

Jamal Mário Paulino

**Monitorização plasmática e farmacocinética de novos
fármacos antiepiléticos em doentes com epilepsia refratária:
foco no levetiracetam**

Dissertação para obtenção ao grau de Mestre em Farmacologia Aplicada sob a orientação da Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna e pela Professora Doutora Anabela Almeida e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Jamal Mário Paulino

Monitorização plasmática e farmacocinética de novos fármacos antiepiléticos em doentes com epilepsia refratária: foco no levetiracetam

Dissertação de Mestrado em Farmacologia Aplicada orientada pela Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna e pela Professora Doutora Anabela Almeida apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

“Na vida, não existe nada a temer mas sim a aprender”

(Marie Curie)

AGRADECIMENTOS

Acredito que para realizar a presente tese foi necessária a ajuda de pessoas e instituições, e que sem elas não seria possível a sua realização.

Portanto, agradeço a toda equipa do Laboratório de Farmacologia e Cuidados Farmacêuticos, em particular ao Grupo de Investigação de Farmacométrie, liderado pelo Professor Doutor Amílcar Celta Falcão, por me ter dado a possibilidade de estagiar e aprender técnicas aplicadas em análise de amostras biológicas e análise farmacocinética.

Neste contexto, agradeço, em particular, à Joana Gonçalves e ao Rui Silva agradeço pelos ensinamentos e apoio em todas as fases de determinação de concentrações plasmáticas e no cálculo de parâmetros farmacocinéticos e estatístico.

Agradeço também a toda a equipa clínica, em particular Médicos e Enfermeiros, do Centro de Referência de Epilepsia Refratária do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra pela colaboração.

Agradeço à orientadora Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna: pela receptividade e prontidão quando demonstrei interesse em trabalhar na área de farmacocinética e pela paciência e rigor, portanto, foi principalmente graças a ela que foi possível obter conhecimento não só para a realização desta dissertação, mas também da parte prática subjacentes. Este agradecimento estende-se a co-orientadora Professora Doutora Anabela Almeida, pela colaboração neste trabalho.

Agradeço ao meu pai Mário José Paulino, já falecido, que sempre tudo fez para que continuássemos seguindo pela contínua busca de mais conhecimentos. À minha mãe Maia Isabel Fernando, pelo constante apoio que dá em todas as fases da minha vida pessoal e académica. À minha companheira Chana Figueira, que mesmo distante, esteve sempre pronta para me apoiar.

RESUMO

A Epilepsia é a doença neurológica que afeta mais de 50 milhões a nível mundial, dos quais cerca de 50 mil são Portugueses. Apesar de ser das doenças mais antigas e do variadíssimo arsenal de fármacos anticonvulsivantes atualmente prescritos, cerca de 1/3 dos doentes com epilepsia são refratários, não respondendo de forma adequada à medicação instituída. Tem-se vindo a verificar uma elevada variabilidade inter- e intra-individual na resposta farmacológica aos anticonvulsivantes de nova geração, tendo sido recentemente sugerido que os mesmos fossem monitorizados, recorrendo às concentrações plasmáticas, para contribuir para uma melhor individualização do regime posológico.

Assim, o presente estudo consistiu em determinar as concentrações plasmáticas de anticonvulsivantes de nova geração (acetato de eslicarbazepina, lacosamida, levetiracetam, oxcarbazepina e zonisamida) numa população de 103 doentes com epilepsia refratária. Verificou-se que cerca de 35,5% dos doentes estavam medicados com levetiracetam, em mono ou politerapia, e por isso foi realizado um segundo estudo para identificar fatores que influenciam a farmacocinética do levetiracetam. Para tal recorreram-se a três modelos farmacocinéticos cujas capacidades preditivas para estimar as concentrações plasmáticas de levetiracetam, foram avaliadas em diversas subpopulações de acordo com o sexo, idade, índice de massa corporal, taxa de filtração glomerular, *drug load* e presença (ou não) de outros anticonvulsivantes inibidores e/ou indutores enzimáticos.

Na generalidade, o modelo de farmacocinética populacional mais adequado para estimar as concentrações plasmáticas do levetiracetam na população em estudo é o modelo de Rhee *et al.* (2017), pois apresentou melhor exatidão e precisão para prever as concentrações plasmáticas de levetiracetam. A única exceção, foi aquando da co-administração de fármacos antiepilépticos indutores metabólicos, na qual se verificou que o modelo mais exto e preciso foi o de Toublanc *et al.* Assim, sempre que estiverem presentes fármacos indutores deverá ser usado o modelo de Toublanc *et al.* (2014). Quando não estão presentes fármacos antiepilépticos indutores e estão disponíveis o dado bioquímico necessário para estimar a taxa de filtração glomerular (albumina, azoto ureico e creatinina) deverá ser usado o modelo de Rhee *et al.* (2017).

A presente dissertação sugere um fluxograma de escolha do melhor modelo para estimar as concentrações plasmáticas do levetiracetam em função das características demográficas, clínicas e farmacológicas da população Portuguesa aqui estudada.

Palavras-chaves: monitorização terapêutica, modelos farmacocinéticos, epilepsia refratária, anti-epiléticos de nova geração, levetiracetam.

ABSTRACT

Epilepsy is the neurological disease that affects more than 50 million worldwide, of which about 50 thousand are Portuguese. Despite being one of the oldest diseases and the wide range of currently prescribed anticonvulsant drugs, about 1/3 of patients with epilepsy are refractory and do not respond adequately to the medication. High inter- and intra-individual variability has been observed in the pharmacological response to new generation anticonvulsants, and it has recently been suggested that they should be monitored also using plasma concentrations, to a better individualize the dosage regimen.

Thus, the present study consisted of determining plasma concentrations of new generation anticonvulsants (eslicarbazepine acetate, lacosamide, levetiracetam, oxcarbazepine and zonisamide) in a population of 103 refractory epilepsy patients. It was found that about 35.5% of the patients were taking levetiracetam in mono- or polytherapy and therefore, a second study was conducted to identify factors that influence the pharmacokinetics of levetiracetam. For this, three pharmacokinetic models were tested to evaluate their predictive abilities to estimate levetiracetam plasma concentrations. This investigation was performed in several subpopulations according to sex, age, body mass index, glomerular filtration rate, drug load and presence (or not) of other anticonvulsant inhibitors and / or enzyme inducers.

In general, the most appropriate population pharmacokinetic model to estimate plasma concentrations of levetiracetam in the herein studied population is the Rhee *et al.*, (2017), because it presented better accuracy and precision. The only exception was when co-administering metabolic inducing drugs, in which the most accurate and precise model was that of Toubanc *et al.* (2014).

Thus, whenever inducing drugs are present, the model of Toubanc *et al.* (2014) should be used. When no inducing antiepileptic drugs are co-administered and the biochemical data required to estimate the glomerular filtration rate (albumin, urea nitrogen and creatinine) are available, the model of Rhee *et al.* (2017) should be used.

The present dissertation suggests a flowchart to choose the best model to estimate plasma concentrations of levetiracetam as a function of the demographic, clinical and pharmacological characteristics of the Portuguese population herein studied.

Keywords: therapeutic monitoring, pharmacokinetic models, refractory epilepsy, new-generation antiepileptic drugs, levetiracetam.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	3
RESUMO	4
ABSTRACT	6
LISTA DE ABREVIATURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	11
I. INTRODUÇÃO	13
I.1. Epilepsia	13
I.2. Epilepsia fármaco-resistente	17
I.2.1. Mecanismos subjacentes à fármaco-resistência na epilepsia.....	20
I.2.2. Tratamento não farmacológico da epilepsia fármaco-resistente	23
I.2.3. Terapêutica Farmacológica da Epilepsia fármaco-resistente	24
I.2.4. Novos antiepiléticos estudados no presente trabalho	27
I.2.4.1. Levetiracetam	27
I.2.4.2. Lacosamida.....	30
I.2.4.3. Acetato de eslicarbazepina	31
I.2.4.4. Oxcarbazepina	32
I.2.4.5. Zonisamida.....	32
I.3. Farmacocinética populacional.....	34
2. OBJETIVOS	37
2.1. Objetivo geral.....	37
2.2. Objetivos específicos.....	37
3. METODOLOGIAS	38
3.1. Tipo de estudo e Seleção da amostra	38
3.2. Recolha de informação demográfica, clínica e farmacológica.....	39
3.3. Protocolo de quantificação plasmática dos antiepiléticos	39
3.3.1. Quantificação de lacosamida, levetiracetam e zonisamida em plasma humano	39
3.3.2. Quantificação de carbamazepina, carbamazepina-10,11-epóxido, oxcarbazepina e licarbazepina	40
3.4. Estimação dos parâmetros farmacocinéticos de levetiracetam.....	41
3.5. Estimação das concentrações plasmáticas do levetiracetam.....	42
3.6. Avaliação da capacidade preditiva absoluta de cada modelo farmacocinético	43
3.7. Avaliação dos fatores que influenciam nas concentrações plasmáticas de levetiracetam e a capacidade preditiva dos modelos.....	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1. Caracterização demográfica dos doentes com epilepsia fármaco-resistente.....	47

4.1.1. Caracterização demográfica geral.....	47
4.1.2. Caracterização demográfica de doentes com levetiracetam.....	48
4.2. Avaliação da capacidade preditiva absoluta dos modelos farmacocinéticos para estimar as concentrações plasmáticas de levetiracetam	50
4.3. Avaliação da influência dos fatores individuais nas concentrações plasmáticas e parâmetros farmacocinéticos do levetiracetam e na capacidade preditiva dos modelos farmacocinéticos.....	52
4.3.1. Avaliação da influência do género	52
4.3.2. Influência da idade.....	54
4.3.3. Influência da taxa de filtração glomerular (TFGe).....	56
4.3.4. Influência do índice de massa corporal (IMC)	59
4.3.5. Influência de indutores e/ou inibidores enzimáticos.....	61
4.3.6. Influência da <i>drug load</i> (DL).....	65
5. CONCLUSÃO	67
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	69
7. ANEXOS.....	75
7.1. Cromatograma	75
7.2. Cromatograma de uma amostra de plasma de um doente medicado com levetiracetam (LEV) onde o padrão interno utilizado é a antipirina (antip)	75
7.3. Resultados de concentrações determinadas apartir dos cromatogramas obtidos do HPLC	76

LISTA DE ABREVIATURAS

ALB: Albumina

ATC: Anatomical Therapeutic chemical

AUC: Área sob a curva da concentração plasmática

C/D: Concentração mínima estimada do modelo estabilizada a dose

Ce: Concentração mínima estimada pelo modelo

CICr: Clearance de creatinina

Cmax: Concentração plasmática máxima

Cmin: Concentração plasmática mínima

Cobs: Concentração determinada experimentalmente

Cr: Creatinina

CYP: Complexo de enzimático citocromo P450

D: Dose

DDD: Dose diária definida

DL: Drug load

DP: Desvio padrão

EEG: Electroencefalograma

EM: Erro médio

EQM: Erro quadrático médio

FDA: Food and Drug Administration

GABA: Ácido gama-aminobutírico

HPLC: Cromatografia líquida de elevada resolução

IMC: Índice de massa corporal

Ka: Constante de absorção

Ke: Constante de eliminação

MDRD: Modification of diet in renal disease

OMS: Organização Mundial de Saúde

REQM: Raiz do erro quadrático médio

SV2A: Proteína 2A da vesícula sináptica

Tau: Tempo do intervalo entre as doses

TFGe: Taxa de filtração glomerular

$T_{1/2}$: Tempo de semi-vida

UGT: Glucuronil-transferase.

LISTA DE TABELAS

Tabela II: Classificação das Crises Epiléticas.....	15
Tabela I2: Fármacos mais frequentemente administrados no tratamento/controlo dos diversos tipos de epilepsia no adulto.....	15
Tabela I3: Resumo de dados farmacocinéticos de alguns AEDs.....	34
Tabela M1: Equações utilizadas para estimar os parâmetros farmacocinéticos do levetiracetam.....	41
Tabela M2: Composição das diversas subpopulações tendo em conta os fatores demográficos, bioquímicos e farmacológicos que se pretendem analisar.....	44
Tabela M3: Dose Diária Definida para os anticonvulsivantes identificados na população em estudo.....	45
Tabela R1: Frequência relativa e frequência absoluta de cada fármaco anticonvulsivante monitorizado na população em estudo.....	47
Tabela R2: Distribuição de dados demográficos e antropométricos.....	49
Tabela R3: Características farmacológicas da população medicada com levetiracetam.....	50
Tabela R4: Valores médios de parâmetros farmacocinéticos estimados pelos três modelos testados.....	51
Tabela R5: Capacidade preditiva absoluta dos modelos testados.....	52
Tabela R6: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos por género.....	53
Tabela R7: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável género.....	54
Tabela R8: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos por faixas etárias.....	55
Tabela R9: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável idade.....	56
Tabela R10: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos de TFGe.....	58
Tabela R11: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável idade.....	59
Tabela R12: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos de IMC.....	60

Tabela RI3: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável IMC.....	61
Tabela RI4: Parâmetros farmacocinéticos nas diversas subpopulações criadas tendo em conta a coadministração ou não de outros antiepiléticos indutores/inibidores enzimáticos.....	62
Tabela RI5: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a coadministração ou não de outros antiepiléticos indutores/inibidores enzimáticos.....	64
Tabela RI6: Parâmetros farmacocinéticos nas diversas subpopulações criadas tendo em conta a <i>drug load</i> (DL).....	65
Tabela RI7: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável <i>drug load</i> (DL).....	66

I. INTRODUÇÃO

I.1. Epilepsia

A Epilepsia é a doença neurológica crónica mais comum e é frequentemente devastadora; afeta mais de 50 milhões de pessoas mundialmente, entre os quais cerca de 50 mil são Portugueses (Porto *et al.*, 2007).

As crises epiléticas manifestam-se através de alterações sensoriais, emocionais e/ou cognitivas (Costa *et al.*, 1992 citado por Porto *et al.*, 2007). O evento mais dramático de alguns quadros de epilepsia é a crise epilética que está associada a atividade hipersincrónica de um conjunto de neurónios do córtex cerebral e estruturas do hipocampo, cuja distribuição anatómica e duração determinam a natureza e severidade da crise (Avanzini e Franceschetti, 2002 citado por Porto *et al.*, 2007). As convulsões epiléticas comprometem, frequentemente, ainda que de forma transitória, a consciência do indivíduo, expondo-o a um maior risco de lesões físicas. A epilepsia caracteriza-se pela ocorrência destas crises epiléticas de forma recorrente e espontânea, interferindo na qualidade de vida do indivíduo, incluindo ao nível da educação e trabalho (Brunton, 2005).

A identificação de fatores etiológicos e da doença em seu estado inicial e o encaminhamento ágil e adequado para um tratamento individualizado melhoram o resultado terapêutico e o prognóstico dos casos clínicos.

Atualmente, o tratamento farmacológico da epilepsia é apenas sintomático pois faz-se uso de fármacos anticonvulsivantes que apenas controlam/previnem as convulsões, não tratando as células lesadas nem evitando o processo epileptogénico subjacente à epilepsia. É, assim, apenas profilático na tentativa de controlar as crises, o que lhe tem conferido um caráter crónico. Face ao exposto, a adesão ao tratamento com anticonvulsivantes é fundamental para controlar a doença e evitar a sua progressão, tornando-se imprescindível a avaliação frequente do doente por forma a otimizar o efeito terapêutico e minimizar as reações adversas (Brunton, 2005).

Atualmente, o conhecimento sobre a base fisiológica das descargas elétricas que acompanham as crises epiléticas é bem conhecido, no entanto os mecanismos de epileptogénese permanecem ainda pouco elucidados. Algumas hipóteses têm sido levantadas e evidenciadas com base em ensaios pré-clínicos e clínicos: Mutações ao nível dos canais iónicos de sódio e potássio dependentes de voltagem, hipersensibilidade nos canais de cálcio tipo T, hiperatividade glutamatérgica (regulação positiva de recetores ionotrópicos de

glutamato no hipocampo, níveis elevados de glutamato no plasma), GABA (ácido gama-aminobutírico) (quantidade do GABA reduzida na córtex cerebral, quantidade de recetores de benzodiazepinas reduzidos no núcleo talâmico médio, desenvolvimento adaptativo de mudanças de sensibilidade na neurotransmissão GABA-érgica, agravando assim o desequilíbrio da atividade excitatória/inibitória) e lesão neuronal do hipocampo revelada com base em estudos dos focos epileptogénicos proveniente da cirurgia de doentes com formas de epilepsias parciais, com redução da ativação das células gabaérgicas inibitórias (Engelborghs, D’Hooge e Deyn, De, 2000; Maio, Di, 2014). Novos mecanismos têm sido estudados, entre eles destacamos os seguintes (Maio, Di, 2014): evidências identificaram uma via de sinalização intracelular ativada por recetores de dopamina, conduzindo assim ao estudo de um novo alvo terapêutico (Bozzi e Borrelli, 2013). Mudanças na expressão do ácido hialurónico (maior componente da matriz extracelular neuronal) podem levar à hiperexcitabilidade e desregulação do cálcio (Vedunoya *et al.*, 2013); a morte celular neuronal tem sido implicada como um fator causal levando ao desenvolvimento do distúrbio epilético. As evidências científicas apoiam a ideia de que convulsões repetidas medeiam a necrose e a apoptose neuronal, predominantemente associadas a ativação de certas famílias distintas de fatores anti/pró-apoptóticas (Henshall e Engel, 2013).

Tendo em conta estes mecanismos, as crises epiléticas são, de acordo com (Manno, 2011; Scheffer *et al.*, 2017; Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014), classificadas como:

- **Crises epiléticas focais:** são aquelas em que as alterações semiológicas e electroencefalográficas iniciais sugerem ativação de um grupo de neurónios numa zona circunscrita de um hemisfério cerebral.
- **Crises epiléticas generalizadas:** são aquelas em que desde o início as alterações clínicas e electroencefalográficas surgem em ambos os hemisférios cerebrais ou seja, sinais motores e padrões encefalográficos são bilaterais.
- **Crises desconhecidas:** Sinais e sintomas insuficientes para caracterizar como focal, generalizada ou ambas.

Vários sub-tipos de crises epiléticas são ainda distinguidos conforme exposto de forma resumida na Tabela II e existem vários fármacos com atividade anticonvulsivantes que podem ser usados em cada um destes tipos (Tabela R2).

Tabela II: Classificação das Crises Epiléticas. (Adaptado de Scheffer *et al.*, (2017)).

Crises epiléticas generalizadas	Crises epiléticas focais	Crises epiléticas desconhecidas
<ul style="list-style-type: none"> • Tónico-Clónicas • Ausências • Mioclónicas • Clónicas • Tónicas • Atónicas 	Caracterizadas de acordo com uma ou mais características: <ul style="list-style-type: none"> • Motora • Autonómica Pode evoluir para crise convulsiva bilateral.	<ul style="list-style-type: none"> • Espasmos epiléticos • Outras

Tabela I2: Fármacos mais frequentemente administrados no tratamento/controlo dos diversos tipos de epilepsia no adulto. (Adaptado de Schmidt (2009) e Brunton (2011)).

Tipo de Epilepsia	Fármacos Anticonvulsivantes
1. Epilepsia focal	
Simplex (motora, autonómica)	Carbamazepina; fenitoína; gabapentina; lamotrigina; levetiracetam; oxcarbazepina; topiramato; valproato de sódio; zonisamida.
Complexa	Carbamazepina; fenitoína; gabapentina; lamotrigina; levetiracetam; oxcarbazepina; topiramato; valproato de sódio; zonisamida.
2. Epilepsia generalizada	
Tónico-clónicas	Carbamazepina; fenobarbital; fenitoína; primidona; valproato de sódio; lamotrigina; topiramato.
Ausências	Etossuximida; valproato de sódio; lamotrigina.
Mioclónicas	Valproato de sódio; lamotrigina; topiramato.

