

# Terapijsko praćenje koncentracije u krvi antiepileptika nove generacije

---

**Galinec, Magdalena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:852414>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Magdalena Galinec**

**TERAPIJSKO PRAĆENJE  
KONCENTRACIJE U KRVI  
ANTIEPILEPTIKA NOVE GENERACIJE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2019.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Magdalena Galinec**

**TERAPIJSKO PRAĆENJE  
KONCENTRACIJE U KRVI  
ANTIEPILEPTIKA NOVE GENERACIJE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2019.**

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra u Osijeku.

Mentorica rada: doc.dr.sc. Suzana Mimica Matanović, dr. med.

Rad ima 34 lista, 1 tablicu i 5 slika.

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Suzani Mimici Matanović, dr. med. na savjetima, vremenu i neizmjernom strpljenju koje je uložila tijekom pisanja i izrade ovoga rada.

Hvala dr.sc. Dariu Mandiću, spec. analit. toksikologije te Tihani Pavošević, mag. med. biochem. pomoći u prikupljanju podataka.

Također, veliko hvala kolegicama i prijateljicama, Ani i Luciji, koje su mi pružale potporu tijekom lijepih ali i manje lijepih trenutaka studiranja.

Želim se zahvaliti i svojoj obitelji i prijateljima na pruženoj potpori i strpljenju tijekom cjelokupnog školovanja.

## SADRŽAJ

<b>POPIS KRATICA</b> .....	I
<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Farmakološko liječenje epilepsije .....	1
1.1.1. Antiepileptici nove generacije .....	2
1.2. Terapijsko praćenje koncentracije lijekova u krvi .....	2
1.2.1. Indikacije za određivanje i karakteristike lijekova koje je potrebno pratiti .....	3
1.2.2. Koncentracija lijeka u krvi .....	3
1.2.3. Preporuke za praćenje lijekova tijekom terapije.....	4
1.3. Terapijsko praćenje antiepileptika stare generacije .....	4
1.4. Terapijsko praćenje antiepileptika nove generacije .....	5
1.4.1. Terapijski intervali za nove antiepileptike.....	6
1.4.2. Lamotrigin .....	6
1.4.3. Topiramata.....	7
1.5. Tekućinska kromatografija spregnuta s tandemskom masenom spektrometrijom .....	7
<b>2. CILJEVI RADA</b> .....	9
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	10
3.1. Ustroj studije .....	10
3.2. Materijali .....	10
3.3. Metode.....	10
3.4. Statističke metode .....	12
<b>4. REZULTATI</b> .....	13
<b>5. RASPRAVA</b> .....	17
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	21
<b>7. SAŽETAK</b> .....	22
<b>8. SUMMARY</b> .....	23
<b>9. LITERATURA</b> .....	25
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	28

## POPIS KRATICA

APCI	engl. <i>Atmospheric pressure chemical ionization</i> Kemijaska ionizacija pri atmosferskom tlaku
CYP2C19	engl. <i>Cytochrome P450 2C19</i>
CYP3A4	engl. <i>Cytochrome P450 3A4</i>
ESI	Elektrosprej ionizacija
GABA	engl. <i>Gamma aminobutyric acid</i> Gama-aminomaslačna kiselina
HPLC	engl. <i>High-performance liquid chromatography</i> Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
ILAE	engl. <i>The International league against epilepsy</i> Svjetska liga protiv epilepsije
LC MS/MS	engl. <i>Liquid chromatography-tandem mass spectrometry</i> Tekućinska kromatografija spregnuta s tandemskom masenom spektrometrijom
MRM	engl. <i>Multiple reaction monitoring</i> Praćenje višestrukih reakcija
MS	maseni spektrometar
SANAD	engl. <i>Standard and new antiepileptic drugs</i> Standardni i novi antiepileptici
TDM	engl. <i>Therapeutic drug monitoring</i> Terapeutsko praćenje koncentracije lijekova
TSI	Termosprej ionizacija
UDP	
- transferaza	engl. <i>Uridine diphosphate transferase</i> Uridin difosfat transferaza
UHPLC	engl. <i>Ultra-high-performance liquid chromatography</i> Tekućinska kromatografija ultra visoke djelotvornosti

## 1. UVOD

Gotovo 1% populacije boluje od epilepsije što ju čini najčešćom kroničnom neurološkom bolešću (1). Simptomi nastupaju uslijed izbijanja živčanih impulsa u mozgu koji dovode do karakterističnih epileptičnih napadaja. Epilepsija je jedna od rijetkih bolesti koja se, izborom pravog lijeka na temelju ispravno postavljene dijagnoze, može kontrolirati i dovesti u stanje remisije. Međutim, terapija epilepsije zahtijeva praćenje zbog pojave mogućih neslaganja između primijenjene doze i učinka.

