy: A Review of Published Randomised Clinical Trials. **Clinical Drug Investigation**. 16:2 (1998) 125-133.

NASSIRI, R.; STELMASIAK, Z. (2000) – Pharmacotherapy of epilepsy. **Neurologia Neurochirurgia Polska**. 34:Suppl. 8 (2000) 47-58.

OLIVEROS-JUSTE, A. [et al.] (1999) – Beneficio terapéutico de la monoterapia con lamotrigina. **Revista de Neurologia**. 29:12 (1999) 1277-1284.

OLLER, L.F.V.; RUSSI, A.; OLLER DAURELLA, L. (1991) – Lamotrigine in the Lennox-Gastaut Syndrome. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 58.

PECK, A.W. (1991) – Clinical Pharmacology of Lamotrigine. **Epilepsia**. 32:Suppl. 2 (1991) S9-S12.

PERUCCA, E. (1996) – The new generation of antiepileptic drugs: advantages and disadvantages. **British Journal of Clinical Pharmacology**. 42 (1996) 531-543.

PERUCCA, E. (2001) – Clinical pharmacology and therapeutic use of the new antiepileptic drugs. **Fundamental Clinical Pharmacology**. 15:6 (2001) 405-417.

PISANI, F. [et al.] (1991) – Lamotrigine in Patients with Refractory Epilepsy: A Follow-up of 33 Months. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 58.

RAMBECK, B.; WOLF, P. (1993) – Lamotrigine clinical pharmacokinetics. **Clinical Pharmacokinetics**. 25:6 (1993) 433-443.

RICHENS, A.; YUEN, A.W.C. (1991) – Overview of the Clinical Efficacy of Lamotrigine. **Epilepsia**. 32:Suppl. 2 (1991) S13-S16.

SANDER, J.W.A.S. [et al.] (1991) – Lamotrigine and Generalized Seizures. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 59.

SCHAPPEL, G.J. [et al.] (1991a) – Double-blind, Placebo-Controlled, Cross-Over Study of Lamotrigine in Treatment-Resistant Partial Seizures. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 58.

SCHAPPEL, G.J. [et al.] (1991b) – No Effect of Lamotrigine on Carbamazepine and Carbamazepine-Epoxyde Concentrations. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 58.

- SCHAUB, J.E.M. [*et al.*] (1994) – Multisystem adverse reaction to lamotrigine. **Lancet**. 344 (1994) 481.
- SCHLUMBERGER, E. [*et al.*] (1994) – Lamotrigine in Treatment of 120 Children with Epilepsy. **Epilepsia**. 35:2 (1994) 359-367.
- SECHI, G. [*et al.*] (1989) – Brain Interstitial Fluid and Intracellular Distribution of Phenytoin. **Epilepsia**. 30:2 (1989) 235-239.
- SERRANO-CASTRO, P.J.; SÁNCHEZ-ÁLVAREZ, J.C. (2001) – Controversias en torno a los nuevos fármacos antiepilépticos. **Revista de Neurología**. 32:2 (2001) 165-171.
- SHORVON, S.D.; FARMER, P.J. (1988) – Epilepsy in Developing Countries: A Review of Epidemiological, Sociocultural, and Treatment Aspects. **Epilepsia**. 29:Suppl. 1 (1988) S36-S54.
- SHORVON, S.D. (1990) – Epidemiology, classification, natural history, and genetics of epilepsy. **Lancet**. 336 (1990) 93-96.
- SILLS, G.J.; BRODIE, M.J. (2001) – Update on the mechanisms of action of antiepileptic drugs. **Epileptic Disorders**. 3:4 (2001) 165-172.
- SMITH, D. [*et al.*] (1991a) – Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Cross-Over Trial of Lamotrigine as Add-on Therapy in Patients with Refractory Epilepsy. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 59.
- SMITH, D. [*et al.*] (1991b) – Lamotrigine-Induced Well-Being in Epilepsy: Antiepileptic or Psychotropic Effect. **Epilepsia**. 32:Suppl. 1 (1991) 59.
- SPEAR, B.B. (2001) – Pharmacogenetics and Antiepileptic Drugs. **Epilepsia**. 42:Suppl. 5 (2001) 31-34.
- STEINER, T.J. [*et al.*] (1994) – Comparison of lamotrigine (Lamictal<sup>®</sup>) and Phenytoin Monotherapy in Newly Diagnosed Epilepsy. **Epilepsia**. 35:Suppl. 7 (1994) 61.
- STEINLEIN, O.K.; NOEBELS, J.L. (2000) – Ion channels and epilepsy in man and mouse. **Current Opinion Genetic Development**. 10:3 (2000) 286-291.
- STEWART, J.; HUGHES, E.; REYNOLDS, E.H. (1992) – Lamotrigine for generalised epilepsies. **Lancet**. 340 (1992) 1223.
- THE WELLCOME Foundation Ltd. (1996) – **LAMICTAL<sup>®</sup>: Product Monograph**. Manchester: The Wellcome Foundation Ltd., 1996. 91p.
- VAN ZUTPHEN, L.F.M.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A.C. (1993) – Animals models. In VAN ZUTPHEN, L.F.M.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A.C., ed. lit. – **Principles of Laboratory Animal Science**. Amsterdam: Elsevier, 1993. Chapter 10: p.189-196.

WALKER, M.C. [*et al.*] (2000) – Comparison of serum, cerebrospinal fluid and brain extracellular fluid pharmacokinetics of lamotrigine. **British Journal of Pharmacology**. 130 (2000) 242-248.

WHEATLEY, P.L.; MILLER, A.A. (1989) – Effects of Lamotrigine on Electrically Induced Afterdischarge Duration in Anaesthetised Rat, Dog, and Marmoset. **Epilepsia**. 30:1 (1989) 34-40.

YAU, M.K. [*et al.*] (1992) – Effect of Valproate on the Pharmacokinetics of Lamotrigine (Lamictal<sup>®</sup>) at Steady State. **Epilepsia**. 33:Suppl. 3 (1992) 82.

YUEN, A.W.C.; RAFTER, J.E.W. (1992) – Lamotrigine (Lamictal<sup>®</sup>) as Add-on Therapy in Pediatric Patients with Treatment-Resistant Epilepsy: An Overview. **Epilepsia**. 33:Suppl. 3 (1992) 82-83.

YUEN, A.W.C. (1994) – Lamotrigine: A Review of Antiepileptic Efficacy. **Epilepsia**. 35:Suppl. 5 (1994) S33-S36.