A escolha para o tratamento farmacológico de um tipo de convulsões, deve se basear em sua efetividade e segurança. De forma geral, os anticonvulsivantes distinguem-se entre os clássicos e os de nova geração. Antes de 1993, a escolha de um fármaco anticonvulsivante era limitada a fármacos da primeira geração, onde se incluem fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, valproato de sódio e etossuximida. Apesar dessa geração de fármacos ser efetiva e já bastante familiar entre os profissionais de saúde, muitos doentes permanecem com epilepsia refratária e com efeitos adversos intoleráveis, para além de grande possibilidade de ocorrência de interações devido as suas características farmacocinéticas. Dentro deste grupo, a fenitoína, a carbamazepina, o fenobarbital e a primidona são indutores de enzimas metabólicas hepáticas. Assim, os anticonvulsivantes clássicos apresentam como principais desvantagens: a margem terapêutica estreita, significativa variabilidade farmacocinética inter-individual que podem decorrer do polimorfismo genético, elevada ligação a proteínas plasmáticas, diminuindo a sua efetividade e segurança, para além de partilharem mecanismos de ação similares. Possuem curto espectro de ação, só o valproato de sódio, as benzodiazepinas e o fenobarbital exibem espectro largo de ação contra as crises convulsivas parciais e generalizadas, apesar da ineficácia dos barbitúricos contra as crises de ausência (Shaju e Abraham, 2013). Todos estes fatores, associados a uma margem terapêutica estreita e a uma elevada variabilidade inter- e intra-individual implicam a monitorização farmacocinética desta classe de fármacos, para melhorar a sua eficiência e a segurança e controlando melhor a doença (Patsalos *et al.*, 2008).

Desde 1993, foram aprovados mais de uma dezena de novos anticonvulsivantes na Europa. Esses fármacos de nova geração incluem a oxcarbazepina, acetato de eslicarbazepina, parampanel, levetiracetam, zonisamida, lacosamida, felbamato, tiagabina, vigabatrina, topiramato, lamotrigina, entre outros (Shaju e Abraham, 2013). Estes fármacos aumentaram o nível de controlo das convulsões que foram refratárias a fármacos da primeira linha. Esta nova geração de anticonvulsivantes tem a vantagem iminente de desencadear menos interações farmacológicas, mecanismos de ação diferentes e maior espectro de ação que os fármacos da primeira geração. Alguns dos novos anticonvulsivantes de largo espectro, principalmente a lamotrigina, topiramato, zonisamida, são úteis particularmente em doentes com múltiplos tipos de crises epiléticas, como as primariamente generalizadas. Isto porque, alguns desses novos anticonvulsivantes tendem a ser melhor tolerados do que os fármacos clássicos de largo espectro.

Quanto à eficácia, muitos estudos têm sido realizados comparando fármacos anticonvulsivantes novos e antigos. Oxcarbazepina é igualmente eficaz que carbamazepina, ácido valpróico e fenitoina. Lamotrigina é efetiva nas crises de ausência recentemente diagnosticada em crianças. Topiramato e lamotrigina são aparentemente efetivos como adjuvantes no tratamento de epilepsia generalizada idiopática no adulto e crianças, bem como no tratamento da síndrome de Lennox Gastaut (Shaju e Abraham, 2013). Levetiracetam reduziu em 50% as crises convulsivas parciais e é efetivo como adjuvante nas crises epilépticas parciais refratárias (Careghino e Biton, 2000) citado por Shaju e Abraham, 2013). A lamotrigina demonstrou maior frequência de supressão de convulsões após 12 meses, com 54%, seguida de levetiracetam (43%), quando comparado com a fenitoina e carbamazepina (Shaju e Abraham, 2013). Teoricamente, os fármacos de nova geração não requerem monitorização terapêutica pois apresentam margens terapêuticas mais amplas.

Ainda assim, apesar da diversa panóplia de fármacos disponíveis na prática clínica, cerca de 1/3 dos doentes com epilepsia, permanecem refratários, apresentando crises epiléticas mesmo quando medicados com pelo menos dois antiepiléticos adequados para o tipo de crise diagnosticada (Schulze-Bonhage, 2017).

Uma vez que no presente trabalho, a população em estudo consiste em doentes com epilepsia refratária, esta será descrita pormenorizadamente nas secções seguintes.

1.2. Epilepsia fármaco-resistente

Em países desenvolvidos, aproximadamente 1/3 dos indivíduos com epilepsia não têm as crises adequadamente controlada com fármacos anticonvulsivantes, (Picot *et al.*, 2008) o que pode sugerir tratar-se de uma epilepsia resistente a esses fármacos.

Há muitas definições para epilepsia fármaco-resistente, também designada de epilepsia refratária. Muitos estudos definem de acordo com o número de fármacos antiepiléticos que não tiveram sucesso, com a frequência das convulsões, com a duração da doença e com o período de remissão. A definição mais reconhecida e aceite internacionalmente considera a epilepsia fármaco-resistente quando não há controlo das convulsões com 2 ou mais medicamentos anticonvulsivantes apropriados ao tipo de epilepsia nas doses máximas toleradas (Pati e Alexopoulos, 2010; Weerasak Chonchaiya, MDa, b, Andrea Schneider, PhDa, c, and Randi J Hagerman, MDa, 2009) ou seja a Liga Internacional para o Combate da Epilepsia (ILAE, do inglês International League Against Epilepsy) sugere que, pode considerar-

se uma pessoa com epilepsia refratária, se 2, 3 ou mais medicamentos anticonvulsivantes não tiverem sido eficazes nem mesmo nas doses máximas toleradas.

Têm sido associados vários fatores de risco para o desenvolvimento da epilepsia fármaco-resistente, e que devem ser, desde o início do diagnóstico de epilepsia, tidos em conta (Pati e Alexopoulos, 2010):

- Histórico de não controlo crises convulsivas anteriormente;
- Doentes com mais que um tipo de crises epiléticas;
- Etiologia sintomática anterior (histórico de infeção cerebral ou trauma cerebral);
- Anormalidades estruturais (displasia cortical);
- Certas anormalidades no eletroencefalograma (EEG);
- Morbilidade cognitiva;
- História de estado de mal epilético.

É, no entanto, importante ter consciência que há situações que podem estar subjacentes à “falsa” epilepsia fármaco-resistente (Pati e Alexopoulos, 2010):

- Comportamento inapropriado do doente: não adesão à terapêutica farmacológica e/ou estilo de vida prejudicial;
- Dose inapropriada com consequente concentração fora da margem terapêutica, ajuste das doses sem correlação clínica, ou ambos;
- Fatores farmacocinéticos: alguns doentes podem responder melhor aos medicamentos anticonvulsivantes no limite inferior da margem terapêutica enquanto outros requerem e toleram melhor altos níveis sem toxicidade;
- Erro de diagnóstico do tipo de epilepsia levando à seleção errada do medicamento anticonvulsivante: erro de diagnóstico de convulsões do lobo temporal por crise de ausência, ou vice-versa;
- Erro de diagnóstico de epilepsia: doentes com convulsões não epiléticas, de origem psicogénica que serão inapropriadamente tratados com múltiplos medicamentos anticonvulsivantes.

Assim, doentes que não respondem a fármacos ou que respondem apenas parcialmente, continuam incapacitados com convulsões, desenvolvendo problemas neuropsiquiátricos e sociais, reduzida qualidade de vida, grande morbilidade e alto risco de morte (Pati e Alexopoulos, 2010). De facto, doentes com epilepsia fármaco-resistente apresentam um

risco de morte 2 a 10 vezes superior que a população em geral e estão mais vulneráveis a desenvolver complicações, entre as quais se destacam:

a) Depressão e ansiedade

É a co-morbilidade mais comum da epilepsia, com uma incidência superior a 35%. Há evidências que sugerem uma ligação orgânica entre convulsões do lobo temporal e a depressão. Estes doentes estão em risco de desordens disfóricas, incluindo suicídio. Esta condição compromete a qualidade de vida e não é, muitas vezes, reconhecida como um problema grave que é.

b) Desordens cognitivas

Desordens no conhecimento coexistem frequentemente com a epilepsia e podem comprometer a função normal, mesmo quando a frequência das convulsões estão reduzidas. Estudos de neuroimagem avançada identificaram correlações estruturais com défices cognitivas.

c) Desordens metabólicas

Fármacos anticonvulsivantes têm uma série de efeitos metabólicos, que precisam de ser monitorados a longo termo, como o metabolismo ósseo, função reprodutiva, risco cardiovascular. Muitos destes efeitos são mediados por enzimas microsossomais hepáticas.

d) Estilo de vida

O impacto da epilepsia fármaco-resistente na qualidade de vida individual é altamente variável. Dependendo de circunstâncias, a maioria dos pacientes precisará de suporte com educação, lazer, emprego. Estas necessidades devem estar acauteladas pelos serviços de neurologia.

e) Morte súbita

O tipo de morte mais frequente é a morte inesperada e repentina e morte por outras causas em epiléticos em geral (trauma acidental, queimaduras, afogamento).

I.2.1. Mecanismos subjacentes à fármaco-resistência na epilepsia

Várias hipóteses têm sido postuladas para justificar o desenvolvimento da epilepsia fármaco-resistente. Entre elas, destacam-se a farmacocinética, da rede neuronal, severidade intrínseca, genes variantes, recetores e a dos transportadores que serão explicadas de seguida.

a) Hipótese farmacocinética

Esta hipótese propõe que há uma sobre-expressão de transportadores de efluxo, nomeadamente a glicoproteína-P (gp-P) nos órgãos periféricos (intestino, fígado, rins, barreira hematoencefálica) que reduz a concentração plasmática de anticonvulsivantes como consequência de reduzir a sua absorção e acelerar a sua eliminação. Consequentemente, a quantidade de fármaco disponível para atravessar a barreira hemato-encefálica e alcançar o foco epiléptogénico no cérebro está também diminuída (Lazarowski *et al.*, 2007). Em relato de caso de um paciente pediátrico com epilepsia refratária, Lazarowski *et al.* (2004) detetaram níveis plasmáticos persistentemente baixos de carbamazepina, fenitoína e ácido valpróico. Isso coincidiu com níveis aumentados de expressão da gp-P em células endoteliais, astrócitos e neurónios do tecido cerebral removido (Tang, Hartz e Bauer, 2017). Muitos estudos sugerem associação entre sobre-expressão de enzimas metabólicas periférica e de transportadores de efluxo com as concentrações plasmáticas de anticonvulsivantes (Tang, Hartz e Bauer, 2017).

b) Hipótese de rede neuronal

Esta hipótese afirma que a degeneração e remodelação induzida por convulsões na rede neural, suprimem o sistema endógeno de “anti-criSES” e inibem os anticonvulsivantes de aceder aos alvos neuronais (Tang, Hartz e Bauer, 2017). Especificamente, Fang *et al.* (2011) mostraram que a neurogênese e a astrogliose que ocorrem na epilepsia do lobo temporal poderiam contribuir para o desenvolvimento de redes neurais anormais e, eventualmente, resistência a fármacos anticonvulsivantes. No entanto, a principal fraqueza desta hipótese é que alterações na rede neural não levam à refratariedade em todos os doentes com epilepsia, e, portanto, evidências biológicas adicionais sobre eventuais diferenças nas mudanças no potencial eléctricos das células cerebrais entre epilepsia responsiva e a fármaco-resistente são necessárias para sustentar essa hipótese (Fang *et al.*, 2011, citado por Tang, Hartz e Bauer, 2017).

c) Hipótese da severidade intrínseca

A hipótese da gravidade intrínseca afirma que fatores neurobiológicos comuns contribuem para a gravidade da epilepsia e para o desenvolvimento da fármaco-resistência (Rogawsk e Johnson, 2008). Enquanto esta teoria parece biologicamente plausível, não se aplica adequadamente ao tipo de epilepsia em que se demonstra um padrão flutuante ou em evolução da resistência a anticonvulsivantes (Rogawsk e Johnson, 2008, citado por Tang, Hartz e Bauer, 2017). Além disso, há pouca evidência que apoiem uma ligação mecanicista direta entre a gravidade da epilepsia e a resposta do anticonvulsivante (Schmidt e Loscher, 2009, citado por Tang, Hartz e Bauer, 2017). Portanto, tem sido sugerido que a teoria intrínseca da gravidade, por si só, não explica suficientemente a fármaco-resistência na epilepsia (Schmidt e Loscher, 2009).

d) Hipótese de genes variantes

A hipótese da variante genética afirma que as variações nos genes associados à farmacocinética e farmacodinâmica do agente anticonvulsivante causam fármaco-resistência inerente (Loscher e Schmidt, 2011). Especificamente, variações nos genes que codificam enzimas que metabolizam anticonvulsivantes, canais iônicos e recetores de neurotransmissores visados por anticonvulsivantes podem potencialmente afetar a resposta a esse grupo de fármacos (Depondt, 2006, citado por Tang, Hartz e Bauer, 2017).

Atualmente, há evidência mais forte desta hipótese que consiste na associação entre o polimorfismo da isoforma do complexo enzimático citocromo P450 (CYP) 2C9 e a necessidade de ajuste de dose da fenitoína. Apesar da relação entre os vários polimorfismos de canais de sódio dependentes de voltagem subunidade 1 e 2 (SCN1A e SCN2A) e o requisito de dose ser explorada em vários estudos de associação genética, os resultados dos estudos não têm sido consistentes, e as associações genéticas identificadas até ao momento precisam de confirmação adicional em populações maiores. Além disso, dado a baixa frequência de certos alelos e a natureza multifatorial da epilepsia refratária é possível que marcadores individuais não tenham impacto clínico suficiente na resposta global aos anticonvulsivantes (Kwan *et al.*, 2008).

e) Hipótese de recetores-alvo

A hipótese dos recetores-alvos na epilepsia refratária postula que alterações nas propriedades dos alvos com o transtorno do espectro autista, tais como alterações na composição dos canais iônicos dependentes de voltagem e recetores de neurotransmissores,

diminuem a sensibilidade ao fármaco e, portanto, levam à refratariedade (Remy *et al.*, 2003). Por exemplo, a perda de bloqueio de canais de sódio dependentes de voltagem em células granulares por carbamazepina foi observada em ratos após epilepsia induzida por pilocarpina e em tecido hipocampal removido de doentes com epilepsia do lobo temporal resistente a carbamazepina (Remy *et al.*, 2003, citado por Tang, Hartz e Bauer, 2017).

f) Hipótese de transportadores de fármacos

A resistência a múltiplos fármacos devido à expressão de transportadores de efluxo tem sido estudada extensivamente em células tumorais. Os transportadores de efluxo melhor compreendidos são membros da superfamília ATP-binding cassette (ABC), subfamílias B, C e G, especificamente a gp-P (codificada pelo gene *ABCB1*), as proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos (MRP1, codificada pelo gene *ABCC1*; MRP2 codificada pelo gene *ABCC2*) e proteína de resistência ao cancro da mama (BCRP, codificada pelo gene *ABCG2*) (Sisodiya *et al.*, 2006).

A hipótese do transportador é baseada em dois factos (Tang, Hartz e Bauer, 2017): a super-expressão dos transportadores de efluxo que se correlaciona com a fármaco-resistência na epilepsia e o facto dos fármacos anticonvulsivantes serem sujeitos ao transporte ativo mediado por aqueles transportadores de efluxo.

Glicoproteína-P

A gp-P, antigamente conhecida como MDR1, é codificada pelo gene *ABCB1* em humanos e pelos genes *abcb1a/abcb1b* em roedores (Potschka e Loscher, 2001).

A proteína gp-P é expressa em vários tecidos das barreiras membranares e tecidos excretores como intestino, fígado e rim, onde exporta ativamente moléculas hidrofóbicas e anfipáticas do interior das células ou membranas para o exterior, a gp-P parece ser expressa em maior quantidade no foco epileptogénico de doentes com epilepsia do que em tecido cerebral saudável (Dombrowski *et al.*, 2001; Stępień *et al.*, 2012). Esta função fisiológica de exportar toxinas e xenobióticos que ocorrem naturalmente é considerada ser um mecanismo de defesa crítico (Sills *et al.*, 2002, citado por Tang, Hartz e Bauer, 2017).

Verificou-se também que em tecido cerebral humano normal, a gp-P é expressa na membrana plasmática luminal das células endoteliais dos capilares sanguíneos da barreira hemato-encefálica bem como na membrana apical das células epiteliais do plexo coroíde que formam a barreira do sangue-líquido cefalorraquidiano (Ashraf, Kao e Bendayan, 2014).

Apesar da introdução de novas gerações de anticonvulsivantes, a fármaco-resistência continua sendo um dos maiores desafios no tratamento da epilepsia. A hipótese mais citada de epilepsia refratária, é a hipótese do transportador, que está fortemente apoiada por evidências pré-clínicas e clínicas. No entanto, outros aspetos permanecem controversos, especialmente a relevância clínica da sobre-expressão do transportador de efluxo e pelo facto de vários anticonvulsivantes serem *in vitro* substratos e/ou indutores destes transportadores (Tang, Hartz e Bauer, 2017).

Está claro, que a partir das evidências atuais, a fármaco-resistência da epilepsia é um fenómeno multifatorial, e trabalho é necessário para reforçar e integrar as teorias atuais com o objetivo final de orientar o desenvolvimento de melhores terapias de epilepsia (Tang, Hartz e Bauer, 2017). Atualmente são utilizadas diferentes estratégias terapêuticas conforme se descreverá de seguida.

1.2.2. Tratamento não farmacológico da epilepsia fármaco-resistente

Nos doentes com epilepsia fármaco-resistente, há que considerar tratamentos não farmacológicos, incluindo cirurgia, para isso, é necessário a revisão por perito em semiologia de convulsões, classificação da epilepsia e imagem, entre outros. A seguir, são descritos resumidamente os mais frequentes tratamentos não farmacológicos, segundo (Pati e Alexopoulos, 2010):

a) Dieta cetogénica

É uma alternativa importante, reservada para jovens com dificuldades de controlo de crises. Foi desenvolvida originalmente há séculos atrás, a dieta age com mecanismos iguais a fome. Rica em gorduras e pobre em hidratos de carbono e proteínas. Precisa de controlo médico e dietista. Dados em adultos são escassos, mas foram demonstrados benefícios em uma série de casos (Pati e Alexopoulos, 2010).

b) Estimulação do nervo vago

É uma alternativa para adultos e adolescentes com mais de 12 anos, com epilepsia focal não tratável e não candidatos a cirurgia. Sua efetividade é pouco clara, mas publicações de série de casos demonstraram o seu benefício. O dispositivo é aplicado subcutaneamente, constituindo de um pulso gerador no precórdio e conectado ao nervo vago. Notavelmente, a estimulação do nervo vago, não apresenta efeitos adversos cognitivos, como com o uso de

fármacos anticonvulsivos. No mínimo 1/3 dos doentes que recebe este tratamento, demonstra resposta sustentável, definida em 50% ou maior. Contudo, há pouca documentação de casos de supressão de convulsões e sua eliminação, ainda é considerada terapia paliativa. Infelizmente, não é possível prever que tipo de doentes pode beneficiar desta terapia (Pati e Alexopoulos, 2010).

c) Cirurgia

O uso racional deste tipo de terapia na epilepsia fármaco-resistente, é a eliminação ou redução significativa da propensão para desenvolver crises convulsivas espontâneas, removendo o *focus* epilético (Pati e Alexopoulos, 2010). Muitos fatores têm que ser considerados durante a avaliação especializada multidisciplinar, antes respondendo-se as seguintes questões sobre o doente candidato a cirurgia, com convulsões intratáveis (Pati e Alexopoulos, 2010):

- Foi diagnosticada corretamente a epilepsia?
- É epilepsia focal?
- Se convulsões são controladas depois de uma adequada investigação farmacológica?
- Os efeitos adversos aos medicamentos anticonvulsivantes ou as convulsões afetam significativamente a qualidade de vida do doente?
- A lesão epileptogénica pode ser vista, e qual é a suspeita?
- Há evidências convergentes para um único *focus* epileptogénico?
- Quais são as mudanças para bons resultados em termos do controlo de convulsões e melhorias na qualidade de vida? Quais os riscos da cirurgia, se comparado ao risco de não fazer a cirurgia? Qual é a perceção do doente e atitudes sobre a crise?