### 1.1. Farmakološko liječenje epilepsije

Glavni ciljevi liječenja epilepsije su smanjenje učestalosti epileptičnih napadaja, prevencija pojave novih napadaja te osiguranje kvalitete života (2). Epilepsija se kod većine ljudi uspješno kontrolira uvođenjem antiepileptika. Prilikom odabira antiepileptika uzimaju se u obzir i specifičnosti bolesnika poput dobi, spola, komorbiditeta, životnih navika i slično (2). Preferira se upotreba jednog lijeka jer većina antiepileptika ima uzak terapijski prozor pa bi interakcije između lijekova dodatno otežale liječenje. Antiepileptici se uvode sporo; započinje se malom dozom antiepileptika prve linije koja se postupno titrira sve dok se ne uspostavi kontrola napadaja. Ako se unatoč terapiji stanje bolesnika ne promijeni, uvodi se zamjenska monoterapija drugim lijekom prve linije (2, 3). Iako se politerapija ne preporuča, opravdana je u slučaju kada su iscrpljene sve monoterapijske mogućnosti za određeni tip epilepsije. Antiepileptike možemo podijeliti prema mehanizmu djelovanja, vrsti napadaja ili sindroma za koju se preporučuju te prema liniji izbora kojoj pripadaju. Najuvrženija je vremenski determinirana podjela koja antiepileptike dijeli na one „stare“ i „nove“ generacije. Antiepileptici koji u rutinsku primjenu ulaze od 1989. god. (po nekim autorima od 1990. god.) klasificirani su kao antiepileptici nove generacije (2, 3, 4).

**Antiepileptici stare generacije su:** barbuturati (fenobarbiton, metilfenobarbiton, primidon), fenitoin, , acetazolamid, etosuksimid, sultiam, karbamazepin, valproat te klobazam.

**Antiepileptici nove generacije su:** zonisamid, vigabatrin, okskarbazepin, lamotrigin, felbamat, gabapetin, topiramata, tiagabin, levetiracetam, stiripentol, pregabalin, rufinamid, lakozamid, eslokarbazepin acetat, retigabin, parampanel te kanabidiol.

Za liječenje generaliziranih, toničko-kloničkih napadaja smjernice preporučuju uvođenje topiramata, karbamazepina, fenitoina, Na-valproata ili valpromida, dok su za tzv. apsans napadaje lijekovi izbora etosuksimid i Na-valproat ili valpromid. Lijekovi izbora za parcijalne



epileptične napadaje su karbamazepin, lamotrigin, levetiracetam, Na-valproat ili valpromid i fenitoin. Lamotrigin, levatriacetam, Na-valproat se također preporučuju za liječenje miokloničke epilepsije (2, 3). Novi antiepileptici pokazali su se učinkovitima u liječenju atipičnih napadaja.

### 1.1.1. Antiepileptici nove generacije

Posljednjih 20-ak godina panel lijekova kojima se liječi epilepsija značajno se proširio. Iako su lijekovi poput karbamazepina i valproata i dalje dijelom prve linije terapije, sve češće se uvode i antiepileptici nove generacije. Prednosti ovih lijekova nad tradicionalnim antiepilepticima su bolje farmakokinetičke i farmakodinamičke osobine te smanjeni potencijal za razvoj tolerancije i nuspojava (4). Premda točan mehanizam djelovanja novih antiepileptika u potpunosti nije razjašnjen, pretpostavlja se da djeluju inhibicijom akcijskih potencijala natrijevih i kalcijevih kanala, inhibicijom učinka neurotransmitera GABA-e (engl. *Gamma aminobutyric acid*) te modulacijom glutamatnih receptora (5, 6, 7). Nadalje, točan mehanizam djelovanja gabapentina prilikom terapije kod ljudi nije poznat. Većina novih antiepileptika, terapijski, ima vrlo povoljnu linearnu kinetiku te niski stupanj vezanja za proteine plazme. Iznimka je tiagabin koji se u velikoj mjeri veže na proteine plazme i intenzivno se metabolizira pomoću kompleksa citokroma P450 (5, 8). Novi antiepileptici su postali povoljan terapijski izbor jer, za razliku od konvencionalnih, rjeđe stupaju u interakciju s drugim lijekovima. Problem titracije i učestalosti primjene lijeka umanjen je uvođenjem novih antiepileptika, koji su, međutim, različito prihvaćeni od strane kliničara. Tolerancija je neizbježan problem starih antiepileptika koji prati i neke nove lijekove. SANAD (engl. *Standard and new antiepileptic drugs*) randomizirana je studija provedena nad 1000 pacijenata s epilepsijom, a ispitala je učinak šest antiepileptika. Iz studije proizlazi da je lamotrigin efikasniji od karbamazepina kod pacijenta s parcijalnim napadajima (9). Ovisno ispituje li se djelotvornost ili tolerancija na lijek, studije prikazuju oprečne rezultate, poput jedne retrospektivne studije provedene u Španjolskoj kojom se utvrđuje da su nuspojave ipak nešto češće kod novih antiepileptika (10). Razvoj novih antiepileptika je usmjeren na poznate neurobiološke mehanizme epilepsije te se za liječenje refraktorne epilepsije ispituju lijekovi poput kanabidiola, ganaloksona i bumetanida (11).

