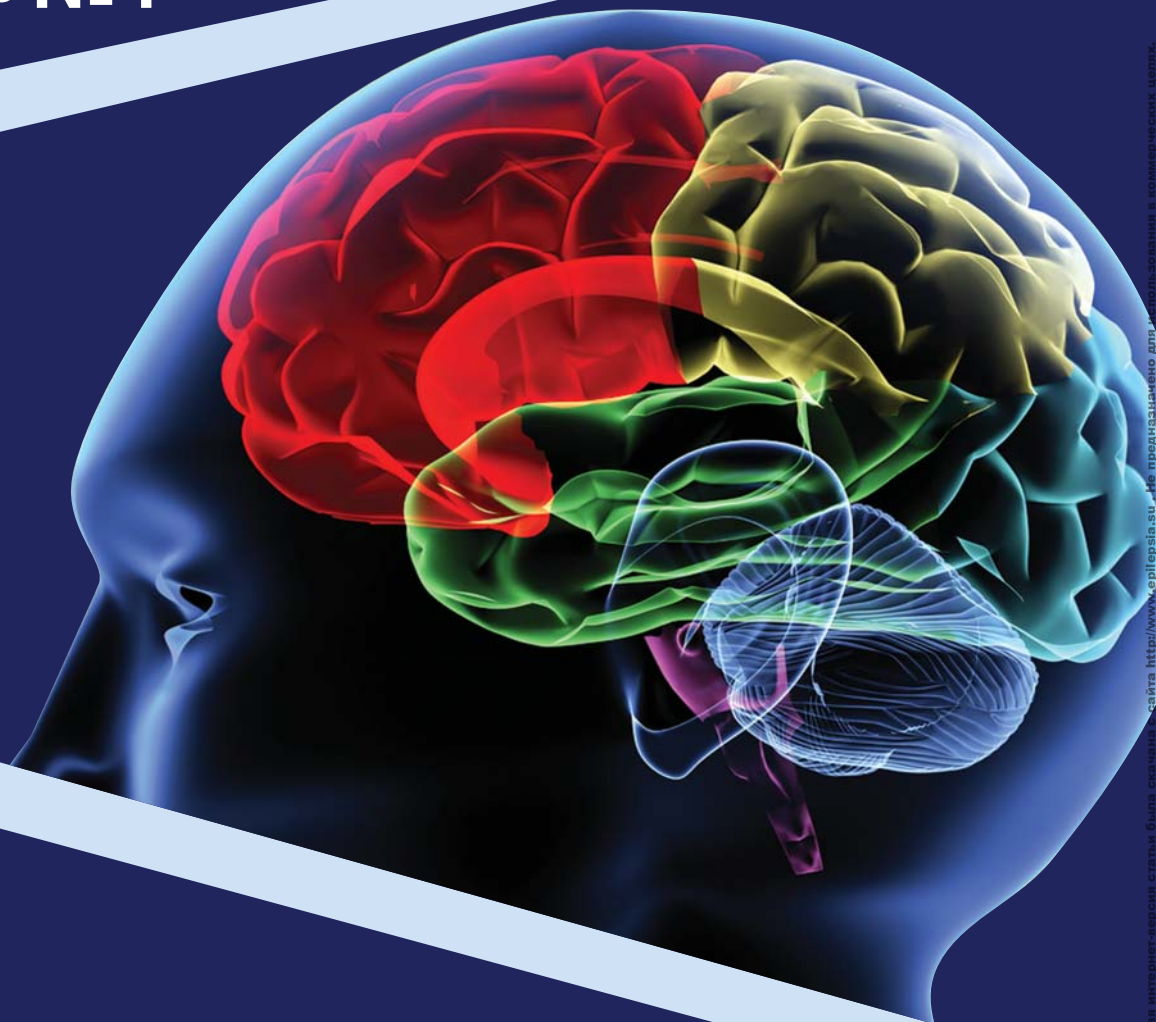


Проблемная комиссия «Эпилепсия. Пароксизмальные состояния» РАМН
и Министерства здравоохранения Российской Федерации

Российская Противозепилептическая Лига

ЭПИЛЕПСИЯ и пароксизмальные состояния

2013 Том 5 №4



Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов
и изданий ВАК

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ ЛАМОТРИДЖИНА: РАЗРАБОТКА ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ С ЦЕЛЬЮ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ

Абаимов Д.А., Сариев А.К., Танкевич М.В., Стырова Е.Ю.,
Шведков В.В., Носкова Т.Ю., Сейфулла Р.Д.