Estas recomendações para a cirurgia, devem ser feitas depois de uma conferência multidisciplinar de análise e cuidado ao doente. A decisão do tratamento deve ter em conta, o possível impacto da cirurgia e circunstâncias psicossociais.

1.2.3. Terapêutica Farmacológica da Epilepsia fármaco-resistente

A seleção de um fármaco ideal nesta doença é crucial para o sucesso da terapêutica mas um desafio clínico face às características fisiopatológicas já expostas nas secções anteriores da presente monografia. Doentes com epilepsia recentemente diagnosticada podem iniciar o tratamento com um fármaco tradicional como carbamazepina, fenitoína, fenobarbital ou com novos fármacos como lamotrigina, gabapentina, oxcarbazepina, topiramato ou levetiracetam.

A escolha deve ser ajustada às características individuais do doente (Schmidt, 2009; Shaju e Abraham, 2013).

Os princípios gerais aplicados no controlo da epilepsia fármaco-resistente incluem: revisão do diagnóstico e classificação, rever os medicamentos anticonvulsivantes em uso e usados anteriormente, considerar tratamentos não farmacológicos, considerar co-morbilidades e perceber o estilo de vida, otimizar a qualidade de vida (Mohanraj, [s.d.]). Em doentes com epilepsia fármaco-resistente, o potencial de controlar as convulsões com medicamentos anticonvulsivantes, não é único fator a ter em conta na escolha destes fármacos. Em muitos casos, é importante avaliar os efeitos adversos porque comprometem a qualidade de vida mais que as próprias convulsões (Lloyd A *et al.*, 2005).

Esta condição tem vindo a ser tratada através da associação de medicamentos orais anticonvulsivantes de nova geração nomeadamente, o levetiracetam, lacosamida, eslicarbazepina, clobazam, lorazepam, midazolam, tiagabina, lamotrigina, oxcarbazepina, topiramato, parampanel, só/ou com os de antiga geração como ácido valproico, fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, entre outros.

Doentes com convulsões prolongadas que não respondem a benzodiazepinas endovenosa e medicamentos anticonvulsivantes da 2ª linha, sofrem de estado epilético refratário e aqueles que não respondem a terapia anestésica anticonvulsivante endovenoso contínua, sofrem de estado epilético super-refratário (Holtkamp, 2018).

O estado epilético focal complexo refratário geralmente não necessita de anestésico para o seu tratamento, mas todos os medicamentos anticonvulsivantes endovenosos, não-anestésico pode ser usado (levetiracetam, ácido valproico, fenitoína). Estado epilético convulsivo generalizado refratário é uma emergência ameaçadora para a vida e com consequências clínicas graves eminentes para a vida, o uso de medicamentos anticonvulsivantes anestésicos que atuam sobre o recetor GABA é obrigatório (midazolam, propofol, e tiopental/pentobarbital) são recomendadas, sem preferência para cada uma delas. Um em cada 5 doentes com tratamento anestésico, não responde e isto significa que tem estado epilético super-refratário. Com o controlo das convulsões, o recetor excitatório N-metil-D-aspartato (NMDA), é cada vez mais expresso pós-sinápticamente. A ketamina é antagonista deste recetor e prova ser eficiente em alguns pacientes em estádios mais tardios (Holtkamp, 2018).

Em um estudo nos EUA, 57% dos doentes que falharam em estudos com dois medicamentos anticonvulsivantes diferentes, subsequentemente tiveram até um 1 ano de período de remissão da doença, repetidas remissões e recaídas, foram comuns (Weerasak Chonchaiya, MDa, b, Andrea Schneider, PhDa, c, and Randi J Hagerman, MDa, 2009). Depois de 10 anos de seguimento, desde a falha do segundo medicamento anticonvulsivante, 37% dos doentes estiveram livres de convulsões, e 23% tiveram pelo menos 3 anos livres de convulsões. Entre estes casos que ficaram livres de convulsões, houve contacto com um número desproporcional de síndrome idiopática tradicional. Contudo, 50% do grupo idiopático, se comparado com só 20% do grupo focal e 18% do grupo de encefalopatia epilética, estiveram em remissão no último contacto (Weerasak Chonchaiya, MDa, b, Andrea Schneider, PhDa, c, and Randi J Hagerman, MDa, 2009).

Com 112 doentes com epilepsia fármaco-resistente, dos quais 108 diagnósticos com epilepsia focal. A politerapia foi usada em 68 pacientes com 3 ou mais medicamentos anticonvulsivantes e monoterapia foi usada em apenas 6 pacientes fazendo carbamazepina ou valproato de sódio ou lamotrigina. Aproximadamente 52% dos doentes falhou a terapia medicamentos anticonvulsivantes em doses máximas toleradas com 3 ou mais medicamentos anticonvulsivantes, usados sequencialmente ou mais frequentemente em combinação, sendo eventualmente classificado como nível 3 de fármaco-resistência (Freitas-lima *et al.*, 2013).

Novas abordagens no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento da epilepsia, incluem modelos crónicos da doença para seleção dos fármacos direcionados para a epileptogénese primária ou secundária, em vez de focar só na supressão das convulsões agudas. Estas abordagens, trazem a esperança de que no futuro poderão estratificar-se pacientes por alvos terapêuticos selecionados e isto melhorará a eficácia em grupos possivelmente resistentes (Schulze-Bonhage, 2017). Por outro lado, na tentativa de melhorar o sucesso da farmacoterapia na epilepsia refrataria, tem sido sugerida uma terapia individualizada, monitorizando a doença por eletroencefalografia (EEG) mas também as concentrações plasmáticas dos antiepiléticos por forma a garantir que sejam eficazes e seguras. De facto, apesar da margem terapêutica de antiepiléticos de nova geração ser mais ampla do que as dos antiepiléticos clássicos, a variabilidade farmacocinética associada aos de nova geração é muito significativa exigindo a monitorização farmacocinética dos mesmos e uma farmacoterapia individualizada.

Neste sentido, no presente trabalho foram monitorizadas as concentrações plasmáticas dos antiepiléticos de nova geração, os quais serão descritos nas secções seguintes.

I.2.4. Novos antiepiléticos estudados no presente trabalho

Os novos antiepiléticos avaliados no presente trabalho incluíram levetiracetam, oxcarbazepina, acetato de eslicarbazepina, lacosamida, zonisamida, os quais apresentam mecanismos de ação complementares, alguns similares aos fármacos clássicos outros totalmente diferentes.

I.2.4.1. Levetiracetam

Embora o mecanismo do levetiracetam não esteja totalmente elucidado, acredita-se que inibe parcialmente a corrente de cálcio, e reduz a liberação de N-tipo cálcio das reservas inter-neuronais; inverte parcialmente a redução das correntes do GABA e glicina induzidas por beta-carbolina e binco; Se associa à proteína 2A da vesícula sináptica (SV2A), envolvida na fusão de vesículas e exocitose de neurotransmissores (glutamato), este último mecanismo diminui a liberação de neurotransmissores na junção sináptica, provocando o efeito anticonvulsivo e é o mecanismo que o diferencia dos outros medicamentos anticonvulsivantes (Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014).

O SV2A ganhou muita atenção depois da sua identificação, como um local de ligação dos medicamentos anticonvulsivantes, e sua correlação com a afinidade ao levetiracetam e sua eficácia ao diminuir a quantidade pré-sináptica do glutamato liberada, particularmente em neurónios em repouso e os de alta frequência de excitabilidade (Gillard e Wood, 2017; Madeo, Kovács e Pearce, 2014). O mecanismo pelo qual o levetiracetam modula a função da SV2A, não está totalmente elucidado, mas os resultados indicam que inibe o transporte do SV2A-mediado por galatose, podendo ser este mecanismo de ação ou fator que contribui para a sua atividade antiepiléptica e neuroprotetora (Madeo, Kovács e Pearce, 2014).

O glutamato no sistema nervoso central atua como ionotrópico e metabotrópico em recetores pós-sinápticos. Os recetores ionotrópicos (N-metil-D-aspartato: NMDA e Kainato) permitem o influxo do sódio e cálcio quando ativados, resultando em despolarização dos neurónios pós-sinápticos. Os recetores metabotrópicos contidos em membranas, atuam em canais iónicos, que quando ativados, uma série de ações modificam proteínas-alvo (Crepeau e Sirven, 2017).

O levetiracetam está atualmente indicado em monoterapia de crises focais com ou sem generalização secundária em doentes com 16 anos ou mais; e como terapia adjuvante de crises focais com ou sem generalização secundária em pacientes com 1 mês ou mais, crises

mioclónicas em adultos ou adolescentes com 12 anos ou mais, crises primariamente tónico-clónicas generalizadas em adultos e adolescentes acima de 12 anos com epilepsias generalizadas idiopáticas. Usa-se também para avaliar eficácia e segurança com dose de carga em pacientes com epilepsia fotossensível durante a realização rotineira de EEG (Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014).

A dose do comprimido de liberação prolongada é de 250 e 500 mg 12 em 12 horas até um máximo de 3000 mg, crianças 5 a 10 mg/Kg doses máximas 40 a 60 mg/Kg (3000 mg máximo), maior depuração nas crianças (Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014). A margem terapêutica do levetiracetam é de 6 a 20 mg/L (35 a 120 $\mu\text{mol/L}$), apresentando uma farmacocinética linear entre as doses de 500 a 5000 mg por dia.

Num ensaio clínico randomizado de doentes com epilepsia fármaco-resistente, com 883 doentes, controlado com placebo, a eficácia foi supressão das convulsões em 15, 17, 17% dos casos, nos dias 1, 2, 3 de tratamento, respetivamente, para o grupo fazendo 1000 mg do levetiracetam ($p < 0,001$). Para o grupo fazendo LEV 333 mg a supressão das convulsões foram em 7, 9, 9% dos casos, nos dias 1, 2, 3 respetivamente, diferença não significativa (French e Arrigo, 2005). Outros 4 estudos multicêntricos com levetiracetam como terapia adjuvante, envolvendo mais que 1000 doentes, demonstrou resposta de 32 a 48% nas doses de 2000 a 3000 mg/dia. Um estudo de Betts *et al.*, avaliou a sua eficácia e tolerabilidade, nas doses de 2000 e 4000 mg/dia iniciadas sem titulação e os dois foram bem tolerados, mas curiosamente, melhores níveis de resposta se verificaram no grupo fazendo 2000 mg/dia (LaRoche e Helmers, 2004).

Efeitos adversos comuns do levetiracetam em ensaios clínicos incluem sonolência, astenia, dores de cabeça e infeções. A maioria dos efeitos adversos ocorrem nas primeiras 4 semanas e não parecem ser dose-dependentes. Distúrbios de comportamento como agitação e ansiedade, foram relatados em acima de 13% em estudos de coorte (LaRoche e Helmers, 2004).

No que respeita à sua farmacocinética, o levetiracetam apresenta uma absorção intestinal rápida e completa, sendo a concentração plasmática máxima (C_{max}) atingida 1,3 horas após a administração e a biodisponibilidade maior que 95%. O seu volume de distribuição varia de 0,5 a 0,7 L/Kg e o estado estacionário é atingido após 24 a 48 horas (Patsalos, 2004). Cerca de 65% é excretada via renal, clearance renal 0,96 mL/min/kg (Thomson e Montvale, 2007). A tempo de semi-vida de eliminação em adultos voluntários, adultos epiléticos, crianças epiléticas e idosos voluntários foi 6-8, 6-8, 5-7 e 10-11 horas, respetivamente (Patsalos,

2004). Aproximadamente 34% do levetiracetam é metabolizado no sangue por hidrólise (não hepática) e 66% é excretado na forma inalterada pela urina como referido por outros autores acima. Portanto, não é metabolizado pelo complexo enzimático CYP, sendo maioritariamente metabolizada por enzimas hidrolíticas do grupo acetamida, produzindo metabólitos do ácido carboxílico (24%) e outros com anel 2-oxo-pirrolidina (2%). Consequentemente, as interações clinicamente relevante são poucas. Como é excretado por via renal, a sua clearance é dependente da clearance da creatinina e, conseqüentemente, o ajuste de doses é necessário para doentes epiléticos com problemas renais moderados a severos (Patsalos, 2004). De facto, em insuficientes renais a clearance do levetiracetam diminui em 40% quando a clearance da creatinina (ClCr) está compreendida entre 50 e 80 mL/min, em 50% para valores de ClCr entre 30 e 50 mL/min e em 60% nos doentes com insuficiência renal grave (ClCr<30 mL/min). Indubitavelmente a monitorização terapêutica do levetiracetam tem de ser feita em doentes com insuficiência renal. Já em indivíduos com insuficiência hepática não se observaram alterações de parâmetros farmacocinéticos do levetiracetam, não requerendo ajustes de dose (David e Lackington, 2002). De forma similar, um estudo retrospectivo de comparação dos valores de clearance aparente do levetiracetam em jovens de 16 a 31 anos e idosos de 55 a 88 anos de idade, um total de 629 indivíduos, foi necessário reduzir em 40% a dose para obter níveis do grupo de jovens, houve ainda maior incidência de sonolência, efeitos psiquiátricos no grupo de idosos. Verificou-se também que, em idosos, a clearance do levetiracetam diminuiu em 30% e o tempo de meia-vida aumentou 2,5 horas em relação aos adultos jovens provavelmente por diminuição da função renal nesta faixa etária.

Assim, apesar das suas características serem altamente favoráveis, o que o torna seu uso simples (Patsalos, 2004), o levetiracetam tem de ser sujeito a monitorização farmacocinética durante a gravidez e em doentes com insuficiência renal, uma vez que a sua clearance e distribuição estão alteradas.

É de destacar ainda que, apesar de ser considerado um fármaco ideal e com potencial *minor* para desencadear interações farmacológicas, tem-se verificado que quando o levetiracetam é co-administrado com outros fármacos anticonvulsivantes em elevadas doses, a prevalência de reações adversas aumenta significativamente, principalmente ao nível cognitivo (Witt e Helmstaedter, 2015).

O levetiracetam pode sofrer algumas interações farmacológicas clinicamente relevantes, entre elas, destacam-se as com ácido valpróico, o qual aumenta até 66% os níveis

plasmáticos de levetiracetam, enquanto a lamotrigina e a oxcarbazepina parecem elevar a depuração do levetiracetam (Bauer, Pfeiffer e Burr, 2010; Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014). A fenitoína e a carbamazepina aumentam a eliminação do levetiracetam em 39% e o fenobarbital aumenta a sua eliminação em 12% (Bauer, Pfeiffer e Burr, 2010; Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014).

1.2.4.2. Lacosamida

A lacosamida é um fármaco anticonvulsivantes da 3ª geração capaz de inativar os canais de sódio lentos dependentes de voltagem, reduzindo a hiperatividade neuronal ectópica e deixando intacta a atividade das células normais (Halford e Lapointe, 2009 citado por Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014, 2014). Também inibe a proteína-2-mediadora da resposta a colapsina por meio da qual pode inibir o crescimento neuronal na epilepsia crónica (Beyreuther *et al.*, 2007 citado por Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014) e exercer efeito protetor mediante redução da excitotoxicidade induzida pelo glutamato, o que contribui também para sua eficácia (Buck e Goodkin, 2012 citado por Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014).

É usada como terapia adjuvante em crises de início focal em doentes adultos e também em crises focais com ou sem generalização secundária. Em estudos com doentes com epilepsia focal refratária, observou-se redução na frequência de crises igual ou superior a 50% em 30 a 40% dos indivíduos (Buck e Goodkin, 2012, citado por Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014). Apresenta reações adversas ligeiras como cefaleias, náuseas, diplopia, instabilidade na marcha, vômitos, tonturas.

A dose diária recomendada é de 200 a 400 mg em adultos, enquanto em crianças é sugerida a dose diária de 1-3 mg/kg. Doses superiores a 600 mg/dia não apresentam vantagem terapêutica e aumentam os efeitos adversos. É recomendado começar com dose diária de 50 mg a cada 12 horas durante 7 dias e em seguida 100 mg a cada 12 horas (Markoula *et al.*, 2014; Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014).

A sua margem terapêutica varia de 5 a 10 mg/L (Foreman, 2012) e o fármaco apresenta uma farmacocinética linear, absorção rápida, boa biodisponibilidade 100%, uma baixa ligação a proteínas plasmáticas (15%), excreção renal. É substrato da enzima CYP2C19, aproximadamente 40% é excretada de forma inalterada, 30% como o metabólito O-desmetil lacosamida, e 20% como fração polar desconhecida, o tempo para concentração no estado

estacionário é de 3 dias, tem considerável variabilidade inter e intra-individual (Cawello *et al.*, 2014; Yubican, Contreras-Caidedo e Rios-Pohl, 2014).

1.2.4.3. Acetato de eslicarbazepina

É um pro-fármaco, cujo metabolito ativo (eslicarbazepine) tem ação anticonvulsivante. Está indicada no tratamento adjuvante de crises epiléticas parciais com ou sem generalização secundária, não controladas com terapia convencional (Bialer e Soares-Da-Silva, 2012).

A eslicarbazepina é o enantiômero S- da licarbazepina capaz de inibir os canais de sódio dependentes de voltagem. Assim, após absorção, o acetato de eslicarbazepina é rapidamente hidrolisado originando a S-licarbazepina (95%) cujo pico da concentração plasmática é atingido em 1 a 4 horas depois de administração. Para além desta, formam-se ainda a R-Licarbazepina e a oxcarbazepina (5%) que também são ativos, apesar de menos que a S-licarbazepina. A farmacocinética é linear entre as doses diárias de 400 a 1600 mg. O acetato de eslicarbazepina e os seus metabolitos são maioritariamente eliminados por via renal. Os metabolitos ativos são excretados na forma inalterada e 1/3 como conjugados glucuronídeos. Tem moderado efeito inibitório sobre a CYP2C19 e leve efeito indutor da UGT1A1 mediado por glucuronidação quando estudado em microssomas hepáticos humanos (Bialer e Soares-Da-Silva, 2012). No entanto como não há metabolismo mediado por CYPs, a farmacocinética da eslicarbazepina não se demonstra afetada pela co-administração de anticonvulsivantes indutores da CYP nem inibidores, como ácido valpróico (Johannessen Landmark *et al.*, 2016).

Estudo de farmacocinética populacional da eslicarbazepina mostrou que a CL/F da eslicarbazepina foi afetada pelo peso corporal, dose de carbamazepina e co-administração de barbituratos ou fenitoina. O uso concomitante de lamotrigina, VPA, topiramato, gabapentina, clobazam e levetiracetam mostrou que não afeta a exposição da eslicarbazepina. Acetato de eslicarbazepina não afetou a clearance de clobazam, gabapentina, fenitoina, fenobarbital, levetiracetam e ácido valpróico, neste caso não necessitará o ajuste de doses destes fármacos. O uso concomitante de outros anticonvulsivantes não afetou a relação exposição-resposta da eslicarbazepina (Falcão *et al.*, 2012). Idade, etnia, sexo, CLCR não afetam a clearance total da eslicarbazepina no plasma (Falcão *et al.*, 2012).

1.2.4.4. Oxcarbazepina

A oxcarbazepina é um fármaco anticonvulsivante de nova geração, análogo da carbamazepina, utilizado isolado ou em combinação com outros anticonvulsivantes nas crises epiléticas parciais. Tem sido associada a dano hepático, à semelhança da carbamazepina. Sua diferença por adição do oxigénio na estrutura reduz o impacto no metabolismo hepático a que é sujeita a carbamazepina e previne anemias sérias de várias formas ocasionalmente associadas a esta mesma carbamazepina.

Como mecanismo de ação, bloqueia os canais de sódio dependentes de voltagem, desta forma estabilizando as hiper-excitadas membranas neuronais e inibindo impulsos neuronais, diminuindo a propagação destes impulsos sinápticos (LaRoche e Helmers, 2004; May, Korn-Merker e Rambeck, 2003).

A oxcarbazepina é convertida ao metabólito ativo, o 10-11,10-dihidro-10-hidroxi-Carbazepina (derivado do monohidroxi, MHD). A sua absorção é completa por via oral. O seu metabólito MHD tem um tempo de concentração pico de 2 a 4 horas, com tempo de semi-vida de 2 horas, seu volume de distribuição é de 49 L. É eliminada principalmente por via renal e pelas fezes em menos de 4% (May, Korn-Merker e Rambeck, 2003).