### 1.2. Terapijsko praćenje koncentracije lijekova u krvi

Praćenje koncentracije lijeka tijekom terapije (TDM, engl. *Therapeutic drug monitoring*) uvedeno je prije nekoliko desetljeća kao potpora u primjeni individualne terapije. Farmakokinetička korelacija između koncentracije lijeka u krvi i farmakološkog učinka veliki

je problem kod lijekova koji nemaju predvidljivu kinetiku, stoga je njihovu koncentraciju u krvi potrebno pratiti te pojedinačno uspostaviti nadzor terapije. Koncentracija lijeka obično se određuje u serumu ili plazmi te se interpretira u kontekstu kliničke slike i ostalih dostupnih nalaza (2).

### 1.2.1. Indikacije za određivanje i karakteristike lijekova koje je potrebno pratiti

Iako je danas moguće odrediti koncentraciju brojnih lijekova, praćenje koncentracije lijekova je korisno u slučajevima kada (12):

1. postoji korelacija između koncentracije lijeka u krvi i terapijskog učinka
2. postoji malen koncentracijski raspon između terapijskog i toksičnog učinka
3. neučinkovita terapija potencijalno uzrokuje veliki zdravstveni rizik
4. učinkovitost terapije nije moguće pratiti adekvatnim kliničkim markerom
5. može se očekivati promjena kinetike lijeka pod utjecajem različitih čimbenika

Razlike u farmakodinamici se odnose na razliku odnosa doze i terapijskog odgovora (12). Stoga je vrijednosti lijekova u krvi posebno korisno pratiti u skupinama ljudi čiji metabolizam lijekova određen je fiziološkim promjenama i komorbiditetima.

### 1.2.2. Koncentracija lijeka u krvi

Interindividualne razlike u stupnju apsorpcije, distribucije i eliminacije lijeka rezultiraju različitom koncentracijom lijeka u krvi (12). Apsorpcija lijeka primarno ovisi o načinu primjene lijeka. Na apsorpciju lijekova, koji se oralno koriste, utječu fizikalno-kemijski uvjeti u probavnom traktu, prokrvljenost sluznice te formulacija lijeka. Međutim, prevelika brzina apsorpcije također nije poželjna te postoje formulacija koje omogućuju sporo otpuštanje lijeka. Zbog raznih fizioloških prepreka i kemijskih svojstava, samo mali dio lijeka dospije do ciljanog tkiva i veže se na receptore (12, 13). To proizlazi iz činjenice da se većina lijeka u krvi veže za proteine poput albumina, globulina te lipoproteina. Ako se lijek izrazito veže za proteine, treba smanjiti dozu kod starijih osoba i bubrežnih bolesnika zbog kompromitirane bubrežne funkcije (12). Lijekovi koji trebaju proći krvno moždanu barijeru najčešće su lipofilne strukture. Metabolizam, odnosno bio-transformacija lijekova, najvećim se dijelom odvija u jetri. Lipofilne, slabo polarne molekule, prevode se kroz dva koraka u hidrofilne polarnije spojeve, koji će biti lakše eliminirani iz organizma. U prvom koraku spojevi oksidiraju, reduciraju se i hidrosiliraju pomoću mikrosomalnih enzima kompleksa citokrom P450 (12, 13). Metaboliti se zatim konjugiraju procesima glukuronidacije, sulfokonjugacije ili acetiliranjem te potom izlučuju. Bubrežni mehanizam glavni je način eliminacije lijekova i ovisi o glomerularnoj filtraciji kao mjeri bubrežne funkcije. Kod starijih osoba fiziološki

dolazi do opadanja hepatobilijarne i bubrežne funkcije, što dovodi do sporijeg metabolizma i eliminacije lijeka te do nakupljanja lijeka u organizmu (12, 13). Također, neki ljudi imaju metaboličke predispozicije s obzirom na alelne varijante gena za metaboličke enzime. Budući da je jetra glavni metabolizator lijekova, čak i manje promjene aktivnosti enzima iz skupine citokroma P450 mogu utjecati na metabolizam i eliminaciju lijeka te dovesti do nepredvidivog djelovanja lijeka na organizam (12). Ostali uzroci varijabilnosti koncentracije lijeka u krvi jesu dob, spol, nasljedni čimbenici te druga patološka stanja.

### 1.2.3. Preporuke za praćenje lijekova tijekom terapije

Iako je TDM zlatni standard koji može osigurati uspjeh terapije, malen je broj lijekova koje se opravdano prate tijekom terapije. Zajedničko svim tim lijekovima jest da imaju uzak terapijski prozor ili neadekvatno doziranje terapije za posljedicu ima ozbiljne nuspojave (8, 12). To su lijekovi iz skupine antiepileptika, stabilizatora raspoloženja (litij), antipsihotika, antidepresiva, citostatika, imunosupresiva i antibiotika (aminoglikozidni). Smjernice za TDM farmakoterapije neuroloških poremećaja većinom se odnose na minimalne koncentracije lijeka u krvi koje se postižu u stanju dinamičke ravnoteže (engl. *steady state*) (14). Stoga se krv, iz praktičnih razloga, prikuplja za TDM većine lijekova ujutro, netom prije konzumacije prve doze lijeka.