ФГБУ «Научный центр неврологии» Российской академии медицинских наук, Москва

Резюме: в работе представлены результаты терапевтического лекарственного мониторинга ламотриджина у больных с криптогенно-фокальной эпилепсией с использованием плазмы крови и слюны в качестве биологического материала. Сравнительный анализ стационарных концентраций ламотриджина (Css_{MIN} и Css_{MAX}) как в плазме крови, так и в слюне позволяет сделать вывод о возможности применения слюны в качестве биологического субстрата для терапевтического лекарственного мониторинга.

Ключевые слова: терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ), ламотриджин, фармакокинетика, антиконвульсанты, стационарные концентрации (Css), плазма крови, слюна.

Введение

Ламотриджин – противоэпилептическое средство, одобренное в 1994 г. Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) для адъювантного лечения парциальной эпилепсии. По химической природе данное вещество относится к производным фенилтриазина. Изначально данный препарат разрабатывался как антагонист фолиевой кислоты, однако данный эффект оказался слабым. Механизм действия данного препарата до настоящего времени не выяснен в полной мере. Предположительно за реализацию эффектов указанного препарата отвечает целый ряд различных молекулярных мишеней. Это

может свидетельствовать о том, что ламотриджин является мультитаргетным лекарственным средством. Так, известно, что ламотриджин вызывает ингибирование потенциалзависимых натриевых каналов, модулирует высвобождение возбуждающих нейромедиаторов и демонстрирует выраженный мембраностабилизирующий эффект. Необычным свойством ламотриджина является то, что его фармакологический эффект не затрагивает нормальную синаптическую проводимость, но при этом ламотриджин ингибирует аномальную эпилептиформную натриевую проводимость нейронов. Также существуют литературные данные относительно того, что в реализацию антиэпилептических свойств данного препарата вовлечены кальциевые каналы L-, N- и P-типа. У ламотриджина обнаружен нейропротекторный эффект как в исследованиях на культурах клеток, так и на моделях различных нейропатологий. В исследованиях *in vitro* ламотриджин демонстрирует слабовыраженное сродство к серотониновым рецепторам 5HT-3. В исследованиях *in vivo* на моделях продемонстрированы ингибирующие эффекты ламотриджина на аденилатциклазу, ассоциированную с кортикальными серотониновыми рецепторами 5HT1-A. По всей видимости, именно ингибирующее влияние на серотониновые рецепторы является причиной способности ламотриджина опосредованно угнетать высвобождение глутамата в корковых проекциях на лимбических областях вентрального стриатума. Таким образом, в спектре фармакологической активности данного препарата присутствует

антиглутаматергический компонент. Вероятно, ком-плексный механизм действия обуславливает широкий спектр активности ламотриджина при эпилепсии и положительное влияние на настроение, что используется в лечении биполярных расстройств [5]. Широкий спектр действия подразумевает возможность использования ламотриджина при всех формах эпилепсии. Ламотриджин применяется как в моно-, так и в политерапии при парциальных, генерализованных судорожных припадках, монотерапии типичных абсансов. Применение препарата требует большой осторожности при назначении больным с миоклоническими припадками. В литературе описана аггравация и появление негативного миоклонуса под влиянием ламотриджина при роландической эпилепсии, болезни Унферрихт-Лундборга и идиопатической генерализованной эпилепсии. К преимуществам упомянутого препарата следует отнести минимально выраженные побочные эффекты. Он не изменяет психомоторные, когнитивные функции и память пациентов, не вызывает седации и не провоцирует увеличение массы тела больных [1].