Apesar de baixa, as interações com indutores metabólicos como fenitoína, carbamazepina, fenobarbital podem reduzir as concentrações plasmáticas da oxcarbazepina e, seu efeitos sobre outros fármacos não parecem clinicamente relevante, mas parece aumentar concentrações da fenitoína e baixar as de lamotrigina e o topiramato, etinilestradiol o que requiere meios adicionais de contraceção (May, Korn-Merker e Rambeck, 2003).

1.2.4.5. Zonisamida

É um fármaco anticonvulsivante da nova geração derivado da sulfonamida, é tipicamente usado em combinação com outros antiepilépticos no tratamento de crises epiléticas parciais (Schulze-Bonhage, 2010). O mecanismo de ação exato da zonisamida permanece ainda desconhecido, mas sugere-se que bloqueia os canais de sódio e de cálcio, estabilizando a membrana neuronal e suprimindo assim a hipsincronização neuronal (Schulze-Bonhage, 2010).

A zonisamida apresenta uma absorção variável, com picos plasmáticos que podem ocorrer até entre 2,8 a 3,9 horas, sendo a biodisponibilidade muito afetada pelos alimentos. O seu volume de distribuição é de 1,45 L/Kg e a margem terapêutica de 10 a 30 mg/L. A excreção

é renal, com o metabolito N-acetilzonisamida por CYP3A4 (15%) e como metabólitos glicuronizados (50%). A Clearance é de 0,30 a 0,35 mL/min/Kg em pacientes que não usam indutores da CYP (fenitoina e carbamazepina) e 0,35 a 0,5 mL/min/Kg em pacientes usando concomitantemente estes fármacos Sua meia-vida é de 63 horas no plasma e no eritrócito 105 horas (Thomson, 2004).

Está amplamente demonstrado em estudos, que muitos medicamentos anticonvulsivantes da antiga geração, estão associados a alta variabilidade farmacocinética inter-individual que pode decorrer do polimorfismo genético, alta ligação a proteínas plasmáticas, margem terapêutica estrita, comprometendo a sua efetividade e segurança se comparado com os antiepiléticos da nova geração (oxcarbazepina, eslicarbazepina, zonisamida, lacosamida, levetiracetam) que são mais seguros e com maior espectro de ação e muitas vezes melhor efeito terapêutico, porque os novos anticonvulsivantes interagem menos com outros fármacos, por serem pouco metabolizados por via hepática (ex: gabapentina, lacosamida, levetiracetam, topiramato, vigabatrina) e por interagirem menos no metabolismo hepático (Patsalos, 2013). Portanto, para o sucesso terapêutico com os novos antiepiléticos, tem que se ter em conta os seguintes aspetos: uma biodisponibilidade favorável e confiável, farmacocinética linear, pouca possibilidade de interação com outros fármacos, pouca ligação a proteínas plasmáticas, doses convenientes, tempo de semi-vida longo, e de preferência ter novo mecanismo de ação (Chung, Kelly e Schusse, 2011).

Contudo, como demonstrado acima as características farmacocinéticas descritas geralmente para estes anticonvulsivantes (Tabela 13) são influenciadas por vários fatores e por isso a variabilidade farmacocinética tem de ser considerada nos fármacos anticonvulsivantes da nova geração. Estes fatores incluem: fatores genéticos, co-morbilidades, interações fármaco-fármaco, particularmente os causados por uso concomitante de inibidores ou indutores de enzimas metabólicas de fármacos (Italiano e Perucca, 2013).

Tabela I3: Resumo de dados farmacocinéticos de alguns AEDs (Fonte: autores citados nas secções anteriores).

Fármaco AEDs	T_{max} (h)	DDR (mg)	MT (mg/L)	PPB (%)	Metabolismo	Excreção (%)	Tss (h)
ESL	1-4	400-1600	10-35		UGT	Renal 66%	4-5
LCS	1-4	~400	5-10	<15	CYP2C19	Renal 95% Fecal<0,5%	
LEV	1	500-3000	12-46	<10	Hidrólise enzimática 25%	Renal 75%	2
OXC	2-4		15-35	~40	UGT Sulfato	Renal Fecal<4%	2-4
ZNS	2-6	200-400	10-40	~40	NAT CYP3A4	Renal 62% Fecal<3%	14

AED: Fármacos antiepiléticos; CYP: enzimas do complexo citocromo P450; DDR: dose diária recomendada; MT: Margem terapêutica; NAT: N-acetil-transferase; PPB, ligação às proteínas plasmáticas; Tss, tempo para atingir estado estacionário; Tmax: tempo para se atingir a concentração máxima em horas; UGT: uridinadifosfato-glucuronil-transferase.

1.3. Farmacocinética populacional

No passado, a terapia farmacológica assentava essencialmente na relação empírica entre a dose do fármaco administrada e a resposta clínica do doente, sendo a individualização posológica conseguida por meio de tentativa-erro. Para uniformizar e otimizar a terapêutica, as linhas de orientação baseavam-se na janela de dose terapêutica plausível de ser administrada com segurança e eficácia aos doentes. Estes esquemas referem-se à média obtida para os doentes incluídos nos ensaios clínicos. Constatam-se porém, que essa janela varia considerando as diferentes subpopulações especiais de doentes (por exemplo crianças, idosos, grávidas, insuficientes renais/hepáticos, entre outros) e por conseguinte esta abordagem empírica nem sempre é bem-sucedida, nem recomendada para todos os indivíduos.

Estes acontecimentos despertaram cada vez mais atenção da comunidade científica tendo sido desenvolvidos métodos alternativos para otimização e individualização de esquemas terapêuticos, os quais utilizam as concentrações plasmáticas dos fármacos e a relação entre estas e os efeitos farmacológicos observados. São atividades atualmente realizadas em

farmacocinética clínica e em estudos de farmacocinética populacionais para avaliação e identificação de fatores que determinam a variabilidade intra- e inter-individual.

O atual interesse na farmacocinética populacional tem sua origem, na base de que a farmacocinética dos fármacos desde o início do programa do desenvolvimento, não é estudada numa relevante população supostamente deveria ser avaliada (Aarons, 1991). Entidades internacionais regulamentares e investigações levadas a cabo desde a década de 80 demonstraram que a farmacocinética de novos fármacos devia ser estudada em idosos, de forma que a equipa clínica pudesse ter informação suficiente para uma correta utilização e ajuste posológico nesta subpopulação (FDA, 1989 citado por Aarons, 1991). Foi sugerido que usando a análise populacional de amostras individuais retiradas de uma grande população, o perfil de concentração plasmática em função do tempo representaria a população (Sheiner e Benet, 1985, citado por Aarons L, 1991). A vantagem de tal abordagem, é com base nos dados recolhidos de uma população alvo, a avaliação da variabilidade na população é obtida e os fatores que controlam a variabilidade podem ser identificados e utilizados para individualizar o regime posológico (Aarons, 1991).

Assim, por farmacocinética populacional entende-se como o estudo dos fatores de variabilidade de concentrações de plasmáticas de fármacos e metabólitos ativos entre indivíduos alvos na população/doentes recebendo uma dose relevante desse fármaco (Aarons, 1991; Committee for medicinal products for human use e (CHMP), 2007; Fda, 1999).

Importa perceber a diferença entre a farmacocinética populacional da tradicional. O objeto de estudo da farmacocinética tradicional inclui indivíduos saudáveis e doentes com características muito específicas, e o comportamento farmacocinético desses grupos. A variabilidade inter-individual em farmacocinética tem sido demonstrada por vários fatores que precisam de ser controlados (não evitados), muitas vezes através de estudos complexos e esquemas de controlo, ou através de restritivos critérios de inclusão/exclusão. Com isso, a informação sobre a variabilidade que ocorrerá no uso clínico é crítica, e será obstruída por restrições desses estudos. Focando-se em uma variável apenas (função renal), em farmacocinética populacional pode dificultar o estudo da relação entre outras variáveis (Fda, 1999). Em contraste com a farmacocinética tradicional, a farmacocinética populacional tem as seguintes características (Fda, 1999):

a) A recolha de informação representativa e relevante de doentes da população alvo a ser tratada com o fármaco;

- b) A identificação de fatores de variabilidade e a medição da influência dos mesmos no perfil farmacocinético e farmacodinâmico do fármaco;
- c) A explicação da variabilidade farmacocinética e farmacodinâmica por identificação de fatores demográficos, fisiopatológicos, ambientais, farmacológicos, que podem influenciar no comportamento farmacocinético do fármaco;
- d) A estimativa quantitativa da magnitude da variabilidade inexplicada na população.

Atualmente, resultados de análises de farmacocinética populacional são frequentemente usados para (Committee for medicinal products for human use e (CHMP), 2007):

- a) Caracterizar a farmacocinética numa determinada população;
- b) Providenciar dados farmacocinéticos em populações especiais (Idosos, crianças, doentes renais, etc.);
- c) Suportar o regime posológico em população especial.

Segundo Ette e Williams (2007), a relação dose-concentração do doente pode regularmente ser alterado pelas características demografia, fisiopatologia do doente, função metabólica e excretora do doente, presença de outras terapias. A demografia, fatores fisiopatológicos, características do fármaco, peso corporal, função metabólica e excretora, presença de outras terapias, podem regularmente alterar a relação dose-concentração sérica do fármaco do doente (Bauer, 2008; Ette e William, 2007).

Por esta razão, o presente estudo procura avaliar a variabilidade inter-individual de vários fármacos anticonvulsivantes de nova geração administrados a indivíduos com epilepsia refratária. Particular foque será posteriormente dado ao levetiracetam por ser o fármaco mais frequentemente administrado à população em estudo. Tentar-se-á identificar fatores que alterem a farmacocinética do levetiracetam e avaliar a capacidade preditiva de vários modelos farmacocinéticos para estimar as concentrações plasmáticas do levetiracetam da população Portuguesa em estudo, e identificar qual deles se adapta melhor a cada indivíduo, visando, assim, uma terapia personalizada.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Monitorizar as concentrações plasmáticas de novos antiepiléticos em doentes com epilepsia refratária.

2.2. Objetivos específicos

- Revisão bibliográfica sobre epilepsia refratária e fármacos antiepiléticos de nova geração.
- Recolha e análise dos parâmetros demográficos, clínicos e farmacológicos dos doentes com epilepsia refratária internados no Centro de Referência de Epilepsia Refratária do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), que foram sujeitos a terapêutica com pelo menos um dos seguintes fármacos: acetato de eslicarbazepina, lacosamida, levetiracetam, oxcarbazepina e zonisamida.
- Avaliação das concentrações plasmáticas de acetato de eslicarbazepina (nomeadamente a eslicarbazepina), lacosamida, levetiracetam, oxcarbazepina e zonisamida obtidas nos doseamentos efetuados no Laboratório de Farmacologia e Cuidados Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, em amostras de doentes em idade pediátrica.
- Avaliação da distribuição das concentrações plasmáticas obtidas em cada doseamento.
- Caracterização demográfica e farmacológica da amostra de doentes tratados com pelo menos levetiracetam.
- Determinação dos parâmetros farmacocinéticos e concentrações plasmáticas de levetiracetam para cada doente recorrendo a três modelos farmacocinéticos distintos.
- Comparação entre os valores de concentrações plasmáticas obtidos experimentalmente com os estimados pelos três modelos.
- Avaliação da capacidade preditiva dos três modelos.
- Avaliação da influência de diversos fatores (género, idade, TFG_e, IMC, indutores/inibidores da CYP, *drug load*) nos parâmetros estimados e na capacidade preditiva de cada modelo.

3. METODOLOGIAS

3.1. Tipo de estudo e Seleção da amostra

O estudo foi realizado em doentes diagnosticados com epilepsia fármaco-resistente, admitidos no Centro de Referência de Epilepsia Refratária no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) entre setembro de 2017 a maio de 2018. Todos os doentes tinham requisição para determinação da concentração plasmáticas no laboratório de Farmacologia e Cuidados Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) de pelo menos um dos seguintes fármacos: acetato de eslicarbazepina, carbamazepina, lacosamida, levetiracetam, oxcarbazepina e zonisamida.

Trata-se de um estudo de vida real, observacional, sem influência do investigador e cujos procedimentos elaborados consistiam em procedimentos de rotina, sem influência no estado clínico do doente. O investigador não beneficiou de qualquer contacto com os doentes sendo, por isso, cego em relação aos mesmos e aos relativos processos clínicos consultados. Os dados clínicos utilizados foram sempre abordados de forma ética e sigilosa, assegurando o anonimato dos doentes. Foi solicitada autorização à Comissão de Ética da faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Foram incluídos no estudo 113 doentes que reuniram os seguintes critérios de inclusão:

- Diagnóstico de epilepsia fármaco-resistente, em ambulatório ou internamento.
- Com requisição médica para monitorização das concentrações plasmáticas de pelo menos um dos seguintes anticonvulsivantes: acetato de eslicarbazepina, carbamazepina, lacosamida, levetiracetam, oxcarbazepina e zonisamida.
- Registo de dados antropométricos: peso, altura e idade.
- Com análises bioquímicas contemplando os valores de creatinina, albuminémia e azoto ureico.
- Com regime posológico devidamente identificado para os fármacos em estudos, bem como o respetivo tempo de colheita da amostra.
- Com registo de outra medicação anticonvulsivante co-administrada.

Os critérios de exclusão incluíam os indivíduos com idade inferior a 18 anos e/ou doentes com falta de um dos dados mencionados nos critérios de inclusão.

3.2. Recolha de informação demográfica, clínica e farmacológica

Os dados clínicos foram incluídos, pela equipa clínica, no modelo de requisição de monitorização farmacocinética e incluíram a seguinte informação:

- Dados demográficos – género, idade, peso real, altura.
- Dados bioquímicos – albuminémia, creatinina sérica, ácido úrico.
- Dados clínicos – diagnóstico e motivo de monitorização.
- Antiepiléticos a monitorizar e respetivos esquemas posológicos (dose administrada, intervalo posológico), data e hora de última administração e de colheita da amostra.
- Concentrações plasmáticas determinadas experimentalmente na FFUC.
- Dados farmacológicos: medicamentos co-administrados e respetiva posologia.

Estes dados foram compilados numa base de dados em *Excel*, onde foram ainda integrados os parâmetros índice de massa corporal (IMC), peso ideal, clearance da creatinina, estimado, respetivamente pelas seguintes equações:

- **IMC**=Peso corporal/(altura)²
- **Peso ideal**=((2.3*((altura em centímetro*0.3937)-60))+género), onde: feminino=45; masculino=50.

3.3. Protocolo de quantificação plasmática dos antiepiléticos

As amostras de sangue (1 mL) são recolhidas em estado estacionário para um tubo de heparina lítio e centrifugadas. Após centrifugação é recolhido o plasma que é guardado a -4°C até análise por HPLC.

3.3.1. Quantificação de lacosamida, levetiracetam e zonisamida em plasma humano

No dia da análise, o plasma é descongelado e submetido a um processo de extração líquido-líquido com acetato de etilo antes de ser injetado no HPLC em conformidade com a técnica já validada e publicada por Gonçalves *et al.* (2018). Resumidamente, 100 µL de plasma são adicionados a 40 µL de metanol, 10 µL de padrão interno (antipirina) dissolvida em e 1 mL de acetato de etilo. A mistura é submetida a agitação no vortex e centrifugada durante 3

minutos a 12.045 g. A fase orgânica superior é removida e evapora à secura sob azoto a 45°C, enquanto a fase aquosa é novamente sujeita a este procedimento. O resíduo seco obtido no final é reconstituído com 100 µL de uma mistura de água/acetonitrilo (95:5, v/v), e submetido a filtração em filtros de 0.22 µm Costar Spin-X análise 20 µL do filtrado são injetados no HPLC. A separação cromatográfica é conseguida a 40°C, recorrendo a uma coluna C₁₈ de fase reversa LichroCART® Purospher® Star® (C₁₈, 3 µm, 55mmx4mm) e uma eluição em gradiente com uma mistura de água/acetonitrilo, bombeada a 1,0 mL/min. A deteção foi conseguida com detetor *diodearray*, no comprimento de onda de 220 nm para todos os compostos, com exceção da zonisamida, a qual foi detetada a 239 nm. Os tempos de retenção da lacosamida, levetiracetam, zonisamida, e padrão interno foram, respetivamente, 12,45 min; 3,95 min; 9,79 min e 11,80 min.

3.3.2. Quantificação de carbamazepina, carbamazepina-10,11-epóxido, oxcarbazepina e licarbazepina

No dia da análise, o plasma é descongelado e submetido a um processo de extração em fase sólida antes de ser injetada no HPLC em conformidade com a técnica já validada e publicada por Fortuna *et al.* (2010).

Após descongelação, 500 µL de plasma do doente é adicionado a 500 µL de tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 5) e 10 µL de padrão interno (10,11-di-hidro-carbamazepina). As amostras são submetidas a vortex por 30 segundos e iniciado o processo de extração em fase sólida. Assim, a mistura é descarregada em cartuchos Oasis® HLB (30 mg, 1 mL, Waters, Milford, MA, EUA), previamente acondicionados e ativados com 1 mL de metanol, 1 mL de acetonitrilo e 1 mL de água-acetonitrilo (95: 5, v/v). Após eluição da amostra, os cartuchos são lavados quatro vezes com 1 mL de água-metanol (90:10, v/v). Após secagem do solvente sob fluxo de ar durante 5 min, os analitos são eluídos com 1 mL de acetato de etilo. Os eluatos são posteriormente evaporados até resíduo seco, sob azoto e a 45°C. No final, os resíduos são reconstituídos em 100 µL de fase móvel, agitados em vórtex durante aproximadamente 1 min e sujeitos a ultra-sons à temperatura ambiente durante aproximadamente 1 min. Em seguida, os extratos reconstituídos foram transferidos para um filtro Spin-X de 0,22 µm, centrifugados a 13.4 rpm por 2 min e 20 µL das amostras filtradas finais foram injetadas no sistema de HPLC.

Os três fármacos, os principais metabolitos e o padrão interno são separados a 40°C com água-metanol-acetonitrilo (64: 30: 6, v/v/v), através de uma eluição isocrática à velocidade de

1 mL/min, utilizando uma coluna de fase reversa LiChroCART® Purospher® Star® (C₁₈, 3 µm, 55 mm × 4 mm) adquirido da Merck® KGaA (Darmstadt, Alemanha). Os analitos são detetados a 235 nm.

3.4. Estimação dos parâmetros farmacocinéticos de levetiracetam

O volume de distribuição e clearance do levetiracetam foram estimados com base em três modelos da literatura publicados por Ito *et al.* (2016), Rhee *et al.* (2017) e Toublanc *et al.* (2014) (Tabel MI). O volume de distribuição relaciona a dose de carga (DC) que é necessária para alcançar uma determinada concentração plasmática imediatamente depois da administração, através da equação $Vd=DC/C_e$. Vd é um volume aparente que relaciona concentrações plasmáticas com a quantidade do fármaco no sangue (Bauer, 2008). A clearance (Cl) é um dos parâmetros mais importantes porque permite estimar a dose de manutenção (DM) que é necessária para manter a concentração plasmática através da equação $Cl=DM/C$. Clearance corresponde ao volume do plasma ou sangue completamente depurado do fármaco por unidade de tempo (Bauer, 2008).

Tabela MI – Equações utilizadas para estimar os parâmetros farmacocinéticos do levetiracetam.