### 1.3. Terapijsko praćenje antiepileptika stare generacije

Smjernice koje govore o praćenju koncentracije antiepileptika objavljene su od strane ILAE (engl. *The International League against Epilepsy*) 1993. godine (dopunjene 2008. godine) (15). U njima je naglašena upotreba TDM u svrhu postizanja terapijski prihvatljivih koncentracija. Nakon što je terapija epilepsije započeta, nužno je odrediti koncentraciju lijeka u krvi te mjerenje ponoviti za 6-12 mjeseci ili po uočenju promjene kliničke slike (15). Antiepileptici stare generacije (karbamazepin, fenitoin, Na-valproat) reprezentativan su primjer primjene TDM-a. Apsorpcija karbamazepina jest spora, varijabilna te ovisi o samoj formulaciji. Osim toga, karbamazepin se intenzivno metabolizira u aktivan metabolit karbamazepin-11, 12-epoksid (15). Karbamazepin se primarno prati jer brojni lijekovi nepovoljno mijenjaju njegovu koncentraciju. Također, terapijski raspon ne podrazumijeva kontrolu epilepsije. Preklapanja vrijednosti koje uzrokuju terapijski i toksični učinak potvrđena su u nekoliko studija (15). Zajednička osobina karbamazepina i valproata je vezanje za proteine u visokom postotku. Kinetika valproata odstupa od linearnosti jer u većim koncentracijama dolazi do smanjenog vezivanja lijeka za proteine (15). Zbog velikih interindividualnih razlika u metabolizmu lijeka i širokog terapijskog raspona, korelacija

između doze i koncentracije valproata u krvi je slaba (6, 15). Kontrola koncentracije je posebno važna kada se primjenjuje s ostalim antiepilepticima koji induciraju njegovu razgradnju. Takvo djelovanje na valproat ima fenitoin, antiepileptik čija komplicirana farmakokinetika također zahtijeva praćenje. Povećanje doze smanjuje metabolizam fenitoina i dovodi do nepredvidivog i disproporcionalnog porasta serumske koncentracije (6, 15). Stoga je i terapijski raspon za fenitoin vrlo relativan jer je učinkovitost zabilježena i izvan terapijskog područja. Lijekove iz skupine barbiturata karakterizira razvoj tolerancije. Povećanje doze u svrhu zadržavanja djelovanja nužno je pratiti posebno kada se kombiniraju s valproatom i fenitoinom.

#### 1.4. Terapijsko praćenje antiepileptika nove generacije

Čak i kod lijekova za koje je poznato međudjelovanje, danas je smanjena potreba za TDM. Iako podatci o primjeni TDM za nove antiepileptike proizlaze iz visokokvalitetnih meta analiza koje ipak naglašavaju nedostatak randomiziranih studija, korist TDM-a u kliničkom kontekstu postoji. Međutim, pravi klinički značaj TDM novih antiepileptika je i dalje upitan te se rutinska primjena TDM generalno ne preporuča (17).

Noviji antiepileptici poput felbamata, gabapetina, lamotrigina, levetiracetama, pregabalina, tiagabina, topiramata i zonisamida dobri su kandidati za TDM jer pokazuju farmakokinetičku varijabilnost koja zahtijeva primjenu različitih doza lijeka (19). Međutim, u liječenje epilepsije zadnjih desetak godina ulazi i podskupina još novijih antiepileptika poput eslikarbamazepin acetata, lakozamida, rufinamida i stiripentola. Brojne studije naglašavaju pojavu varijabilnosti u koncentracijama i interakcije među navedenim lijekovima (19). Stiripentol uz varijabilnu kinetiku može stupati u interakcije s drugim antiepilepticima. Kratak poluvijek eliminacije nekih lijekova u krvi otežava interpretaciju njihovih koncentracija te umanjuje značaj promjene koncentracije u krvi (18). Varijabilnost koncentracija izraženija je kada vrijeme uzorkovanja krvi nije praćeno. Također, ne postoji garancija da će primijenjena doza lijeka biti u potpunosti apsorbirana. Gabapetin i rufinamid imaju limit apsorpcije te oralnu primjenu tih lijekova uputno je određivati kada je apsorpcija kompromitirana (18). Visok stupanj farmakokinetičke varijabilnosti ukazuje da korist primjene TDM postoji kada se radi o djeci ili trudnicama, stoga se preporuča uporaba levetiracetama, topiramata, rufinamida i okskarbazepina. Korelacija između koncentracije lijeka u krvi i kliničkog odgovora utvrđena je samo za lamotrigin i felbamat dok za pojedine nove antiepileptike nije ispitana (19). Manjkavost uputa za nadzor terapije ostavlja pitanje TDM novih antiepileptika. Rješenje bi bile sveobuhvatne svjetske smjernice za racionalno i pravovaljano iskorištenje TDM novih

antiepileptika. One, prije svega, zahtijevaju stvaranje pouzdanih terapijskih intervala.