Фармакокинетика ламотриджина имеет ряд характерных особенностей. Ламотриджин очень быстро всасывается после перорального приема с высокой степенью биодоступности (98%), причем всасывание препарата в ЖКТ не зависит от характера и времени приема пищи. Ламотриджин минимально метаболизируется во время первого прохождения через печень. Максимальная концентрация (C_{max}) препарата в плазме крови наступает через 1-3 ч. Ламотриджин в крови частично находится в связанном с белками виде. В среднем коэффициент связывания с белками плазмы может колебаться от 55 до 68%. Препарат демонстрирует высокую тканевую доступность, то есть легко проникает в большинство тканей и органов (в т.ч. и в ткань головного мозга), способен проникать через плацентарный барьер и обнаруживается в тканях плода и грудном молоке. Период полувыведения ламотриджина при монотерапии составляет приблизительно 25-30 ч. Препарат утилизируется преимущественно ферментами печени, причем основным путем метаболизма является N-глюкуронирование с образованием неактивного метаболита, который впоследствии экскретируется с мочой. Этим путем выводится до 90% препарата [4]. Различные виды комедикации способны влиять на скорость выведения ламотриджина и изменять период полувыведения препарата. При назначении ламотриджина в комбинации с индукторами цитохрома P450, такими, как карбамазепин, фенobarбитал или фенитоин, период полувыведения препарата уменьшается примерно до 15 ч. Напротив, прием препаратов, ингибирующих глюкуронирование, вызывает увеличение периода полувыведения ламотриджина. Так, вальпроевая кислота, ингибируя глюкуронирование ламотриджина, увеличивает период его полураспада до 50 ч. Выраженное влияние на фармакоки-

нетику ламотриджина оказывает прием оральных контрацептивов, которые нередко вызывают значительное (до 50%) снижение уровня препарата в крови. Одной из фармакологических особенностей ламотриджина является то, что уровень ламотриджина в плазме крови не дает возможности надежно спрогнозировать клиническую реакцию. Предлагаемый большинством клинических справочников терапевтический диапазон 3-14 мкг/мл демонстрирует значительное наложение с токсическим диапазоном данного препарата. Зачастую наращивание концентрационного уровня ламотриджина до субтоксического диапазона вызывает серьезный побочный эффект – высыпание, которое встречается приблизительно у десяти процентов пациентов, принимающих ламотриджин. Это высыпание варьирует по серьезности, но иногда может привести к отмене фармакотерапии ламотриджином. Причиной данного побочного эффекта нередко является комедикация препаратами из группы вальпроатов, которые увеличивают период полувыведения ламотриджина [3,5,7].

Эта и другие фармакологические особенности препарата делают обоснованным проведение терапевтического лекарственного мониторинга ламотриджина.

Материалы и методы

ТЛМ проводили у 57 больных фокальной эпилепсией (35 женщин, 22 мужчин), обратившихся в научно-консультативное отделение НЦН РАМН. Средний возраст – $34,5 \pm 11,79$ (от 18 до 66) лет, Верификация диагноза проводилась на основании данных анамнеза, характера припадков, ЭЭГ, включая и мониторинг ЭЭГ, МРТ головного мозга, в т.ч. с использованием режимов, позволяющих оптимизировать диагностику поражений гиппокампа и гетеротопии серого вещества. 25 больных принимали ламотриджин в режиме монотерапии; в режиме политерапии:

- ламотриджин+индукторы (топирамат, левитирацетам, окскарбазепин) – 9 больных;
- ламотриджин+ингибитор глюкуронирования (вальпроат) – 4 больных;
- ламотриджин+индукторы (карбамазепин, безонал и др.) – 9 больных.

Суточные дозы ламотриджина при монотерапии варьировали от 25 до 450 мг ($218,86 \pm 114,88$ мг), от 0,35-7,69 ($3,1 \pm 1,73$) мг/кг массы тела в сут. В группе больных, принимавших ламотриджин на фоне политерапии, дозы препарата варьировали в диапазоне от 100 до 300 мг ($182,95 \pm 74,55$ мг), от 0,92 до 4,31 ($2,49 \pm 1,1$) мг/кг массы тела в сут. Ремиссия – 21 больной, 36 нуждались в коррекции терапии. Отбор крови для ТЛМ производили у каждого пациента двукратно по принципу «пик-спад»: первый отбор крови производился утром натощак, до приема ламотриджина, что согласно литературным данным соответствует минимальной стационарной концентрации ламотриджина в крови CSS_{min} [4], второй отбор осуществ-