<p>Toublanc et al. (Toublanc, Lacroix e Yamamoto, 2014):</p> <ul style="list-style-type: none"> • $K_a=2,56h^{-1}$ • $Vd/F=20,4 \times (Peso/32)=0,6375 \times Peso$ • $Cl/F=2,10 \times (Peso/32)^{0,75} \times \text{Indutor CYP, se presente CBZ, PHT, FENO, o valor}=1,22$
<p>Ito et al. (Ito <i>et al.</i>, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> • $K_a=0,464h^{-1}$ • $Vd/F=0,753 \times Peso$ • $Cl/F=4,3 \times (Peso/70)^{0,70} \times (TFGe/100)^{0,638} \times \{1+0,175 \times (DOS/59,3)\}$
<p>Rhee et al. (Rhee <i>et al.</i>, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> • $K_a=2,44h^{-1}$ • $Vd/F=65,3 \times (Peso/70)$ • $Cl/F=3,9 \times (Peso/70)^{0,70} \times (TFGe/90)^{0,44}$

CBZ: carbamazepina, CL/F: clearance corporal de levetiracetam, DOS=(dose/peso)^{0,75}, FENO: fenobarbital
 Ka: constante de absorção, Vd/F: volume de distribuição corporal, PHT: fenitoína.

Na tabela M1, nota-se a inclusão da TFGe, fator fundamental pois o levetiracetam é maioritariamente excretado por via renal. Esta foi avaliada a partir dos seguintes dados bioquímicos: Azoto ureico (Valor de referência: 7-21 mg/dL) e Creatinina (valor de referência, homem: 0,7-1,2 mg/dL; mulher: 0,5-1,0 mg/dL) e tendo em conta a seguinte equação:

$$\text{TFGe} = 170 \times \text{SCr}^{-0,999} \times \text{Idade}^{-0,176} \times \text{Género} \times \text{Etnia} \times (\text{Azoto Ureico})^{-0,17} \times \text{Albuminemia}^{0,318}$$

A TFGe normal apresenta valores acima de 90 ml/min/1,73m². Valores inferiores são agrupados em estádios que determinam o nível de função renal da função renal (Leal, 2016):

- ##### ➤ Função renal normal: ≥90 mL/min/1,73 m²
- ##### ➤ Diminuição ligeira da função renal: 60-89 mL/min/1,73 m²
- ##### ➤ Diminuição ligeira-moderada da função renal: 45-59 mL/min/1,73 m²
- ##### ➤ Diminuição moderada-grave da função renal: 30-44 mL/min/1,73 m²
- ##### ➤ Diminuição grave da função renal: 15-29 mL/min/1,73 m²
- ##### ➤ Insuficiência renal (avançada/terminal): ≤ 15 mL/min/1,73 m².

3.5. Estimação das concentrações plasmáticas do levetiracetam

Para avaliar a capacidade preditiva de cada modelo é necessário comparar o valor da concentração plasmática experimentalmente observada (obs) com o valor de concentração plasmática estimada (Ce) com cada modelo farmacocinético descrito na secção anterior. Considerando que o levetiracetam apresenta uma farmacocinética linear de acordo com o modelo mono-compartimental, as concentrações foram estimadas de acordo com as duas seguintes equações:

➤ Em estado estacionário:

$$\text{Ce} = F * D * \text{Ka} / \text{Vd} * (\text{Ka} - \text{Ke}) * [e^{-\text{Ke} \cdot t} / 1 - e^{-\text{Ke} \cdot \text{tau}} - e^{-\text{Ka} \cdot t} / 1 - e^{-\text{Ka} \cdot \text{tau}}]$$

➤ Em estado não estacionário:

$$\text{Ce} = (F * D / \text{Vd}) * e^{-\text{ke} \cdot t} [(1 - e^{-n \cdot \text{ke} \cdot \text{tau}}) / (1 - e^{-\text{ke} \cdot \text{tau}})]$$

Onde, Ce é a concentração estimada (mg/L); F a biodisponibilidade; D a dose do fármaco (mg); Ka a constante de absorção; Vd: volume de distribuição (L); Ke: a constante de eliminação (CL/Vd); t: tempo de amostragem (h); tau: intervalo posológico (h); n: número de doses.

3.6. Avaliação da capacidade preditiva absoluta de cada modelo farmacocinético

A capacidade preditiva dos três modelos farmacocinéticos anteriormente descritos foi avaliada comparando os valores de Cobs com Ce. O erro foi avaliado calculando a exatidão, que corresponde a média dos erros (EM), e a precisão que corresponde a média do valor quadrado do Erro (EQM) e obteve-se também a relação corresponde a raiz da precisão ou EQM.

1. Erro de predição individual= $C_e - C_{obs}$
2. Erro médio absoluto=Exatidão (EM)
3. Valor quadrático médio do Erro absoluto=Precisão; $EQM = (EM)^2$
4. Relação Exatidão/Precisão=Raiz do EQM.

Quanto menores os valores de EM, EQM e REQM, melhor é a capacidade preditiva.

3.7. Avaliação dos fatores que influenciam nas concentrações plasmáticas de levetiracetam e a capacidade preditiva dos modelos

Para avaliar a influência dos fatores demográficos, bioquímicos e farmacológicos na capacidade preditiva dos modelos, foram criadas várias subpopulações de acordo com a variável (Tabela M2).

Tabela M2 – Composição das diversas subpopulações tendo em conta os fatores demográficos, bioquímicos e farmacológicos que se pretendem analisar.

Variável	Subpopulação
Sexo	Masculino Feminino
Idade	Doentes com ≤ 30 Doentes de 30-45 Doentes de ≥ 45 anos
IMC	Doentes com IMC: 21-25 Doentes com IMC: 25-30 Doentes com IMC: ≥ 30
TFGe	Doentes com TFGe: ≤ 80 Doentes com TFGe: 80-140 Doentes com TFGe: ≥ 140
Anticonvulsivantes co-administrados	Só Indutores metabólicos (carbamazepina, fenobarbital, fenitoina). Só Inibidores da CYP (Acido valpróico, clobazam). Com indutores e com inibidores. Sem indutores e sem inibidores (apenas levetiracetam sem os anteriores, mas com fármacos considerados neutros, como: lamotrigina, parampanel, gabapentina, vigabatrina, lacosamida, zonisamida, clonazepam, lorazepam, etc.).
Drug Load (DL)	Doentes com DL: ≤ 2 Doentes com DL: 2-3 Doentes com DL: $\geq 3-4$ Doentes com DL: ≥ 4

TFGe: Taxa de filtração glomerular estimada; IMC: Índice de massa corporal.

A classificação das subpopulações de acordo com o IMC teve por base os critérios da OMS:

- Baixo peso: $< 18,5 \text{ Kg/m}^2$;
- Peso normal: $18,5-24,9 \text{ Kg/m}^2$;
- Sobrepeso: $25-29,9 \text{ Kg/m}^2$;
- Obesidade grau I: $30-34,9 \text{ Kg/m}^2$;
- Obesidade grau II: $35-39,9 \text{ Kg/m}^2$;
- Obesidade grau III ou Obesidade mórbida: $>40 \text{ Kg/m}^2$.

A classificação de acordo com TFGe teve em consideração os valores já mencionados em cima. Por sua vez, a *drug load* expressa a carga de anticonvulsivantes administrada a cada doente faz, e corresponde ao rácio entre a dose diária prescrita de todos os anticonvulsivantes e a dose diária definida pela OMS (Tabela M3).

Tabela M3: Dose Diária Definida para os anticonvulsivantes identificados na população em estudo. (Adaptado de OMS 2018).

Fármaco	DDD (g)
Carbamazepina	1,0
Clobazam	0,02
Clonazepam	0,008
Eslicarbazepina	0,80
Etossuximida	1,25
Felbamato	2,40
Gabapentina	1.80
Lacosamida	0,30
Lamotrigina	0,30
Levetiracetam	1,50
Oxcarbazepina	1,00
Perampanel	0,008
Fenitoína	0,30
Fenobarbital	0,10
Pregabalina	0,30
Primidona	1,25
Retigabina	0,90
Rufinamida	1,40
Sultiame	0,40
Tiagabina	0,03
Topiramato	0,30
Ácido valpróico	1,50
Vigabatrim	2,00
Zonisamida	0,20
Estiripentol	1,00
Lorazepam	0,0025

DDD: dose diária definida.

Assim, para avaliar a influência destes fatores na capacidade preditiva dos modelos, as concentrações foram estimadas em vale (C_{min}). C_{obs} e C_e foram normalizadas pela dose administrada para neutralizar as diferenças resultantes das doses distintas que são administradas aos doentes.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 25, para determinação da média, desvio padrão, análise de variância de parâmetros farmacocinéticos e das variáveis independentes. As diferentes populações foram comparadas entre si recorrendo ao teste de t-student (sexo masculino versus feminino) ou teste de ANOVA seguido de Kruskal-Wallis os níveis de significância estatística adotados são os universalmente aceites ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização demográfica dos doentes com epilepsia fármaco-resistente

4.1.1. Caracterização demográfica geral

O presente estudo decorreu entre setembro de 2017 e maio de 2018, tendo incluído 103 doentes adultos diagnosticados com epilepsia refratária. Estes doentes foram sujeitos a monitorização plasmática de novos antiepiléticos, cujas concentrações plasmáticas foram determinadas no Laboratório de Farmacologia e Cuidados Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), perfazendo um total 155 concentrações determinadas para os seguintes fármacos: levetiracetam, zonisamida, lacosamida, carbamazepina, oxcarbazepina e eslicarbazepina. Entre os fármacos administrados à população em estudo, o único fármaco clássico cuja determinação das concentrações foi realizada na FFUC, foi a carbamazepina e o seu metabolito tóxico (carbamazepina-10,11-epóxido). Para este fármaco foram determinadas 37 concentrações, 23,8% de todas as determinações analíticas realizadas (Tabela RI). Os anticonvulsivantes da nova geração cujas concentrações plasmáticas foram monitorizadas no âmbito do presente trabalho incluíram oxcarbazepina, levetiracetam, zonisamida, lacosamida e a eslicarbazepina. As frequências, absoluta e relativa, de cada fármaco estão apresentadas na Tabela RI.

Tendo em conta estes resultados, é evidente que o fármaco anticonvulsivante mais utilizado foi o levetiracetam, tendo sido, por isso, selecionado para avaliar a capacidade preditiva de diferentes modelos farmacocinéticos e a influência de diversos fatores na sua farmacocinética.

Tabela RI: Frequência relativa e frequência absoluta de cada fármaco anticonvulsivante monitorizado na população em estudo.

Fármaco monitorizado	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
CBZ	37	23,8%
ESL	19	12,3%
LCS	10	6,5%
LEV	55	35,5%
OXC	9	5,8%
ZNS	25	16,1%
Total	155	100%

CBZ: carbamazepina; ESL: acetato de eslicarbazepina; LCM: lacosamida; LEV: levetiracetam; OXC: oxcarbazepina; ZNS: zonisamida.

4.1.2. Caracterização demográfica de doentes com levetiracetam

Trinta e um doentes admitidos no CHUC-CRER com diagnóstico de epilepsia refratária, em ambulatório ou internados para caracterização das crises ou avaliação da adesão ao tratamento farmacológico, foram incluídos, permitindo a determinação de 48 concentrações plasmáticas de levetiracetam, 16 delas de homens (33%) e 32 de mulheres (67%). A média de idades foi de $32,74 \pm 13,37$ anos tendo variado entre 19 e 67 anos; o peso médio dos doentes foi de $76 \pm 12,74$ Kg, o qual variou entre 55 e 97 kg. As restantes características demográficas, antropométricas, clínicas e farmacológicas estão resumidas nas Tabelas R2 e R3.

As 48 concentrações plasmáticas do levetiracetam foram determinadas em estado estacionário imediatamente antes da administração (vale) e/ou 1 hora após administração. Excepcionalmente a recolha da amostra foi feita após descontinuação e reintrodução do mesmo por forma a avaliar a concentração novamente em estado estacionário. A dose média diária administrada de levetiracetam foi $2,17 \pm 0,79$ g, a dose diária mínima foi 0,5 g e máxima de 3,0 g. A *drug load* (correspondente à carga de anticonvulsivantes administrada) média foi $3,06 \pm 0,92$ com um valor mínimo de 0,67 e máximo de 7,46. A média de C_{obs} experimentalmente determinada na FFUC foi de $11,59 \pm 10,07$ mg/L, tendo variado entre 1,19 e 42,20 mg/L. O valor mínimo e o médio é inferior à margem terapêutica do levetiracetam (margem terapêutica=12-46 mg/L), sugerindo que o efeito terapêutico do levetiracetam podia estar comprometido em alguns doentes. No que diz respeito ao valor de C_{obs} mais elevado, este coincide com o valor máximo da margem terapêutica, sugerindo a ocorrência de efeitos tóxicos toleráveis nos doentes.

Tabela R2: Distribuição de dados demográficos e antropométricos.

Doentes, n	31
Concentrações, n	48
Género, n (%)	
Masculino	16 (33%)
Feminino	32 (67%)
Idade (Anos)	
Média±DP	32,74±13,37
Min	19
Max	67
Peso (Kg)	
Média±DP	76,19±12,74
Min	55
Max	97
Altura (cm)	
Média±DP	164,63±5,48
Min	155
Max	190
IMC (mg/m²)	
Média±DP	28,06±4,60
Min	21,48
Max	37,11
Creatinina sérica (mg/dL)	
Média±DP	0,69±0,12
Min	0,45
Max	1,09
Albumina sérica (g/dL)	
Média±DP	4,17±0,38
Min	3,20
Max	4,9
Azoto ureico (mg/dL)	
Média±DP	15,33±4,17
Min	7,60
Max	27,40
TFGe (mL/min)	
Média±DP	123,24±27,06
Min	61,08
Max	186,35

DP: desvio padrão; Max: máximo; Min: mínimo; n: tamanho/frequência da amostra; TFGe: Taxa de filtração glomerular

Tabela R3: Características farmacológicas da população medicada com levetiracetam.

Drug Load	
Média±DP	3,06±0,97
Min	0,67
Max	7,46
Dose diária (g/dia)	
Média±DP	2,17±0,79
Min	0,67
Max	3
C_{obs} (mg/L)	
Média±DP	11,59±10,07
Min	1,19
Max	42,20

C_{obs}: concentração plasmática do levetiracetam determinada na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra; DP: desvio padrão; Max: máximo; Min: mínimo.

4.2. Avaliação da capacidade preditiva absoluta dos modelos farmacocinéticos para estimar as concentrações plasmáticas de levetiracetam

Foram testados três modelos farmacocinéticos desenvolvidos com doentes asiáticos e americanos (Toublanc *et al.*, 2014; Ito *et al.*, 2016; Rhee *et al.*, 2017) para verificar a sua adequação para a população Portuguesa em estudo. Os valores de C_e com cada modelo foram comparados com as C_{obs}, e a avaliação da capacidade preditiva de cada modelo foi feita com base no EM, EQM e RQEM, segundo Sheiner e Beal (1981). Esta avaliação da capacidade preditiva de modelos farmacocinéticos foi já aplicada a outros antiepiléticos, nomeadamente lamotrigina e a digoxina (Almeida *et al.*, 2006; Fraga, 2014).

Dos modelos farmacocinéticos do levetiracetam avaliados, no de Ito *et al.*, a C_e foi 7,64±4,90 mg/L, o volume distribuição foi 57,23±9,49 L e a clearance foi 5,03±0,93 L/h. Aplicando o modelo de Rhee *et al.*, a C_e média foi 13,27±9,00 mg/L, o um volume de distribuição foi 70,90±11,76 L e a clearance foi 4,58L/h. Já no modelo de Toublanc *et al.*, a C_e média foi 13,55±12,30 mg/L, com um volume de distribuição de 48,45±8,04 L e um valor de clearance de 4,25±0,79 L/h.

Como se pode observar na Tabela R4, as C_e foram muito inferiores com o modelo de Ito *et al.*, provavelmente por este estimar os valores de clearance (5,03 L/h) superiores aos restantes modelos. De salientar ainda que o valor da C_e obtido com o modelo de Rhee *et al.* (13,27 mg/L) é o que mais se aproxima do valor médio da C_{obs} (11,59 mg/L, Tabela R3).

Tabela R4: Valores médios de parâmetros farmacocinéticos estimados pelos três modelos testados.

Parâmetros Estimados	Toublanc	Ito	Rhee
Vd (L)	48,45±8,04	57,23±9,49	70,90±11,76
Cl (L/h)	4,25±0,79	5,03±0,93	4,58±0,68
Ce (mg/L)	13,55±12,30	7,64±4,90	13,27±9,00

Ce: Concentração estimada em miligramas por litro; Cl: Clearance do levetiracetam DP: Desvio padrão; Vd: volume de distribuição estimado pelos respectivos modelos em litro.

Por esta razão, avaliou-se a capacidade preditiva dos três modelos, cujos resultados estão apresentados na Tabela R5. Relativamente à exatidão dos métodos (dada pelo erro médio, EM) observaram-se dois valores positivos, o de Toublanc *et al.* (1,96) e o de Rhee *et al.* (1,68), o que indica uma tendência ligeira de sobrestimar as concentrações. O modelo de Ito *et al.* apresentou um valor de EM negativo (-3,95), o que indica que tende a estimar valores de concentração plasmática inferiores às observadas.

O modelo de Ito *et al.* foi o que apresentou valores absolutos de EM, EQM e REQM mais elevados, parecendo ser o modelo com menor capacidade de estimar com exatidão e precisão as concentrações plasmáticas de levetiracetam para a população Portuguesa que foi estudada. Em oposição, na globalidade, o modelo de Rhee *et al.* é o que apresenta menores valores absolutos para os erros (Tabela R5).

Todavia, uma vez que as variáveis incluídas em cada modelo são distintas e os fatores que podem alterar a farmacocinética do levetiracetam podem ter diferentes contributos, torna-se fundamental perceber qual o modelo que melhor se ajusta às características de cada doente. Desta forma, os diferentes modelos foram testados para diversas subpopulações, avaliando as suas capacidades preditivas tendo em conta as diferentes características demográficas e farmacológicas dos doentes.

Tabela R5: Capacidade preditiva absoluta dos modelos testados. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (intervalo de confiança 95%).

Parâmetro avaliado	Toublanc	Ito	Rhee
Exatidão (EM)	1,96±5,45 (0,49-3,57)	-3,95±6,46 (-5,98; -2,25)	1,68±4,58 (0,50-3,05)
Precisão (EQM)	32,89±92,77 (11,95-63,68)	56,48 ±130,93 (28,17-102,88)	23,33±40,84 (13,16-37,56)
REQM	5,73	7,52	4,83

DP: Desvio padrão; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; IC: Intervalo de confiança; REQM: Raiz do erro quadrático médio.

4.3. Avaliação da influência dos fatores individuais nas concentrações plasmáticas e parâmetros farmacocinéticos do levetiracetam e na capacidade preditiva dos modelos farmacocinéticos

Foram criados diferentes subgrupos populacionais de acordo com o gênero, idade, IMC, TFGe, e a *drug load* do doente, e a presença ou não de indutores/inibidores enzimáticos, para avaliar a sua influência nos valores de volume de distribuição, clearance e concentração mínima estimada normalizada pela dose (C/D) do levetiracetam. Conseqüentemente, a capacidade preditiva de cada modelo foi também avaliada para cada subpopulação para perceber qual o modelo que melhor se ajusta.

4.3.1. Avaliação da influência do gênero

Esta população é constituída por dois subgrupos um de 26 indivíduos do sexo masculino e outro com 32 indivíduos do sexo feminino.

Várias diferenças farmacocinéticas têm sido identificadas entre homens e mulheres nomeadamente porque os homens apresentam uma maior percentagem de massa magra em relação as mulheres, enquanto estas têm maior percentagem de massa gorda e de água, (Gandhi *et al.*, 2004; Meibohm, Beierle e Derendorf, 2002). Desta forma, o volume de distribuição fármacos pode variar com o gênero, tendendo a ser maior nas mulheres quando se tratam de fármacos hidrofílicos. Para além disso, a expressão da glicoproteína-P e a atividade hepática nos homens são maiores do que nas mulheres, o que diminui a quantidade de fármaco absorvida e acelera a eliminação dos fármacos no homem em relação às mulheres (Meibohm, Beierle e Derendorf, 2002). Por esta razão pretendeu-se avaliar a diferença das características farmacocinéticas do levetiracetam entre as mulheres e os homens na população em estudo, bem como a capacidade preditiva de cada modelo para estimar as concentrações em cada uma destas subpopulações. Os valores dos parâmetros de volume de distribuição, clearance e a razão concentração plasmática normalizada pela dose (C/D) aplicando os três modelos farmacocinéticos tendo em conta o gênero dos doentes, podem ser observados na Tabela R6 enquanto os erros associados estão apresentados na Tabela R7.