#### 1.4.1. Terapijski intervali za nove antiepileptike

Jedan od razloga za ograničenu primjenu novih antiepileptika jest nemogućnost uspostave pouzdanih terapijskih intervala. Novi antiepileptici učinkoviti su putem širokog raspona koncentracija u serumu/plazmi, ali uz varijacije u odgovoru na terapiju. Terapijski interval raspon je koncentracija lijeka u krvi koji pozitivno djeluje na status bolesnika (15). Međutim, kod određenih ljudi teorijski toksične koncentracije ili koncentracije niže od donje granice imaju terapijski učinak, stoga je farmakolog Perucca predložio pojam individualnog terapijskog raspona (15, 18). Pacijent se liječi sve dok se ne postigne dobra kontrola napadaja, nakon čega se odredi koncentracija lijeka u krvi te ona služi kao referenca. TDM se zatim provodi periodički kako bi se potvrdilo da je terapija blizu individualne terapijske vrijednosti (18). Lamotrigin je široko korišten antiepileptik te je primjer kliničke primjene TDM. Kao i za većinu novih antiepileptika, ne postoje klinički utvrđene koncentracije koje se žele postići, stoga se za lamotrigin koristi preporučeni terapijske interval. Reference za preporučene terapijske vrijednosti proizlaze iz preglednih radova Jacob S i Nair AB, te Johannessen SI et al. (18, 19, 20). Neke radne skupine su pokušale revidirati postojeće literaturne vrijednosti i smjernice koje donosi ILAE te su napravile konsenzus smjernica za terapijske intervale antiepileptika.

#### 1.4.2. Lamotrigin

Lamotrigin je prvobitno korišten u liječenju parcijalnih epileptičnih napadaja. Kasnije je odobren za liječenje generalizirane epilepsije kod odraslih i djece starije od dvije godine, simptomatske ili idiopatske epilepsije te epileptičke encefalopatije (6, 16, 20). Također se koristi u liječenju bipolarnog poremećaja. Koristi se kao monoterapija ili u komedikaciji s drugim antiepilepticima. Djelovanjem blokira natrijeve kanale te se pretpostavlja da inhibira voltažne kalcijeve kanale i sinaptičko oslobađanje glutamata (6, 16). Nakon oralne primjene apsorbira se u potpunosti, pri čemu gotovo pola doze ostaje vezano za proteine krvi. Lamotrigin se metabolizira u jetri i značajno ne utječe na funkciju jetrenih enzima. Međutim, uputno ga je pažljivo primjenjivati ako se daje zajedno s drugim lijekovima koji djeluju na enzim UDP- transferazu (engl. *uridine diphosphate transferase*) (15, 16). Ne djeluje značajno na metabolizam ostalih antiepileptika. Iako izlučivanje prati linearnu kinetiku, opisani su slučajevi u muškoj populaciji, u kojima je pretjerano nakupljanje lamotrigina dovelo do nefritisa (15, 16). Koncentracija lijeka u krvi doseže maksimalnu razinu nakon 1 do 8 sati, dok je vrijeme poluvijeka lamotrigina oko 24 sata (15, 20). Kod pacijenata koji uzimaju

lijekove koji induciraju jetrene enzime, vrijeme je smanjeno. Važno je lamotrigin uvoditi postupno, posebno ako se primjenjuje u kombinaciji s valproatom koji smanjuje klirens lamotrigina gotovo na pola, što zahtijeva redukciju početne doze. Prednost korištenja lamotrigina u terapiji epilepsije leži u njegovom širokom spektru djelovanja i niskom teratogenom potencijalu, zbog čega se može koristiti i u trudnoći (18, 22). Nuspojave se uglavnom očituju pojavom kožnih osipa (5 %), simptomima koji sličje influenci te rjeđe kao Stevens-Johnsonov sindrom (22). Lamotrigin, za razliku od nekih konvencionalnih antiepileptika, rijetko stupa u interakcije s drugim lijekovima. Međutim, glavni razlog zašto se teško uvodi u terapijski postupak jest dug period titracije do terapijski prihvatljive vrijednosti u krvi.

#### 1.4.3. Topiramata

Topiramata je supstituirani monosaharid odobren kao dodatna terapija kod parcijalnih epilepsija, benigne dječje epilepsije i epileptičke encefalopatije. Može biti koristan u liječenju mioklonih epilepsija, a kao monoterapija uspješno se primjenjuje kod parcijalne i toničko kloničke epilepsije (20, 22). Osim epilepsije koristi se i u liječenju Lennox-Gastaut sindroma i kao profilaksa migrenalnih glavobolja. Na neurološke mehanizme djeluje inhibicijom GABA<sub>A</sub> receptora te blokadom natrijevih voltažnih kanala (22). Primjenjuje se oralno te se brzo apsorbira gastrointestinalnim traktom. Kako se samo mali postotak lijeka veže za proteine u krvi, bioraspoloživost topiramata je velika (20, 22). Samo jedan dio koncentracije lijeka metabolizirat će se u jetri, dok će se ostatak izlučiti nepromijenjen urinom. Može djelovati kao induktor CYP3A4 te kao slabi inhibitor CYP2C19 (16, 22). Iako je vrijeme poluvijeka topiramata između 20 i 30 sati, danas postoje formulacije s produženim otpuštanjem. Interakcije s drugim antiepilepticima su rijetke i komplicirane, međutim, ne djeluje na koncentraciju drugih antiepileptika. Nuspojave topiramata su slične kao i kod drugih antiepileptika te obuhvaćaju kognitivne smetnje, teratogeni potencijal te nastanak bubrežnih kamenaca (20, 22). Zbog malog broja interakcija s drugim antiepilepticima topiramata se najviše koristi kao dodatna terapija u liječenju epilepsije. Iako ne izaziva teže nuspojave, kod bubrežne insuficijencije potrebno je reducirati početnu dozu.