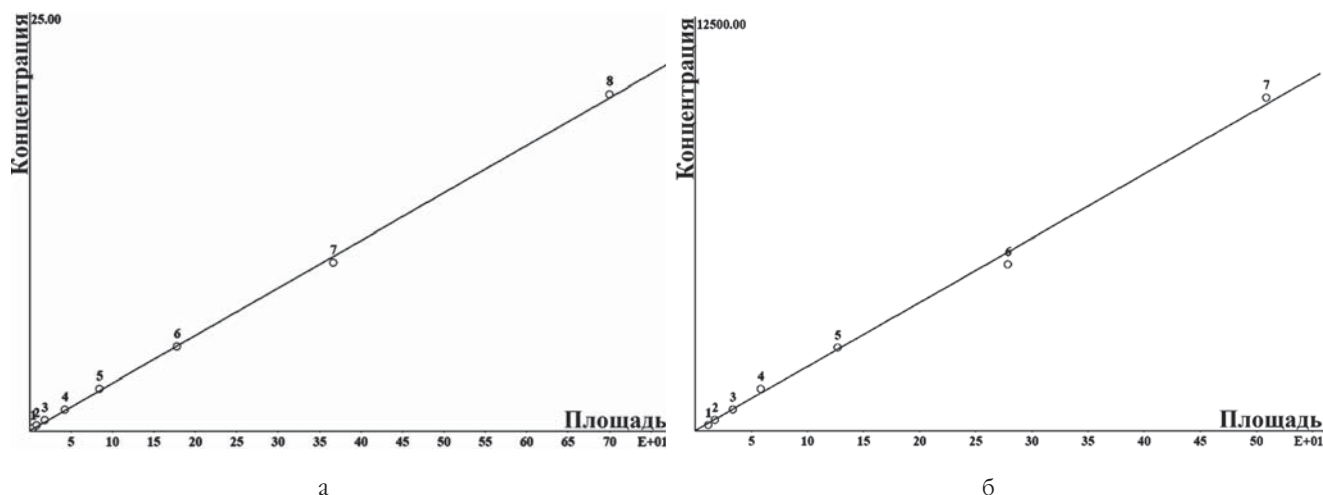


Рисунок 1. Калибровочная кривая ламотриджина (а – слюна; б – плазма крови).

влили через 3 ч после приема препарата, что соответствовало максимальной стационарной концентрации CSS_{max} . Кровь брали из локтевой вены одноразовыми шприцами в количестве 5 мл в стеклянные пробирки с добавлением гепарина, затем путем центрифугирования получали плазму крови. Плазма хранилась при температуре -24°C .

Количественное определение ламотриджина в плазме крови и слюне осуществляли по авторскому методу. Для повышения процента извлечения ламотриджина к 0,5 мл биопробы добавляли 0,5 мкл 2 М гидроксида натрия и тщательно перемешивали. Затем в экстракционную пробирку добавляли 5 мл этилацетата и встряхивали на орбитальном шейкере в течение 20 мин. при 300 г.р.м. Далее пробирки центрифугировали в течение 10 мин. при 2000 g. Верхний органический слой декантировали, переносили в чистые пробирки и упаривали в вакуумном центрифужном концентраторе при температуре 60°C . Сухой остаток растворяли в 0,5 мл метанола и вводили в петлю хроматографа в объеме 50 мкл. Было установлено, что в указанных условиях процент извлечения ламотриджина из слюны составляет $82,36 \pm 2,32\%$, а из плазмы крови – $95,4 \pm 1,9\%$.

Условия хроматографирования: Хроматографическое определение ламотриджина осуществляли по методу Greiner-Sosanko E. с модификациями [6]. Хроматографическое оборудование – хроматограф «System Gold» фирмы Beckman Coulter, Inc., США, оборудованный градиентным насосом постоянного давления System Gold[®] 127 и спектрофотометрическим детектором System Gold[®] 166. Аналитическая колонка – Luna 5u C₁₈ 100A фирмы Phenomenex, США (250×4,6 мм; 5 мкм). Детектирование проводили при длине волны спектрофотометра $\lambda=268$ нм. Подвижная фаза – ацетонитрил: 30 мМ фосфатный буфер (pH 3,7) (25:75, v/v); скорость потока подвижной фазы – 1,2 мл/мин. Продолжительность хроматографирования – 15 мин. Разделение проводили при темпе-