Tabela R6: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos por gênero. Resultados como média \pm desvio padrão.

	Toublanc			Ito			Rhee		
GÉNERO	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D ^a
Masculino (n=16)	43,15 $\pm 6,53$	3,74 $\pm 0,60$	6,59 $\pm 0,86$	63,12 $\pm 9,55$	4,53 $\pm 0,61$	6,20 $\pm 0,83$	50,97 $\pm 7,71$	5,09 $\pm 0,85$	3,94 $\pm 1,05$
Feminino (n=32)	51,10 $\pm 7,59$	4,50 $\pm 0,78$	5,48 $\pm 1,23$	74,78 $\pm 11,11$	4,62 $\pm 0,73$	6,34 $\pm 1,48$	60,36 $\pm 8,97$	5,01 $\pm 0,99$	4,14 $\pm 1,49$

^a Valor expresso em (mg/L)/(g/dia); C/D: Concentração mínima estimada normalizada a dose; Cl: Clearance; DP: Desvio padrão; n: Frequência absoluta na amostra; Vd: volume de distribuição.

Assim, apesar de não ser estatisticamente diferente, observa-se que os homens apresentam volumes de distribuição inferiores aos das mulheres, independentemente do modelo utilizado. No entanto, a clearance foi estatisticamente diferente nas duas subpopulações quando utilizado o modelo de Toublanc *et al.* ($3,74 \pm 0,60$ e $4,50 \pm 0,78$ L/h em homens e mulheres, respetivamente, $p < 0,05$). De certa forma, algo expectável tendo em conta que os outros dois modelos consideraram a clearance da creatinina, a qual é estimada através do método TFG_e/MDRD (modification of diet in renal disease). Esta diferença dos valores de clearance estimados conforme Toublanc *et al.* justifica os valores de concentrações superiores observadas no homem em relação às das mulheres ($p < 0,001$, Tabela R6); diferença entre grupos não observada nos outros dois modelos.

Os resultados aqui obtidos quando utilizado o modelo de Toublanc *et al.* (2014) são concordantes com os resultados de Hirsch *et al.* (2007), que demonstraram a influência do sexo sobre a clearance do levetiracetam. No que diz respeito ao volume de distribuição, os valores observados nos dois subgrupos não foram estatisticamente diferentes, mas observou-se uma tendência de maior no volume de distribuição no sexo feminino tal como Gandhi *et al.* (2004) também observaram.

Resultados foram discordantes na clearance do modelo de Rhee *et al.* e Ito *et al.*, talvez pelo facto do sexo fazer parte da fórmula para o cálculo da TFG_e, que é usado no cálculo da clearance em seus modelos.

Os valores farmacocinéticos e de C/D estimados com o modelo Toublanc *et al.* refletem-se na capacidade preditiva deste modelo (Tabela R7), no qual os erros são consideravelmente maiores no homem do que na mulher. Por sua vez, a diferença observada entre o sexo

masculino e feminino no que diz respeito aos erros associados aos modelos de Ito *et al.* e de Rhee *et al.* (Tabela R7), é menor; facto, de certa forma, é expectável uma vez que as C/D são similares nos dois subgrupos (Tabela R6).

Estas observações sustentam a inclusão desta variável (género) no desenvolvimento de futuros modelos farmacocinéticos para o levetiracetam.

Tabela R7: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável género. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (Intervalo de confiança 95%).

	Toublanc		Ito		Rhee	
GÉNERO	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²
Masculino (n=16)	3,28\pm5,56 (0,56-6,19)	39,66\pm78,84 (11,04-85,00)	-5,54\pm6,35 (-8,43-(-2,59))	68,50\pm116,99 16,62-130,01	1,21\pm3,16 (-0,39-2,60)	10,84\pm13,22 (5,64-17,94)
Feminino (n=32)	1,30\pm5,36 (-0,32-3,30)	29,51\pm100,01 (7,15-74,04)	-3,15\pm6,47 (-5,54-(-0,95))	50,48\pm138,77 (16,79-106,9)	1,92\pm5,17 (0,11-3,56)	29,57\pm48,20 (15,15-47,87)

DP: Desvio padrão; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; IC: Intervalo de confiança; mg/L: miligramas por litros; n: Frequência absoluta da amostra.

4.3.2. Influência da idade

A idade tem importância na farmacocinética de fármacos (Mangoni e Jackson, 2003), nomeadamente nos idosos: ao nível da absorção, redução da secreção do ácido gástrico e da capacidade de absorção; no metabolismo de 1ª passagem e biodisponibilidade, diminuição do fluxo sanguíneo e da massa do fígado comprometem a farmacocinética dos fármacos; na distribuição, os fármacos hidrofílicos tendem a ter menor volume de distribuição, resultando em aumento de concentrações dos fármacos, em idosos em particular; excreção, a função renal no idoso diminui e fármacos excretados por via renal vêm a sua clearance reduzida (Bauer, 2008; Mangoni e Jackson, 2003).

No entanto a população em estudo é maioritariamente jovem (32,71 \pm 13,29 anos), desta forma foi subdividida em três subgrupos de idades distintas: o subgrupo com idade menor ou igual a 30 anos com 30 indivíduos, subgrupo com idade maior que 30 anos e menor que 45 anos com 11 indivíduos, e o grupo com idade maior ou igual a 45 anos com 7 indivíduos. Onde os indivíduos idosos (\geq 65 anos) foram apenas 2.

O volume de distribuição não variou significativamente com a idade, mas verificaram-se maiores valores nos indivíduos entre 30 a 45 anos e valores menores nos indivíduos maiores de 45 anos em todos modelos Tabela R8). Para a clearance, verifica-se tendência de diminuição em indivíduos com idade superior a 45 anos, para todos modelos. A C/D aumentou significativamente com aumento da idade nos modelos de Rhee *et al.* ($p < 0,05$) e de Ito *et al.* ($p < 0,05$).

Tabela R8: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos por faixas etárias. Resultados expressos como média \pm desvio padrão

	Toublanc			Ito			Rhee		
IDADE (anos)	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a
≤ 30 (n=30)	48,02 $\pm 8,20$	4,16 $\pm 0,68$	5,95 $\pm 1,12$	56,72 $\pm 9,68$	5,15 $\pm 0,87$	4,05 $\pm 1,14$	70,26 ± 12	4,65 $\pm 0,65$	6,05 $\pm 1,17$
30-45 (n=11)	51,35 $\pm 9,02$	4,66 $\pm 1,06$	5,21 $\pm 1,59$	60,65 $\pm 10,66$	5,19 $\pm 0,68$	4,43 $\pm 1,31$	75,14 $\pm 13,20$	4,74 $\pm 0,50$	6,15 $\pm 1,18$
≥ 45 (n=7)	45,76 $\pm 5,64$	3,99 $\pm 0,72$	6,44 $\pm 0,61$	54,05 $\pm 6,66$	4,30 $\pm 1,32$	5,89 $\pm 1,64$	66,96 $\pm 8,26$	4,06 $\pm 0,92$	7,58 $\pm 1,33$

^a Valor expresso em (mg/L)/(g/dia); C/D: Concentração mínima estimada normalizada a dose; Cl: Clearance; DP: Desvio padrão; n: Frequência absoluta na amostra; Vd: volume de distribuição.

No modelo de Toublanc *et al.* as C/D não variaram com a idade, apesar de tenderem a ser maiores no grupo com a idade igual ou superior a 45 anos. De destacar que o modelo de Toublanc *et al.* não utiliza a clearance da creatinina para estimar a clearance do levetiracetam, recorrendo, sim, ao peso do indivíduo e à presença ou não de fármacos antiepilépticos indutores. Estes fatores são independentes da idade e parecem influenciar também a clearance e concentrações plasmáticas do levetiracetam. Por esta razão, na presente dissertação, estudou-se também a influência do IMC, TFG_e e presença de indutores/inibidores, conforme descrito nas secções seguintes.

Segundo Mangoni e Jackson (2003) e Rhee *et al.* (2017), a TFG_e e a clearance tendem a decrescer com a idade, principalmente para um fármaco excretado maioritariamente por via renal. Os resultados do presente trabalho, apesar de não mostrarem diferenças

estatisticamente significativas, revelaram que a clearance e o volume de distribuição do levetiracetam apresentaram os menores valores para o grupo mais velho. Toubanc *et al.* (2014) também demonstraram que a influência da idade sobre a clearance e o volume de distribuição não é significativa. Para além disso, os resultados de C/D estimados com os modelos de Rhee *et al.* (2017) e Ito *et al.* (2016) corroboram em parte os resultados de Italiano e Perucca (2013), segundo os quais a clearance diminui com aumento da idade.

Conforme apresentado na Tabela R9, Verifica-se em todos os modelos, que o EQM é maior no grupo de indivíduos mais jovem do que nos restantes, provavelmente pelo maior número de indivíduos incluídos (n = 30 versus 11 e 7). Assim, focando-nos nos dois grupos de idades superiores a 30 anos, verifica-se que o método de Toubanc *et al.* apresenta valores de EM bastante baixos, demonstrando superior exatidão em relação ao escalão etário mais baixo, devendo por isso ser preferível a sua utilização nessa sub-população.

Tabela R9: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável idade. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (Intervalo de Confiança 95%).

	Toubanc		Ito		Rhee	
IDADE (anos)	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²
≤30 (n=30)	3,01 ±6,56 (0,69-5,40)	50,68 ±114,31 (17,41-96,25)	-4,71 ±7,33 (-7,48-(-2,25))	74,16 ±160,11 (28,75-141,40)	1,77 ±5,45 (-0,06-3,69)	31,88 ±49,68 (16,41-54,27-)
30-45 (n=11)	-0,02 ±1,68 (-1,04-0,97)	2,57 ±3,05 (0,81-4,72)	-2,77 ±4,18 (-5,43-(-0,39))	23,56 ±40,69 (2,22-49,23)	1,20 ±2,66 (-0,44-2,82)	7,85 ±5,36 (4,63-10,84)
≥45 (n=7)	0,57 ±2,15 (-1,20-1,86)	4,28 ±4,86 (1,20-8,00)	-2,51 ±5,53 (-7,03-,05)	32,47 ±58,38 (0,77-77,11)	2,08 ±2,79 (0,03-3,89)	10,99 ±10,56 (4,05-18,89)

DP: Desvio padrão; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; mg/L: miligramas por litros; IC: Intervalo de confiança; n: Frequência absoluta da amostra.

4.3.3. Influência da taxa de filtração glomerular (TFGe)

Os fármacos são ativamente secretados nos túbulos renais proximais e, dependendo das suas características físico-químicas, reabsorvidos passivamente. Esta capacidade de secreção dos fármacos é medida pela TFGe, cujos valores considerados normais são: 80-120 mL/min, em jovens dos 18-22 anos a faixa normal é de 120-140 mL/min. Esta taxa diminui com a

idade, onde em idosos com mais de 65 anos de idade a média é 50-60 mL/min (Bauer, 2008). A TFG_e é diretamente proporcional ao peso (Gandhi *et al.*, 2004), e os fármacos como o levetiracetam que são maioritariamente excretados via renal, têm, a sua clearance dependente do peso.

Portanto, nesta secção foi avaliada variável influência da TFG_e na farmacocinética do levetiracetam e na secção seguinte foi avaliada a influência do peso (IMC). Para tal, foram avaliados três grupos distintos: o subgrupo com TFG_e menor ou igual a 80 mL/min com 2 indivíduos, subgrupo com TFG_e maior que 80 mL/min e menor que 140 mL/min com 38 indivíduos, e o subgrupo com TFG_e maior ou igual a 140 mL/min com 8 indivíduos. Observa-se que a maioria da população tem uma TFG_e normal. Uma vez que o levetiracetam é maioritariamente excretado por via renal, conforme descrito na introdução da presente dissertação, espera-se que, com o aumento da TFG_e, ocorra um aumento significativo da clearance do levetiracetam e a consequente diminuição das suas concentrações plasmáticas. De acordo com descrito por Patsalos (2004) e Storlin *et al.* (2003), 34% do levetiracetam sofre hidrólise não hepática no sangue e é excretado inalterado em 66% da dose por via renal, e por isso a sua eliminação é dependente da função renal. Assim, a Tabela R10 descreve os valores médios e desvios padrão do volume de distribuição, clearance e C/D do levetiracetam em cada um dos grupos.

O volume de distribuição não variou significativamente com o aumento da TFG_e em nenhum dos modelos, tal como esperado uma vez que é estimado apenas com base no peso corporal do indivíduo. Em oposição, a clearance do levetiracetam aumentou significativamente com a TFG_e no modelo de Rhee *et al.* ($p < 0,05$) e de Ito *et al.* ($p < 0,001$), mas não quando se recorreu ao modelo de Toubanc *et al.* ($p > 0,05$); resultado expectável uma vez que este modelo não usa a TFG_e para o cálculo da clearance do levetiracetam enquanto os outros dois usam esses valores. Consequentemente, verificou-se que a C/D diminuiu em todos os grupos, independente do modelo farmacocinético utilizado. No entanto foram apenas identificadas diferenças estatisticamente significativas para os modelos de Rhee *et al.* ($p < 0,01$) e de Ito *et al.* ($p < 0,01$).

Estes resultados estão de acordo com os reportados por Rhee *et al.* (2017) e Ito *et al.* (2016) (estes dois grupos de autores, incluíram a co-variável TFG_e nos seus modelos de farmacocinética populacional), tendo-se observado a influência da TFG_e na clearance corporal com uma correlação positivamente forte. Estes resultados são concordantes com os resultados do estudo aqui realizado quando se testou os modelos de Rhee *et al.* (2017) e

Ito *et al.* (2016). Estes modelos mostraram, para a população teste, que a clearance aumentou com aumento da TFG_e e, conseqüentemente, a C/D diminuiu. Ao analisar os resultados dos parâmetros farmacocinéticos e da C/D estimados com o modelo de Toublanc *et al.*, que não usa a TFG_e, os parâmetros farmacocinéticos mostraram-se independentes da TFG_e, apesar da tendência de diminuição da C/D com aumento da TFG_e.

Tabela R10: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos de TFG_e. Resultados expressos como média ± desvio padrão.

	Toublanc			Ito			Rhee		
TFG _e (mL/min)	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a
≤80 (n=2)	47,50 ±4,05	3,96 ±0,25	6,34 ±0,33	56,10 ±4,79	3,63 ±0,64	7,39 ±2,11	69,50 ±5,94	3,65 ±0,50	8,48 ±1,31
80-140 (n=38)	48,84 ±8,57	4,28 ±0,82	5,90 ±1,24	57,69 ±10,11	4,89 ±0,80	4,52 ±1,11	71,46 ±12,53	4,51 ±0,63	6,43 ±1,13
≥140 (n=8)	46,86 ±7,02	4,16 ±0,89	5,49 ±1,32	55,35 ±8,29	6,05 ±0,75	3,09 ±1,07	68,57 ±10,27	5,19 ±0,58	5,10 ±1,05

^a Valor expresso em (mg/L)/(g/dia); C/D: Concentração mínima estimada normalizada a dose; Cl: Clearance; DP: Desvio padrão; n: Frequência absoluta na amostra; TFG_e: taxa de filtração glomerular estimada; Vd: volume de distribuição.

A capacidade preditiva dos 3 modelos (Tabela R11) foi comparada entre eles apenas no grupo da TFG_e entre 80-140 mL/min face ao reduzido número de indivíduos incluídos nos grupos dos extremos de TFG_e. Assim, verificou-se que para doentes com TFG_e compreendida entre 80 e 140 mL/min, o modelo de Ito *et al.* foi o menos exato e o menos preciso (EM=-3,77±6,63 e EQM=56,99±137,58). Este facto é interessante uma vez que o este modelo utiliza a TFG_e para estimar a clearance do levetiracetam (tal como o modelo de Rhee *et al.*) e por isso esperar-se-ia uma melhor capacidade preditiva. Por sua vez o modelo de Toublanc *et al.* faz uso do consumo de fármacos indutores metabólicos e não da TFG_e. Estas observações sustentam que este fator pode influenciar a cinética do fármaco e por isso deverá também ser incluindo na análise, conforme se apresenta na secção 3.5 do presente trabalho.

Tabela R11: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável idade. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (Intervalo de confiança 95%)

TFGe (mL/min)	Toublanc		Ito		Rhee	
	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²
≤80 (n=2)	-0,75 ±0,50 (-1,10-(-0,39))	0,68 ±0,75 (0,15-1,21)	0,29 ±2,11 (-1,21-1,78)	2,31 ±1,19 (1,47-3,15)	1,96 ±0,91 (1,31-2,60)	4,23 ±3,56 (1,71-6,74)
80-140 (n=38)	2,21 ±5,60 (0,64-4,19)	35,43 ±102,37 (10,22-75,97)	-3,77 ±6,63 (-5,87-(-1,77))	56,99 ±137,58 (23,56-104,54)	2,13 ±4,82 (0,55-3,65)	27,21 ±44,85 (14,77-43,82)
≥140 (n=8)	1,45 ±5,53 (-1,99-5,53)	28,90 ±45,25 (3,94-66,45)	-5,84 ±6,19 (-10,62-(-2,15))	67,60 ±118,66 (13,29-164,44)	-0,52 ±3,28 (-2,95-1,84)	9,64 ±12,74 (3,16-20,35)

DP: Desvio padrão; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; IC: intervalo de confiança; mg/L: miligramas por litros; n: Frequência absoluta da amostra.

4.3.4. Influência do índice de massa corporal (IMC)

Em situações de excesso de tecido adiposo, o líquido extracelular está aumentado, e, por conta disso, podem-se verificar alterações dos parâmetros farmacocinéticos dos fármacos, principalmente do volume de distribuição, mas também essa alteração é influenciada pela capacidade do fármaco se ligar a adipócito (Bauer, 2008). A obesidade pode afetar a clearance hepática, aumentando ou diminuindo o metabolismo de alguns fármacos (Bauer, 2008). O método mais simples de avaliação do sobrepeso ou obesidade é calculando o IMC.

A população em estudo foi dividida em três subgrupos de acordo com o IMC de cada doente e tendo em conta que o menor valor foi de 21,48 Kg/m²: o subgrupo com IMC menor ou igual a 25 Kg/m² com 17 indivíduos, o subgrupo com IMC maior que 25 Kg/m² e menor que 30 Kg/m² com 15 indivíduos, e o subgrupo com IMC igual ou maior que 30 Kg/m² com 16 indivíduos.

Conforme evidenciado na Tabela R12, o volume de distribuição aumentou significativamente com o aumento do IMC em todos os modelos ($p < 0,05$) como era expectável uma vez que

todos os modelos calculam o valor do volume de distribuição com base no peso. Por outro lado, a clearance do levetiracetam aumentou com o IMC em todos os modelos, apresentando diferenças estatisticamente significativas no modelo de Toublanc *et al.* e de Rhee *et al.* ($p < 0,05$). Consequentemente, quer pelo aumento do volume de distribuição quer da clearance, as C/D diminuíram com o aumento do IMC só para o modelo de Toublanc *et al.* ($p < 0,05$) e no grupo com $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ foram consideravelmente inferiores em relação aos outros dois grupos. O único modelo que não apresentou C/D mais baixas foi o de Ito *et al.*, o que se pode justificar pela baixa exatidão e precisão que apresenta em relação aos outros dois modelos (Tabela R12).

Os valores estimados com base nos modelos de Toublanc *et al.* e de Rhee *et al.* demonstraram um aumento da clearance com o aumento do IMC dos doentes em estudo. Esta observação corrobora os resultados de Toublanc *et al.* (2014), Rhee *et al.* (2017), Hirsch *et al.* (2007), Pignolet *et al.* (2007), que demonstraram que a clearance e o volume de distribuição do levetiracetam alteraram e aumentam com o peso, e, conseqüentemente, diminuem as C/D. De referir que resultados de volume de distribuição de todos modelos corroboram com achados de todos autores, uma vez que para o cálculo de seus volumes de distribuição, o peso é indispensável.