#### 1.5. Tekućinska kromatografija spregnuta s tandemskom masenom spektrometrijom

Iako se u određivanju koncentracije lijekova u krvi koriste i komercijalno dostupni imunoeseji, većina laboratorija za TDM koristi tekućinsku kromatografiju spregnutu s masenim detektorom (LC MS/MS, engl. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*).

LC-MS/MS vrsta je kromatografske tehnike koja, uz kvalitativno dokazivanje analita u biološkom materijalu, ima mogućnost i kvantifikacije istog. Kromatografija iskorištava fizikalna i kemijska svojstva analita (veličina, naboj, afinitet molekula) te svojstvo zadržavanja analita na mobilnoj i stacionarnoj fazi kako bi izdvojila analit (23). Kao dio platforme za TDM danas se obično koristi HPLC (engl. *High-Performance Liquid Chromatography*); inačica tekućinske kromatografije koja se sastoji od pumpe, injektora, predkolone i kolone te detektora. Pumpa osigurava stabilan protok mobilne faze koji se može modificirati ovisno o naravi analita (23). U termostatiranom prostoru se nalazi injektor koji dovodi uzorak u mobilnu fazu. Kolona je obično punjena poroznim česticama od silikata, cirkona ili polimera. Analiti se mogu eluirati s kolone koristeći mobilnu fazu istog sastava kroz cijelu analizu ili gradijent elucije. Cilj je pronaći sastav mobilne faze koji će osigurati optimalno odvajanje analita. Razina distribucije se očitava kao retencijsko vrijeme specifično za svaki analit. Tako izdvojen analit uvodi se u maseni spektrometar koji u ovoj metodi djeluje kao detektor. On razdvaja ionizirane molekule ili atome na temelju razlike u omjeru mase i naboja. Najčešći oblik ionizacije je elektrosprej ionizacija (ESI), međutim, koristi se i kemijska ionizacija pri atmosferskom tlaku (APCI, engl. *Atmospheric pressure chemical ionization*) te termosprej ionizacija (TSI). Ionizacijom se termolabilne molekule uparuju te se odabrani ion prekursor na temelju omjera mase i naboja filtrira u prvom kvadrupolu (23). Zatim se u kolizijskoj ćeliji taj ion fragmentira bombardiranjem molekulama dušika ili argona te nastaju fragmenti prekursor iona (23). Među njima se odabire produkt ion koji se, temeljem omjera mase i naboja, filtrira u drugom kvadrupolu te propušta do detektora koji očitava intenzitet signala. Za analizu se koriste retencijska vremena i informacije s detektora (MS) te se uspoređuju s kalibracijskom krivuljom ili internim standardom (23). Maseni spektar u odnos stavlja omjer mase i naboja iona ( $m/z$ ) te intenzitet signala.

Potpuno iskorištenje potencijala LC MS/MS sustava moguće je ukoliko se osiguraju kontrolirani uvjeti (odabir mobilne i stacionare faze, temperatura, interni standard) (23). LC-MS/MS karakterizira visoka točnost, specifičnost, osjetljivost te mogućnost istovremene analize više poznatih i nepoznatih analita. To je moguće jer je stvorena opsežna baza masenih spektara spojeva. Međutim, simultana kvantifikacija analita predstavlja izazov jer može doći do preklapanja retencijskih vremena i ionske supresije što daje maseni spektar niske rezolucije. Analit je potrebno izdvojiti iz uzorka dugotrajnim postupkom. Sama LC MS/MS analiza zahtijeva skupe instrumente i reagense što ju čini ponekad nedostupnom.

## 2. CILJEVI RADA

Ciljevi ovog rada su:

1. ispitati koliko često se određivala koncentracija antiepileptika nove generacije tijekom 2018. godine u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Osijek.
2. brojčano prikazati kod koliko pacijenata je koncentracija antiepileptika nove generacije bila unutar terapijskog raspona te usporediti dobivene podatke s literaturnim podacima i svjetskim preporukama.
3. za dva najčešće propisivana antiepileptika nove generacije, lamotrigin i topiramet međusobno usporediti koliko često su vrijednosti bile unutar terapijskih vrijednosti.



### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Ustroj studije

Ovaj rad je ustrojen kao presječno istraživanje s povijesnim podacima.

#### 3.2. Materijali

Materijale za rad čine nalazi izdani u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC Osijek u 2018. godini. Pregledom elektronske baze izuzeti su nalazi u kojima se određivala koncentracija novih antiepileptika. Koncentracije lijekova lamotrigin i topiramata izdvojene su i statistički uspoređene. U obzir su uzeti svi nalazi, što implicira da je za pojedine pacijente obrađeno i više nalaza.