ратуре термостата 30°C . Перед хроматографированием подвижную фазу фильтровали и дегазировали на ультразвуковой бане. Количественное определение ламотриджина проводили методом абсолютной калибровки (растворы рабочих стандартных образцов готовили на плазме крови или слюне последовательным разведением матричного раствора субстанции ламотриджина). Установлено, что в диапазоне концентраций 0,1–10 мкг/мл калибровочная кривая линейна (см. рис. 1).

Стандартная кривая ламотриджина описывалась уравнением: $C_{\text{ламотриджина}} = 0,028302 \times S$ ($r=0,9997$) – для слюны; $C_{\text{ламотриджина}} = 19,287710 \times S$ ($r=0,9987$) – для плазмы крови, где S – площадь хроматографического пика вещества (в единицах интегрирования хроматографа, mAU×сек.) и C – концентрация в мкг/мл. В этих условиях время удерживания для ламотриджина составляло 4,8 мин. Предел количественного обнаружения ламотриджина составил 100 нг/мл. Относительная ошибка метода для определения концентрации 100 нг/мл не превышала 10%. Ниже представлена стандартная хроматограмма ламотриджина (концентрация 10,0 мкг/мл) (см. рис. 2).

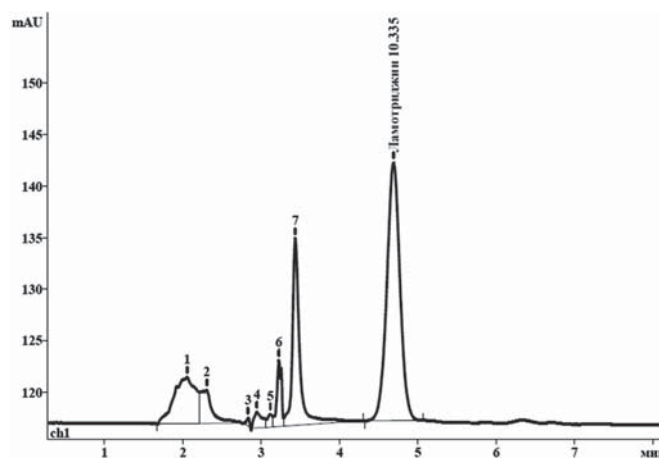


Рисунок 2. Хроматограмма ламотриджина.

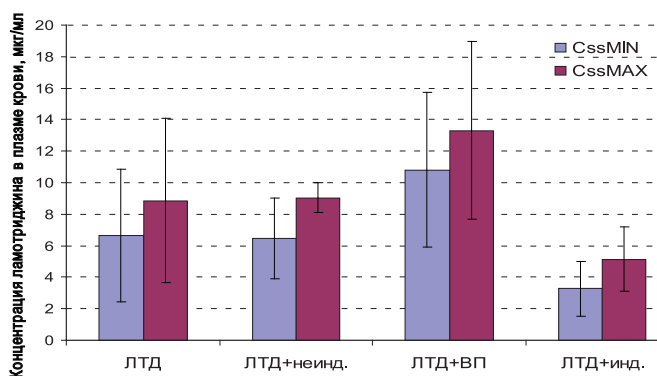


Рисунок 3. Стационарные концентрации (Css) ламотриджина (ЛТД) (мкг/мл) в плазме крови больных на фоне моно- и политерапии (M±S.D.).

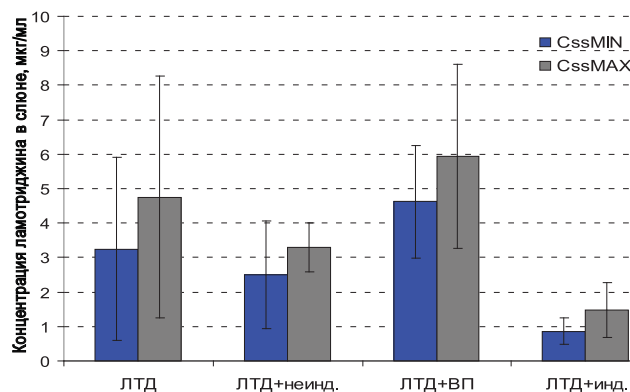


Рисунок 4. Стационарные концентрации (Css) ламотриджина (ЛТД) (мкг/мл) в слюне больных на фоне моно- и политерапии (M±S.D.).