Tabela R12: Parâmetros farmacocinéticos estimados e subgrupos de IMC. Resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

	Toublanc			Ito			Rhee		
IMC (Kg/m ²)	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	CL (L/h)	C/D ^a
21-25 (n=17)	40,78 $\pm 3,91$	3,57 $\pm 0,33$	6,77 $\pm 1,14$	48,17 $\pm 4,61$	4,77 $\pm 0,71$	4,17 $\pm 1,42$	59,68 $\pm 5,72$	4,29 $\pm 0,49$	6,46 $\pm 1,34$
25-30 (n=15)	48,10 $\pm 4,67$	4,05 $\pm 0,39$	5,96 $\pm 0,79$	56,82 $\pm 5,51$	4,68 $\pm 0,92$	5,12 $\pm 1,64$	70,39 $\pm 6,83$	4,35 $\pm 0,64$	6,79 $\pm 1,28$
≥ 30 (n=16)	56,93 $\pm 5,17$	5,15 $\pm 0,59$	4,78 $\pm 0,76$	67,24 $\pm 6,11$	5,65 $\pm 0,90$	3,98 $\pm 0,76$	83,31 $\pm 7,57$	5,12 $\pm 0,61$	5,65 $\pm 1,03$

^a Valor expresso em (mg/L)/(g/dia); C/D: Concentração mínima estimada normalizada a dose; CL: Clearance; DP: Desvio padrão; IMC: Índice de massa corporal; n: Frequência absoluta na amostra; Vd: volume de distribuição.

De facto, o EQM é sempre muito elevado no subgrupo de IMC ≥ 30 nos três modelos, e em geral o modelo de Rhee *et al.* teve menor EQM, demonstrando que este subgrupo que inclui doentes obesos deve ser avaliado separadamente e sujeito a uma monitorização terapêutica mais direcionada. Por outro lado, uma vez que o modelo de Toublanc *et al.* apresenta uma capacidade preditiva semelhante a de Rhee *et al.* a avaliação do efeito da presença de fármacos antiepilépticos indutores metabólicos torna-se fundamental, sendo analisada de seguida.

Tabela R13: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável IMC. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (Intervalo de confiança 95%).

	Toublanc		Ito		Rhee	
IMC (Kg/m ²)	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²
21-25 (n=17)	2,70 $\pm 5,83$ (0,05-5,50)	39,29 $\pm 76,33$ (10,75-78,72)	-5,88 $\pm 6,29$ (-9,31-(-3,21))	71,97 $\pm 114,06$ (23,67-128,83)	0,75 $\pm 3,68$ (-1,09-2,39)	13,30 $\pm 14,52$ (7,00-20,64)
25-30 (n=15)	1,09 $\pm 2,08$ (0,04-2,09)	5,18 $\pm 9,53$ (1,68-10,31)	-1,61 $\pm 3,91$ (-3,82-0,12)	16,82 $\pm 40,24$ (2,12-41,41)	2,15 $\pm 1,98$ (1,14-3,08)	8,29 $\pm 8,58$ (4,24-13,16)
≥ 30 (n=16)	1,99 $\pm 7,16$ (-1,05-5,90)	52,06 $\pm 139,50$ (9,77-130,22)	-4,08 $\pm 8,04$ (-8,14-(-0,69))	77,21 $\pm 189,80$ (15,39-186,66)	2,24 $\pm 6,78$ (-1,35-5,20)	48,08 $\pm 62,76$ (21,57-85,22)

DP: Desvio padrão; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; IMC: Índice de massa corporal; IC: Intervalo de confiança; mg/L: miligramas por litros; n: Frequência absoluta da amostra.

4.3.5. Influência de indutores e/ou inibidores enzimáticos

Compreender o impacto de substâncias indutoras e inibidoras do metabolismo sobre a farmacocinética de outros fármacos é de grande relevância clínica e científica. Uma vez que (Aldaz, Alzqueta e Viteri, 2017; Contin *et al.*, 2004; Hirsch *et al.*, 2007) e ainda, Pastor *et al.* identificaram diferenças nos perfis farmacocinéticos de levetiracetam quando administrado com indutores de enzimas metabólicas, pretendeu-se, na presente dissertação, avaliar a farmacocinética do fármaco após administração (ou não) de indutores e/ou inibidores, bem como a capacidade preditiva de cada modelo para estimar as concentrações em cada uma

destas subpopulações. Assim, distinguiram-se 4 subpopulações: 1) co-administrados com indutores, 2) com inibidores, 3) com indutores e inibidores e 4) sem nenhum deles; os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos e de C/D estimados com os três modelos estão apresentados na Tabela R14.

Independentemente do modelo utilizado, observaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), nos volumes de distribuição dos doentes do grupo com inibidores em relação aos doentes co-administrados com indutores (Tabela R14). Estes valores aumentados de volume de distribuição no grupo com indutores provavelmente devem-se ao peso e IMC médio maiores no grupo de indivíduos com indutor ($84,69 \pm 11,32$ kg e $73,88 \pm 13,11$ kg foram os pesos médios na subpopulação co-administrada só com indutores enzimáticos e só com inibidores, respetivamente; enquanto os valores médios de IMC foram $31,68 \pm 3,88$ Kg/m² e $27,32 \pm 4,94$ Kg/m², respetivamente).

Tabela R14: Parâmetros farmacocinéticos nas diversas subpopulações criadas tendo em conta a coadministração ou não de outros antiepiléticos indutores/inibidores enzimáticos. Resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

Outros anticonvulsivantes	Toublanc			lto			Rhee		
	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D*	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D*	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D*
Só indutor (n=11)	54,07 $\pm 7,72$	5,24 $\pm 0,71$	4,43 $\pm 0,51$	63,87 $\pm 9,11$	5,32 $\pm 1,12$	4,32 $\pm 1,01$	79,13 $\pm 11,29$	4,86 $\pm 0,77$	6,23 $\pm 1,13$
Só inibidor (n=18)	46,13 $\pm 8,69^a$	3,86 $\pm 0,55^{b,c}$	6,37 $\pm 1,27^{b,d}$	54,49 $\pm 10,26^a$	4,92 $\pm 0,93$	4,23 $\pm 1,77$	67,50 $\pm 12,71$	4,47 $\pm 0,70$	6,33 $\pm 1,46$
Com inibidor/com indutor (n=2)	53,56 $\pm 5,41$	5,28 $\pm 0,40$	4,29 $\pm 0,25$	63,25 $\pm 6,39$	5,99 $\pm 0,35$	3,29 $\pm 0,34$	78,36 $\pm 7,92$	5,28 $\pm 0,31$	4,24 $\pm 1,67$
Sem inibidorem indutor (n=17)	46,68 $\pm 6,35$	3,90 $\pm 0,39^{b,c}$	6,41 $\pm 0,50^{b,d}$	55,13 $\pm 7,50^a$	4,86 $\pm 0,81$	4,78 $\pm 1,15$	68,30 $\pm 9,29$	4,45 $\pm 0,58$	6,54 $\pm 1,03$

* Valor expresso em (mg/L)/(g/dia); ^a $p < 0,05$ em relação a só com indutores; ^b $p < 0,001$ em relação a só inibidores; ^c $p < 0,01$ em relação a com inibidor e indutor; ^d $p < 0,05$ em relação a com inibidor e indutor. Cl: Clearance; C/D: Concentração estimada mínima normalizada a dose; CYP: Complexo enzimático P450; DP: Desvio padrão; n: Frequência absoluta na amostra; Vd: Volume de distribuição.

No que diz respeito à clearance do levetiracetam, apenas quando utilizado o modelo de Toublanc et al. se obtêm diferenças significativas entre os subgrupos com inibidores e sem indutores/inibidores quando comparados com o grupo co-administrado com indutores. De certa forma, algo expectável tendo em conta que outros dois modelos não consideram a multiplicação do fator 1,22 na presença de um anticonvulsivante indutor como esta previsto no cálculo da clearance no modelo de Toublanc et al.. Esta diferença dos valores de clearance justificam os valores de C/D muito inferiores no subgrupo com indutores ($4,43 \pm 0,51$) em relação aos grupos só com inibidores ($6,37 \pm 1,37$) e ao grupo sem indutores nem inibidores ($6,41 \pm 0,50$). Esta diferença na C/D não foi tão significativa no modelo de Ito et al. e não foi sequer detetado quando utilizado o modelo de Rhee et al., como pode-se observar em R14.

É interessante salientar o facto do modelo de Toublanc et al., apresentar o menor valor de EM e EQM na subpopulação de doentes com indutores (Tabela R15), demonstrando que o valor de concentração plasmática estimada é muito mais próximo do valor observado do que os valores estimados pelos outros dois modelos. Para além disso, na subpopulação co-administrada com indutor e inibidores, o modelo de Toublanc et al. foi, novamente, o que apresentou os menores valores de EQM e EM desta forma, sugere-se que perante a monitorização do levetiracetam em doentes co-administrados com indutores, independentemente de também serem ou não administrados inibidores, seja utilizado o modelo de Toublanc et al., em detrimento dos outros dois. No entanto, se o levetiracetam for administrado com apenas inibidores enzimáticos, o modelo mais adequado é o de Rhee et al. (Tabela R15).

Tabela R15: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a coadministração ou não de outros antiepiléticos indutores/inibidores enzimáticos. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (Intervalo de confiança 95%).

Outros anticonvulsivantes	Toublanc		Ito		Rhee	
	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²
Só indutor (n=11)	0,45 $\pm 3,97$ (-1,26-2,61)	14,57 $\pm 23,05$ (3,67-26,05)	-2,75 $\pm 5,29$ (-4,91-0,16)	33,02 $\pm 39,16$ (11,11-49,90)	3,00 $\pm 4,61$ (1,04-5,34)	28,32 $\pm 38,41$ (9,51-44,83)
Só inibidor (n=18)	3,58 $\pm 7,99$ (0,09-4,12)	73,14 $\pm 143,60$ (11,46-41,27)	-6,39 $\pm 8,18$ (-8,41-(-2,12))	103,94 $\pm 200,35$ (17,07-163,41)	1,01 $\pm 5,88$ (-1,17-2,95)	33,63 $\pm 57,26$ (8,88-47,29)
Com inibidor/com indutor (n=2)	1,15 $\pm 0,43$ (1,11-9,30)	1,41 $\pm 1,00$ (1,40-99,50)	-0,62 $\pm 0,30$ (-14,34-(-0,62))	0,43 $\pm 0,37$ (0,43-26,72)	3,70 $\pm 0,38$ (-0,29-3,70)	13,75 $\pm 2,84$ (3,84-14,00)
Sem inibidorem indutor (n=17)	1,31 $\pm 2,09$ (0,41-2,24)	5,83 $\pm 9,15$ (2,49-10,45)	-2,53 $\pm 4,79$ (-4,81-(-0,34))	28,01 $\pm 50,86$ (7,74-54,76)	1,31 $\pm 3,02$ (-0,14-2,61)	10,32 $\pm 12,86$ (5,21-16,77)

CYP: complexo enzimático citocromo P450; mg/L: miligramas por litros; DP: Desvio padrão; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; IC: Intervalo de confiança; n: Frequência absoluta da amostra.

Face aos resultados expostos, torna-se indubitável que a administração concomitante de indutores enzimáticos com o levetiracetam influenciam a farmacocinética deste fármaco e consequentemente as concentrações plasmáticas e o efeito farmacológico. Uma vez que o levetiracetam não é metabolizado por enzimas CYP, as alterações observadas na clearance podem decorrer da indução ao nível de outras enzimas (por exemplo enzimas do grupo acetamida que hidrolisa cerca de 34% do levetiracetam, segundo Patsalos, 2004) ou ao nível de transportadores de efluxo como por exemplo a glicoproteína-P. Assim, a influência de fármacos antiepiléticos indutores enzimáticos tem de ser considerada quando são criados modelos populacionais para o levetiracetam.

4.3.6. Influência da drug load (DL)

Para avaliar o efeito da drug load, a população foi dividida em quatro subgrupos de acordo com a drug load do doente: ≤ 2 ; entre 2 e 3; entre 3 e 4 e ≥ 4 .

Os parâmetros farmacocinéticos estimados com os três modelos estão apresentados na Tabela R16. De acordo com a mesma, verifica-se que o volume de distribuição não variou significativamente em nenhum subgrupo dos 3 modelos ($p > 0,05$), como se pode observar na tabela R16. Independentemente do modelo, a clearance e a C/D mostraram-se independentes da DL ($p > 0,05$).

Não houve alteração de nenhum dos parâmetros farmacocinéticos, portanto, o nosso resultado corrobora com os resultados de Canevini *et al.* (2010), que referiu que o aumento de número de anticonvulsivantes, aumenta a DL, mas a DL não influenciou no perfil de segurança, já que o perfil de segurança com uso de 1 anticonvulsivante, foi semelhante ao de que usou 2,3,4 ou mais anticonvulsivantes.

Tabela R16: Parâmetros farmacocinéticos nas diversas subpopulações criadas tendo em conta a drug load (DL). Resultados expressos como média \pm desvio padrão.

DL	Toublanc			Ito			Rhee		
	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	Cl (L/h)	C/D ^a	Vd (L)	Cl (L/h)	CD ^a
≤ 2 (n=14)	50,27 \pm 9,13	4,43 \pm 1,01	5,91 \pm 1,49	59,38 \pm 10,78	5,02 \pm 0,78	4,67 \pm 1,67	73,56 \pm 13,3 5	4,62 \pm 0,60	6,39 \pm 1,26
2-3 (n=8)	47,50 \pm 5,54	4,41 \pm 0,76	4,92 \pm 1,18	56,10 \pm 6,54	5,17 \pm 1,13	4,17 \pm 1,52	69,5 \pm 8,10	4,65 \pm 0,73	6,08 \pm 1,57
3-4 (n=17)	45,99 \pm 8,95	3,85 \pm 0,56	6,52 \pm 0,77	54,32 \pm 10,57	4,68 \pm 0,91	4,65 \pm 1,27	67,2 \pm 13,1 0	4,32 \pm 0,71	6,65 \pm 1,09
≥ 4 (n=9)	51,13 \pm 6,14	4,59 \pm 0,68	5,33 \pm 0,86	60,39 \pm 7,25	5,58 \pm 0,86	3,75 \pm 0,86	74,82 \pm 8,98	4,98 \pm 0,63	5,65 \pm 1,37

^a Valor expresso em (mg/L)/(g/dia); C/D: Concentração mínima estimada normalizada a dose; Cl: Clearance; DP: Desvio padrão; DL: Drug load; n: Frequência absoluta na amostra; Vd: volume de distribuição.

Verificou-se também que a capacidade preditiva dos modelos é muito similar (Tabela R17), observando-se que os erros associados ao modelo de Toublanc *et al.* não variou muito entre os vários sub-grupos, tal como os seus valores de C/D (Tabela R16), podendo, por isso, ser considerado o melhor modelo para esta variável. Para além disso, focando-nos no grupo de $DL \leq 2$, o modelo de Rhee *et al.*, destaca-se como aquele que apresenta os menores erros, mas em indivíduos com DL igual ou superior a 4, o melhor foi o modelo de Rhee *et al.*, quanto ao EM e EQM, e apesar do seu EM ser quase igual ao do Toublanc *et al.* nesse subgrupo, o modelo de Rhee *et al.*, é o que mais variou em contraste com a C/D e apresentando assim a menor capacidade preditiva.

Tabela R17: Capacidade preditiva absoluta de modelos testados tendo em conta a variável *drug load* (DL). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão Intervalo de confiança 95%).

DL	Toublanc (Média \pm DP)		Ito (Média \pm DP)		Rhee (Média \pm DP)	
	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²	EM (mg/L)	EQM (mg/L) ²
≤ 2 (n=14)	1,66 $\pm 3,91$ (-0,22-3,87)	16,92 $\pm 35,63$ (3,32-39,92)	-4,11 $\pm 6,45$ (-7,29-(-0,84))	55,54 $\pm 100,18$ (12,55-117,08)	0,92 $\pm 3,13$ (-0,88-2,43)	9,92 $\pm 11,96$ (4,92-17,03)
2-3 (n=8)	1,55 $\pm 4,22$ (-1,49-4,62)	18,03 $\pm 26,64$ (3,69-38,46)	-0,68 $\pm 4,13$ (-3,48-2,28)	15,38 $\pm 14,90$ (5,76-26,83)	3,50 ± 55 (-0,42-7,36)	39,23 $\pm 42,10$ (12,03-69,16)
3-4 (n=17)	2,00 $\pm 5,37$ (-0,39-4,66)	31,11 $\pm 73,50$ (6,87-72,26)	-5,62 $\pm 8,03$ (-9,46-(-2,00))	92,21 $\pm 195,86$ (19,73-201,75)	0,82 $\pm 5,00$ (-1,89-2,97)	24,21 $\pm 50,48$ (8,19-55,97)
≥ 4 (n=9)	2,71 $\pm 8,68$ (-1,72-9,46)	74,31 $\pm 185,66$ (5,80-217,24)	-3,44 $\pm 4,13$ (-6,19-(-1,04))	26,99 $\pm 46,00$ (2,40-63,34)	2,89 $\pm 4,75$ (-0,01-6,36)	28,38 $\pm 48,18$ (5,98-67,50)

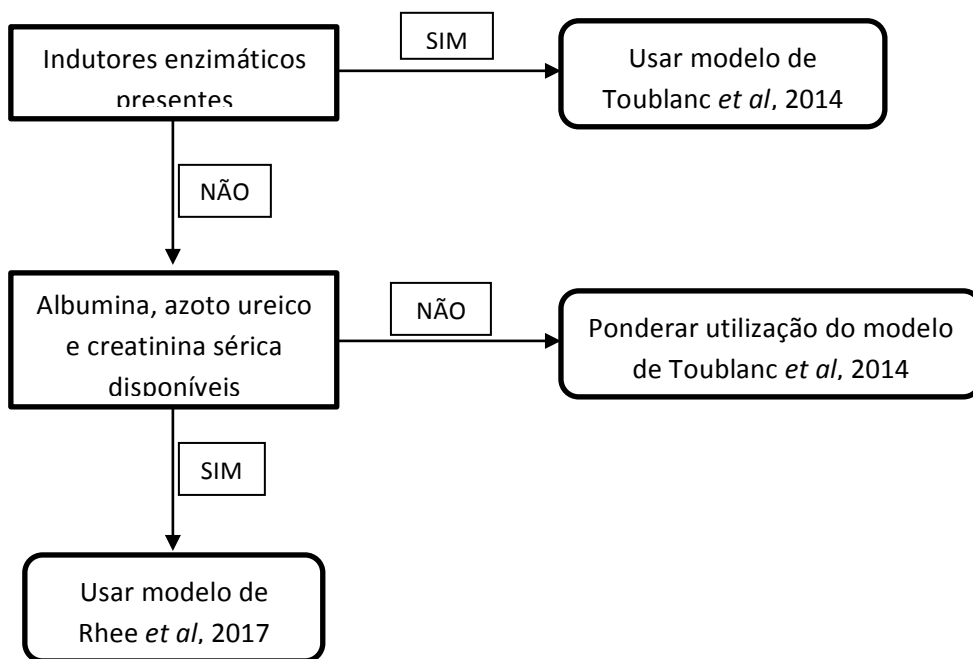
DP: Desvio padrão; DL: *Drug load*; mg/L; EM: Erro médio; EQM: Erro quadrático médio; miligramas por litros; IC: Intervalo de confiança; n: Frequência da amostra.

5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, verificou-se que o levetiracetam foi o fármaco mais utilizado na terapêutica de doentes com epilepsia refratária, quer em mono quer em politerapia, sendo a sua concentração, na média, inferior à margem terapêutica, evidenciado que, apesar das suas características farmacocinéticas ideais, as concentrações plasmáticas não são as adequadas. Foram por isso testados três modelos farmacocinéticos distintos e publicados por Rhee *et al.* (2017), Ito *et al.* (2016) e Toublanc *et al.* (2014) para avaliar a capacidade preditiva dos mesmos de acordo com as características demográficas e farmacológicas dos doentes.