#### 3.3. Metode

Za određivanje koncentracije novih antiepileptika na Shimadzu instrumentu koristi se MassTox® TDM Series A sistem (Chromsystems, Gräfelfing, Njemačka) koji se sastoji od nekoliko elemenata: Basic kit A, MassTox Parameter Set Antiepileptic Drugs i MasterColumn® A.

Basic kit A (Chromsystems, Gräfelfing, Njemačka) univerzalni je kit za određivanje svih lijekova na Shimadzu analizatoru koji sadrži sljedeće komponente (24):

- 1 x Mobilna faza 1, 1000 ml
- 1 x Mobilna faza 2, 1000 ml
- 1 x Precipitirajući reagens, 50 ml
- 1 x Ekstrakcijski pufer, 5 ml
- 1 x Diluent 1, 50 ml
- 1 x Diluent 2, 50 ml
- 1 x Otopina za ispiranje, 1000 ml
- 2 x Reakcijske vial

Za određivanje koncentracije antiepileptika se koristi kit MassTox Parameter Set Antiepileptic Drugs (Chromsystems, Gräfelfing, Njemačka) koji sadrži liofilizirane kalibratore u četirima koncentracijskim razinama (3Plus1 Multilevel Plasma Calibrator Set Antiepileptic Drugs), kontrole u dvjema koncentracijskim razinama (MassCheck Antiepileptic Drugs Plasma Controls) te interni standard (Internal Standard Mix Antiepileptic Drugs) (25).

Ovim kitom je moguće odrediti 26 različitih antiepileptika i njihovih metabolita te je dostatan za 200 analiza.

Za određivanje koncentracije antiepileptika kromatografskom metodom LC MS/MS kao uzorak koristi se serum ili plazma. Prije same analize, uzorak treba pripremiti, tj. odvojiti analit od ostatka biološkog materijala koji bi inače ometao kromatografsko određivanje. Postupak pripreme standardiziran je od strane proizvođača reagensa te obuhvaća sljedeće korake (24, 25):

1. U sve viala dodati 25  $\mu\text{L}$  ekstrakcijskog pufera
2. Dodati 800  $\mu\text{l}$  internog standarda u 12 ml precipitirajućeg reagensa (=uzorak A)
3. Odpipetirati 50  $\mu\text{l}$  uzorka/kalibratora/MassCheck kontrole u 1.5 ml reakcijsku vialu
4. Promiješati i inkubirati 2 min na sobnoj temperaturi(ne centrifugirati)
5. Dodati 250  $\mu\text{l}$  uzorka A i miješati na vortexu 30 s minimalno te ostaviti da stoji na sobnoj temperaturi 10 minuta
6. Centrifugirati 5 min na 15000 x g
7. Razrijediti supernatant (100  $\mu\text{l}$ ) s smjesom diluenta (400  $\mu\text{l}$ , omjer 1:1), dodati po 100  $\mu\text{L}$  supernatanta kalibratora, kontrola i uzoraka prije injektiranja u LC MS/MS sustav

Koncentracija antiepileptika određivana je kromatografskom metodom na LC-MS/MS-8050 instrumentu (Shimadzu, Kyoto, Japan). Analitički sustav se sastoji od NEXERA UHPLC (engl. *Ultra-high-performance liquid chromatography*) spregnutog s masenim spektrometrom (MS) (26). Nakon parcijalne separacije na UHPLC-u, analit se u MS ionizira ESI metodom. Sprej elektrona usmjerava se na desolvacijsku kapilaru u kojoj pod visokom temperaturom mobilna faza ispari, a ioni se usmjeravaju u prvi kvadrupol (26). Četiri paralelno postavljene elektrode tvore električno polje u kojemu se, promjenom napona, vrši selekcija iona. Za svaki lijek postoji tzv. prekursor ion koji se provodi do kolizijske ćelije u kojoj se fragmentira na produkt ione. U trećem kvadrupolu se ioni karakteristični za pojedini lijek selektiraju te provode do detektora (26). Odabir jednog prekursorionog iona i nekoliko specifičnih produkt iona karakterističan je za MRM (engl. *Multiple reaction monitoring*).

Postavke LC MS/MS sustava za određivanje antiepileptika su sljedeće (26):

1. Volumen injektiranja: 0.2-50  $\mu\text{L}$
2. Ionizacija: ESI
3. MS/MS program: MRM
4. Gradijent elucije (za lamotrigin i topiramet):

0.0-1.0 min, 100% mobilna faza 2

1.0- 1.60 min, 100% mobilna faza 2

1.61- 2.50 min, 0% mobilna faza 2

#### 3.4. Statističke metode

Normalnost raspodjele vrijednosti provjerena je Shapiro-Wilkovim testom. Numerički podatci opisani su medijanim i interkvartilnim rasponom. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli testirane su Mann-Whitneyevim U testom. Za obradu i prikaz vrijednosti topiramata i lamotrigina korištena je Passing-Bablok regresijska analiza podataka. Povezanost koncentracija lamotrigina i topiramata ocijenjena je Spearmanovim koeficijentom korelacije ( $\rho$ ). Razina značajnosti bila je postavljena na  $\alpha = 0,05$ . Sve P vrijednosti su dvostrane.