Комбинации	Плазма крови		Слюна	
	Css _{min}	Css _{max}	Css _{min}	Css _{max}
Монотерапия	6,81 ± 4,77	9,06 ± 6,06	3,25 ± 2,66	4,75 ± 3,51
ЛТД+неиндукторы (топирамат, леветирацетам, оксикарбазепин)	7,36 ± 3,87	8,71 ± 5,00	2,50 ± 1,56	3,30 ± 0,71
ЛТД+ингибитор (вальпроат)	10,95 ± 5,22	13,35 ± 5,87	4,62 ± 1,64	5,93 ± 2,67
ЛТД+индукторы (карбамазепин, бензонал)	3,19 ± 1,33	4,77 ± 1,59	0,86 ± 0,39	1,48 ± 0,79

Таблица 1. Стационарные концентрации (Css) ламотриджина (мкг/мл) в плазме крови и слюне у больных на фоне моно- и политерапии (M±S.D.).

Результаты

Из приведенных ниже результатов исследования (см. рис. 3 и 4, табл. 1) видно, что можно проследить четкую закономерность в характере изменений значений стационарных концентраций (Css_{MIN} — минимальная стационарная концентрация, Css_{MAX} — максимальная стационарная концентрация) ламотриджина как в плазме крови, так и в слюне. Из рисунка 3 видно, что при фармакологических эффектах, вызванных комедикацией, все изменения концентраций ламотриджина в плазме крови и в слюне происходят однонаправленно. Следует отметить, что комбинация с вальпроатом (ВП) достоверно увеличивает стационарную концентрацию ламотриджина, а комбинированное применение ламотриджина с индукторами микросомальных ферментов печени, в частности с антиконвульсантом карбамазепином, достоверно снижает концентрацию ламотриджина как в плазме крови, так и в слюне. При этом в плазме крови ВП увеличивает концентрацию ламотриджина ~ на 35%, индукторы микросомальных ферментов печени, напротив, снижают концентрацию ламотриджина ~ на 46%. В то же время в слюне ВП увеличивает концентрацию ламотриджина приблизительно на 25%, индукторы микросомальных ферментов печени снижают концентрацию ламотриджина более чем на 70%.

Концентрация ЛТД в слюне демонстрирует высокий уровень корреляции с концентрациями ЛТД в

плазме. Значения концентрации в слюне составляет в среднем 40% от значений концентрации в плазме.

Из рисунка 5 видно, что концентрационные значения препарата в слюне довольно хорошо коррелируют с таковыми для плазмы крови (сильная положительная корреляционная связь, R>0,7), что говорит о перспективности применения слюны в качестве биологической жидкости для терапевтического лекарственного мониторинга.

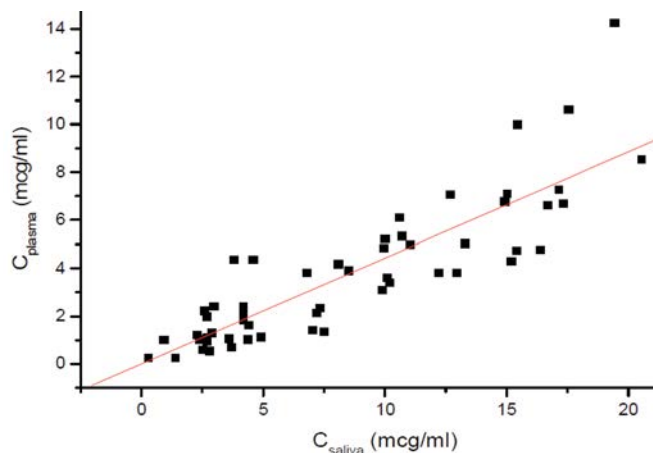


Рисунок 5. Графическое изображение линейной регрессии, отражающей степень корреляции концентраций ламотриджина в слюне и в плазме крови. По оси абсцисс указана концентрация ламотриджина в слюне, по оси ординат — концентрация ламотриджина в плазме крови пациентов (мкг/мл).