Na generalidade, o modelo de farmacocinética populacional mais adequado para estimar as concentrações plasmáticas do levetiracetam na população em estudo é o modelo de Rhee *et al.* (2017), pois apresentou melhor exatidão e precisão para prever as concentrações plasmáticas de levetiracetam. A única exceção, foi aquando da co-administração de fármacos antiepilépticos indutores metabólicos, na qual se verificou que o modelo mais exato e preciso foi o de Toublanc *et al.* (2014). Assim, sempre que estiverem presentes fármacos indutores deverá ser usado o modelo de Toublanc *et al.* (2014). Quando não estão presentes fármacos antiepilépticos indutores e estão disponíveis os dados bioquímicos necessários para estimar a taxa de filtração glomerular (albumina, azoto ureico e creatinina) deverá ser usado o modelo de Rhee *et al.* (2017). Não estando presentes fármacos antiepilépticos indutores, nem não estando disponíveis os dados bioquímicos necessários para estimar a taxa de filtração glomerular, dever-se-á utilizar o modelo de Toublanc *et al.* (2014) (cuja taxa de filtração glomerular não é necessária para estimar valor da clearance do levetiracetam), uma vez que, este modelo demonstrou uma boa capacidade preditiva não só na generalidade dos doentes, mas também em particular nos doentes do género feminino, nos doentes com mais de 30 anos e nos doentes com IMC igual ou superior a 25 kg/m². No diagrama em baixo sugere-se, assim, a estratégia a utilizar na escolha do modelo mais adequado para prever a concentração plasmática de levetiracetam nos doentes com epilepsia refratária.

Fluxograma para uso de modelos



6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARONS, L. - Population pharmacokinetics: theory and practice. **Br J Clin Pharmacol.** 1991) 669–670.
- ALDAZ, Azucena; ALZUETA, Natalia; VITERI, César - Influence Of Comedication On Levetiracetam Pharmacokinetics. **Therapeutic Drug Monitoring.** . ISSN 0163-4356. 2017) 1. doi: 10.1097/FTD.0000000000000470.
- ALMEIDA, A. M. *et al.* - Lamotrigine pharmacokinetic evaluation in epileptic patients submitted to VEEG monitoring. **European Journal of Clinical Pharmacology.** . ISSN 00316970. 62:9 (2006) 737–742. doi: 10.1007/s00228-006-0144-9.
- ASHRAF, T.; KAO, A.; BENDAYAN, R. - Functional expression of drug transporters in glial cells: potential role on drug delivery to the CNS. **Adv Pharmacol.** 2014) 71:45–111.
- BAUER, J.; PFEIFFER, C.; BURR, W. - [Which factors have an impact on levetiracetam serum concentrations? An analysis in 163 patients with epilepsy]. **Nervenarzt.** 2010) 81(4):391-5.
- BAUER, Larry A. - **Applied Clinical Pharmacokinetics.** Second ed. New York : [s.n.]. ISBN 0071593721.
- BIALER, Meir; SOARES-DA-SILVA, Patricio - Pharmacokinetics and drug interactions of eslicarbazepine acetate. **Epilepsia.** . ISSN 00139580. 53:6 (2012) 935–946. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03519.x.
- BRUNTON, Lawrence - Goodman e Gilman Farmacologia 10Ed. Rio de Janeiro. 2005).
- CAWELLO, W. *et al.* - Advances in epilepsy treatment: lacosamide pharmacokinetic profile. **Ann N Y Acad Sci.** 2014) 1329:18-32.
- CHUNG, Steve S.; KELLY, Kristen; SCHUSSE, Courtney - New and Emerging Treatments for Epilepsy: Review of Clinical Studies of Lacosamide, Eslicarbazepine Acetate, Ezogabine, Rufinamide, Perampamil, and Electrical Stimulation Therapy. **Journal of epilepsy research.** . ISSN 2233-6249. 1:2 (2011) 35–46. doi: 10.14581/jer.11008.
- COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE; (CHMP) - Guideline on Reporting the Results of Population Pharmacokinetic Analyses. **Accessed on EMEA website.** June 2007 (2007) 1–11.
- CONTIN, M. *et al.* - Levetiracetam therapeutic monitoring in patients with epilepsy: effect of

- concomitant antiepileptic drugs. **The Drug Monit.** 2004) 26(4):375-9.
- CREPEAU, AZ; SIRVEN, JI - Management of adult onset seizures. **Simposium on Neurociences.** 2017) 92(2):296-304.
- DAVID, P.; LACKINGTON, I. - Levitiracetam. **Sociedade de Epileptologia de Chile.** 2002).
- DOMBROWSKI, SM *et al.* - Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy. **Epilepsia.** 2001) 42:1501–6.
- ENGELBORGHES, S.; D'HOOGHE, R.; DEYN, P. P. DE - Pathophysiology of epilepsy. **Acta neurol. belg.** . ISSN 0300-9009. 100:january (2000) 201–213. doi: 10.1016/0013-4694(90)92089-F.
- ETTE, E. I.; WILLIAM, P. J. - Pharmacometrics: the Science of quantitative Pharmacology. 2007).
- FALCÃO, A. *et al.* - Pharmacokinetics, drug interactions and exposure-response relationship of eslicarbazepine acetate in adult patients with partial-onset seizures: population pharmacokinetic and pharmacokinetic/pharmacodynamic analyses. **CNS Drugs.** 2012) 1;26(1):79-91.
- FDA, Us - Guidance for Industry Population Pharmacokinetics Guidance for Industry Population Pharmacokinetics. February (1999) 1–31.
- FORTUNA, A. *et al.* - Development and validation of an HPLC-UV method to the simultaneous quantification of carbamazepine, oxcarbazepine, eslicarbazepine acetate and their main metabolites in human plasma. **Anal Bionanal Chem.** (2010) 397(4):541-557.
- FRAGA, Joana Massano - Monitorização farmacocinética da digoxina em doentes internados no CHUC, E.P.E. 2014).
- FREITAS-LIMA, Priscila De *et al.* - Drug utilization profile in adult patients with refractory epilepsy at a tertiary referral center. **Arq Neuropsiquiatr.** June (2013) 856–861. doi: 10.1590/0004-282X20130169.
- FRENCH, J.; ARRIGO, C. - Rapid onset of action of Levetiracetam in refractory Epilepsy patients. **Epilepsia.** 2005) 48(2):324-6.
- GANDHI, Monica *et al.* - Sex Differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 2004) 44:499–523.

GILLARD, M.; WOOD, MD - Evidence for differential interaction of Brivaracetam and Levetiracetam with the synaptic vesicle 2A protein. **Epilepsia**. 2017) 58(2):255-262.

GONÇALVES, J. *et al.* - Development and full validation of an innovative HPLC-diode-array detection technique to simultaneously quantify lacosamide, levetiracetam and zonisamide, in human plasma. **Bioanalysis**. (2018) 10(8):541-557.

HIRSCH, LJ *et al.* - Effect of age and comedication on levetiracetam pharmacokinetics and tolerability. **Epilepsia**. 2007) 48(7):1351-9.

HOLTKAMP, M. - Pharmacotherapy for Refractory and Super-Refractory Status Epilepticus in Adults. **Drugs**. 2018) 78(3):307-326.

ITALIANO, D.; PERUCCA, E. - Clinical pharmacokinetics of new-generation antiepileptic drugs at the extremes of age: an update. **Clin Pharmacokinet**. 2013) 52(8):627-45.

ITO, Satoko *et al.* - Population pharmacokinetic modeling of levetiracetam in pediatric and adult patients with epilepsy by using routinely monitored data. **Therapeutic Drug Monitoring**. . ISSN 15363694. 38:3 (2016) 371–378. doi: 10.1097/FTD.0000000000000291.

JOHANNESSEN LANDMARK, C. *et al.* - The Impact of Pharmacokinetic Interactions With Eslicarbazepine Acetate Versus Oxcarbazepine and Carbamazepine in Clinical Practice. **Ther Drug Monit**. 2016) 38(4):499-505.

LAROCHE, Suzette M.; HELMERS, Sandra L. - The New Antiepileptic Drugs Scientific Review. **JAMA**. 2004) 291(5):605-614.

LAZAROWSKI, A. *et al.* - ABC transporters during epilepsy and mechanisms underlying multi-drug resistance in refractory epilepsy. **Epilepsia**. 2007) 48:140-9.

LEAL, Miguel - Taxa de Filtração Glomerular Estimada (TFGe). **Associação Portuguesa de Doentes Renais**. 2016) 1–3.

LOSCHER, W.; SCHMIDT, D. - Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. **Epilepsia**. 2011) 52:657-78.

MADEO, Marianna; KOVÁCS, Attila D.; PEARCE, David A. - The human synaptic vesicle protein, SV2A, functions as a galactose transporter in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**. . ISSN 1083351X. 289:48 (2014) 33066–33071. doi: 10.1074/jbc.C114.584516.

MAIO, Roberto DI - Neuronal mechanisms of epileptogenesis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. . ISSN 1662-5102. 8:February (2014) 1–2. doi: 10.3389/fncel.2014.00029.

MANGONI, A. A.; JACKSON, S. H. D. - Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications. **British Journal of Clinical Pharmacology**. . ISSN 03065251. 57:1 (2003) 6–14. doi: 10.1046/j.1365-2125.2003.02007.x.

MANNO, Edward M. - Status Epilepticus. **The Neurohospitalist**. . ISSN 1941-8744. 1:1 (2011) 23–31. doi: 10.1177/1941875210383176.

MARKOULA, S. *et al.* - Lacosamide serum concentrations in adult patients with epilepsy: the influence of gender, age, dose, and concomitant antiepileptic drugs. **Ther Drug Monit.** 2014) 36(4):494-8.

MAY, TW; KORN-MERKER, E.; RAMBECK, B. - Clinical pharmacokinetics of oxcarbazepine. **Clin Pharmacokinet.** 2003) 42(12):1023-42.

MEIBOHM, B.; BEIERLE, I.; DERENDORF, H. - How important are gender differences in pharmacokinetics? **Clinical Pharmacokinetics**. . ISSN 03125963. 41:5 (2002) 329–342. doi: 10.2165/00003088-200241050-00002.

MOHANRAJ, R. - Managing refractory epilepsy. **Salford Royal Hospital NHS Foundation Trust**. Chapter 27).

PATI, Sandipan; ALEXOPOULOS, Andreas V. - Pharmacoresistant epilepsy: From pathogenesis to current and emerging therapies. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**. . ISSN 08911150. 77:7 (2010) 457–467. doi: 10.3949/ccjm.77a.09061.

PATSALOS, Philip N. *et al.* - Antiepileptic drugs - Best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. **Epilepsia**. . ISSN 00139580. 49:7 (2008) 1239–1276. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01561.x.

PATSALOS, PN - Clinical Pharmacokinetics of Levetiracetam. **Clin Pharmacokinet.** 2004) 43(11):707-24.

PATSALOS, PN - Drug interactions with the newer antiepileptic drugs (AEDs)--part I: pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between AEDs. **Clin Pharmacokinet.** 2013) 52(11):927-66.

PICOT, Marie Christine *et al.* - The prevalence of epilepsy and pharmaco-resistant epilepsy in adults: A population-based study in a Western European country. **Epilepsia**. . ISSN 00139580. 49:7 (2008) 1230–1238. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01579.x.

PORTO, LA *et al.* - O papel dos canais iônicos nas Epilepsias e considerações sobre as drogas antiepilépticas: uma breve revisão. **J Epilepsy Clin Neurophysiol.** 2007) 13(4): 169-175.

POTSCHKA, H.; LOSCHER, W. - In vivo evidence for P-glycoprotein-mediated transport of phenytoin at the blood-brain barrier of rats. **Epilepsia.** 2001) 42:1231–40.

REMY, S. *et al.* - A novel mechanism underlying drug resistance in chronic epilepsy. **Ann Neurol.** 2003) 53:469-79.

RHEE, Su-jin *et al.* - Population pharmacokinetics and dose-response relationship of levetiracetam in adult patients with epilepsy. **Epilepsy Research**. . ISSN 09201211. 132:2017) 8–14. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2017.02.011.

ROGAWSK, MA; JOHNSON, MR - Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness. **Epilepsy Curr.** 2008) 8:127-30.

SCHEFFER, Ingrid E. *et al.* - Classificação da ILAE das epilepsias: artigo da posição da Comissão de Classificação e Terminologia da International League against Epilepsy. **Liga Brasileira de Epilepsia (online).** 2017) 1–25.

SCHMIDT, D.; LOSCHER, W. - New developments in antiepileptic drug resistance: an integrative view. **Epilepsy Curr.** 2009) 9:47-52.

SCHMIDT, Dieter - Drug treatment of epilepsy: Options and limitations. **Epilepsy and Behavior**. . ISSN 15255050. 15:1 (2009) 56–65. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.02.030.

SCHULZE-BONHAGE, A. - Zonisamide in the treatment of epilepsy. **Send to Expert Opin Pharmacother.** 2010) 11(1):115-26.

SCHULZE-BONHAGE, A. - A 2017 review of pharmacotherapy for treating focal epilepsy: where are we now and how will treatment develop? **Expert Opin Pharmacother.** 2017) 18(17):1845-1853.

SHAJU, Minumaria; ABRAHAM, Suja - Innovations in epilepsy management - An overview. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. . ISSN 14821826. 16:4 (2013) 564–576.

SISODIYA, SM *et al.* - Vascular colocalization of P-glycoprotein, multidrug- resistance associated protein 1, breast cancer resistance protein and major vault protein in human epileptogenic pathologies. **Neuropathol Appl Neuro- biol.** 2006) 32:51–63.

STĘPIEŃ, Karolina M. *et al.* - The multidrug transporter P-glycoprotein in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. **Pharmacological Reports**. . ISSN 17341140. 64:5 (2012) 1011–1019. doi: 10.1016/S1734-1140(12)70900-3.

TANG, Fei; HARTZ, Anika M. S.; BAUER, Björn - Drug-resistant epilepsy: Multiple hypotheses, few answers. **Frontiers in Neurology**. . ISSN 16642295. 8:JUL (2017) 1–19. doi: 10.3389/fneur.2017.00301.

THOMSON, PDR; MONTVALE, NJ - Physicians Desk Reference. 2007) 3316.

TOUBLANC, Nathalie; LACROIX, Brigitte D.; YAMAMOTO, Junichi - Development of an Integrated Population Pharmacokinetic Model for Oral Levetiracetam in Populations of Various Ages and Ethnicities. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**. . ISSN 13474367. 29:1 (2014) 61–68. doi: 10.2133/dmpk.DMPK-13-RG-045.

WEERASAK CHONCHAIYA, MDA, B, ANDREA SCHNEIDER, PHDA, C, AND RANDI J HAGERMAN, MDA, D - NIH Public Access. **Adv Pediatr**. 27:4 (2009) 1–10. doi: 10.1016/j.ncl.2009.06.001. Identification.

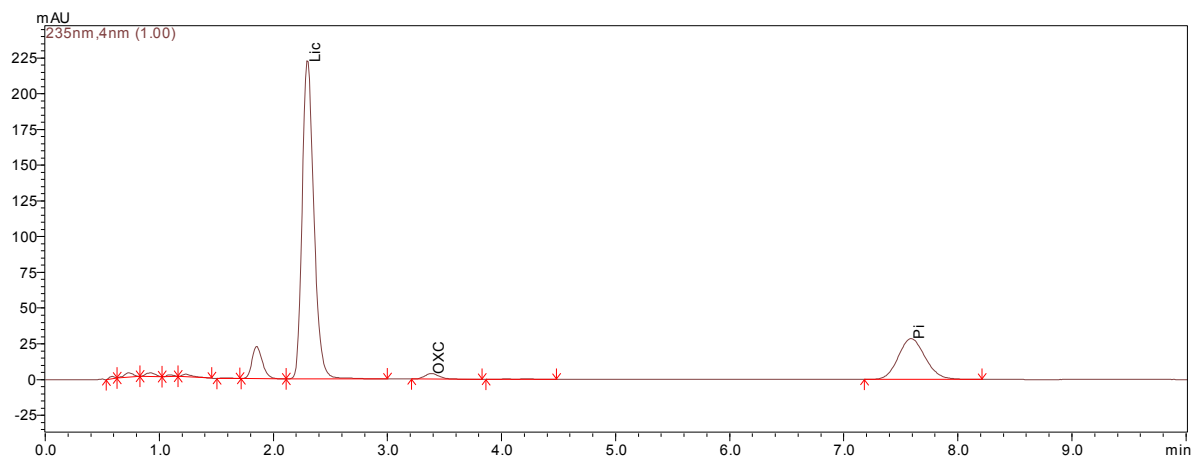
WITT, Juri-alexander; HELMSTAEDTER, Christoph - Author's Accepted Manuscript. **European Neuropsychopharmacology**. . ISSN 0924-977X. 2015). doi: 10.1016/j.euroneuro.2015.07.027.

YUBICAN, ET; CONTRERAS-CAIDEDO, G.; RIOS-POHL, L. - Tratamento Medicamentoso das Epilepsias. **Leitura Medica Lda.** 2014).

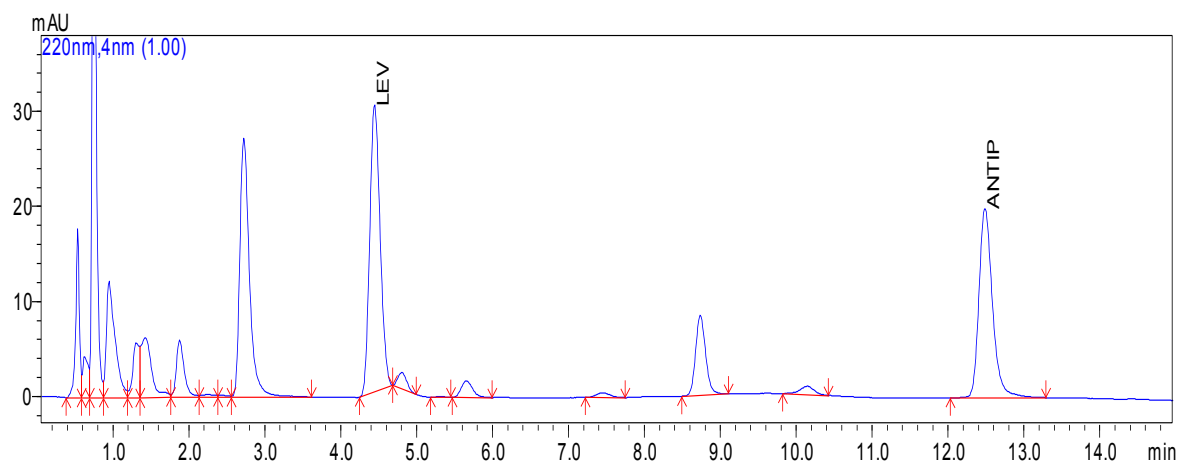
<http://www.drugbank.ca/drugs/DB09119>. Consultado em 04 de Novembro 2017, 18:32h

7. ANEXOS

7.1. Cromatograma



7.2. Cromatograma de uma amostra de plasma de um doente medicado com levetiracetam (LEV) onde o padrão interno utilizado é a antipirina (antip)



7.3. Resultados de concentrações determinadas a partir dos cromatogramas obtidos do HPLC

Tabela abaixo construída após determinação, com concentrações de fármacos cuja monitorização foi solicitada, e depois integrada em relatórios para responder ao solicitante.

Fármacos	Dose e Via de Admin.	Data/Horário de Admin.	Tempo de Colheita Pós-dose	Concent. Plasmática	Margem Terapêutica
Lacosamida	200 mg Oral (150+0+200)	16-10-2017 / 20h	12 h	6,16 mg/L	5-10 mg/l
Levetiracetam	1500 mg Oral (1+0+1)	16-10-2017 / 20h	12 h	21,65 mg/L	12-46 mg/l
Carbamazepina	400mg (1+0+1)	16-10-2017 / 20h	12h	12,62mg/L	4-12 mg/l
Carbamazepina-Epoxido				4,09mg/L	Ideal: < 40% de [CBZ] < 30 mg/L (toxicidade moderada) > 40 mg/L (toxicidade major)

Admin: Administração; Concent: Concentração.