Изучение концентраций препаратов в слюне, помимо прямого практического смысла, то есть применения слюны в качестве биологического субстрата для ТЛМ, имеет и важную научную составляющую. Поскольку в слюну через клетки эндотелия сосудов не проходят вещества, связанные с высокомолекулярными биополимерами, слюна является идеальным биологическим объектом для изучения фармакокинетического поведения свободной фракции препарата (несвязанной с белками плазмы – плазмы крови). Так, например, из литературных данных известно, что ламотриджин связывается с белками плазмы крови на 55% [8,9]. Поэтому представляло значительный интерес изучить соотношение между концентрациями ламотриджина в плазме крови и слюне. В результате сравнительного анализа содержания ламотриджи-

на в плазме крови и в слюне нами было показано, что концентрации ламотриджина в слюне в среднем составляют 44% от концентрации ламотриджина в плазме крови. Был рассчитан предиктор – коэффициент экстраполяции, который составил 2,25947, то есть концентрацию в плазме крови можно рассчитать по формуле $C_{пл} = 2,25947 * C_{сл}$. Коэффициент корреляции составил $R^2 = 0,86855$ при уровне значимости $P < 0,0001$ (по критерию Пирсона), что говорит о высокой прогностической значимости полученных данных.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что значения корреляции концентраций ламотриджина в слюне и плазме крови в целом достаточно высоки, что делает перспективным применение слюны в качестве биологического субстрата для терапевтического лекарственного мониторинга.

Литература:

1. Носкова Т.Ю. Ламотриджин в лечении эпилепсии у взрослых. Русский медицинский журнал. 2007; 15 (24).
2. Сычев К.С. Практическое руководство по жидкостной хроматографии. 2010; с. 216.
3. Dahl M., Wolf P., Khinchi M.S., Nielsen K.A. Lamotrigine therapeutic thresholds. *Seizure*. 2008; 17: 391-395
4. Garnett W. Lamotrigine: Pharmacokinetic. *J. Child. Neurol.* 1997; 12: 10-15.
5. Goldsmith D.R., Wagstaff A.J., Ibbotson T., Perry C.M.. Lamotrigine: A Review of its Use in Bipolar Disorder *Drugs*. 2003; 63: 2029-2050.
6. Greiner-Sosanko E., Lower D.R., Virji M.A., Krasowski M.D. Simultaneous determination of lamotrigine, zonisamide, and carbamazepine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed. Chromatogr.* 2007; 21: 225-228.
7. Malone S., Eadie M., Addison R. Monitoring salivary lamotrigine concentrations. *J. Clin. Neurosci.* 2006; 13: 902-907.
8. Ryan M., Grim S., Miles M. et al. Correlation of lamotrigine concentrations between serum and saliva. *Pharmacotherapy*. 2003; 23: 1550-1557.
9. Tsiropoulos I., Kristensen O., Klitgaard N.A. Saliva and Serum Concentration of Lamotrigine in Patients With Epilepsy. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2000; 22: 517-521.

THERAPEUTIC DRUG MONITORING OF LAMOTRIGINE: DEVELOPMENT OF PHARMACOKINETIC APPROACHES AIMING AT THE INDIVIDUAL-BASED ANTICONVULSIVE PHARMACOTHERAPY

Abaimov D.A., Sariev A.K., Tankevich M.V., Styrova E.Yu., Schvedkov V.V., Noskova T.Yu., Seifulla R.D.

The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Abstract: this paper presents the results of therapeutic drug monitoring of lamotrigine, an anticonvulsant epilepsy medication, in patients with cryptogenic focal epilepsy using plasma and saliva as a biological material for drug testing. Comparative analysis of the steady-state plasma and saliva lamotrigine concentrations (C_{ss}MIN and C_{ss}MAX) allows the conclusion that saliva can be used as a suitable biological substrate for therapeutic drug monitoring.

Key words: therapeutic drug monitoring (TDM), lamotrigine, pharmacokinetics, anticonvulsants, steady-state concentrations (C_{ss}), plasma, saliva.