Statistička analiza napravljena je u statističkom programu MedCalc for Windows (Statistical Software inačica 17.2.0, Ostend, Belgija).

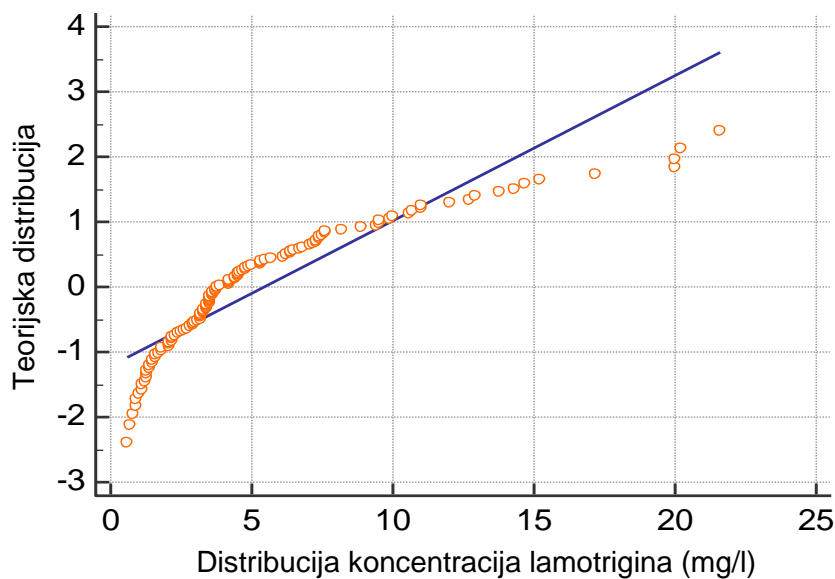
#### 4. REZULTATI

Pregledom elektronske baze nalaza Zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek utvrđeno je da je tijekom 2018. godine koncentracija novih antiepileptika određivana 340 puta. Najviše je određivana koncentracija levetiracetama (155), a najmanje je lakozamida, okskarbazepina i rufinamida (po 1). Sveukupno je bilo zahtjeva za određivanje devet različitih antiepileptika (Tablica 1.). Kod 218 pacijenata vrijednosti novih antiepileptika bile su u granicama terapijskih intervala. Najviše vrijednosti unutar terapijskog intervala imali su pacijenti na zonisamidu (11, 91,67 %), a zatim oni na vigabatrinu i pregabalinu (70 %). Koncentracija rufinamida i okskarbazepina određivana je u dvama slučajevima te niti jedna vrijednost nije bila unutar terapijskog intervala. Lamotrigin je određivan 121 puta i 78 (64,5 %) vrijednosti je unutar terapijskog intervala koji se kreće od 3 mg/l do 14 mg/l (Tablica 1).

Tablica 1. Broj zahtjeva za određivanje koncentracije novih antiepileptika

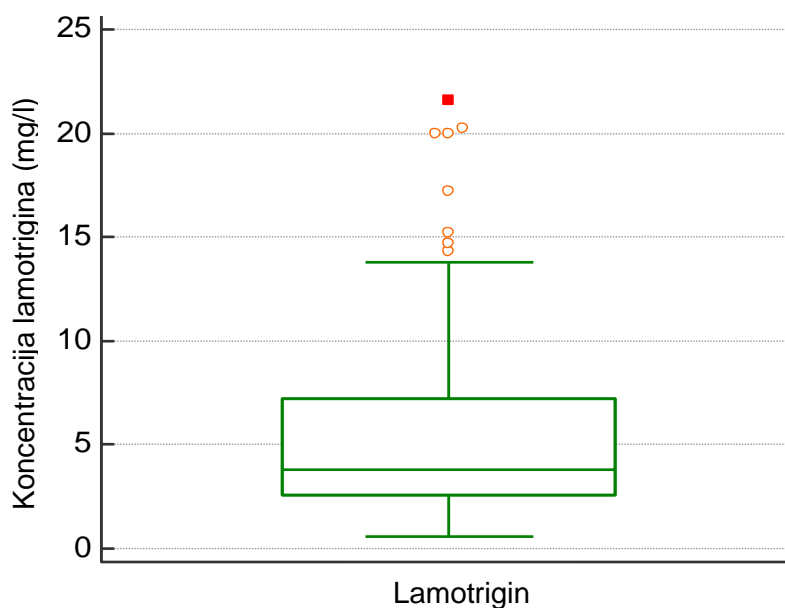
Novi antiepileptik	Terapijski interval	Broj vrijednosti unutar terapijskog intervala (%)	Ukupno određenih vrijednosti
Lakozamid	1-10 mg/l	1 (100)	1
Lamotrigin	3-14 mg/l	78 (64,5)	121
Levetiracetam	10-40 mg/l	94 (60,7)	155
Okskarbazepin	200-1500 µg/l	0	1
Pregabalin	0,2-10 mg/l	7 (70)	10
Rufinamid	5-30 mg/l	0	1
Topiramamat	2-25 mg/l	20 (69)	29
Vigabatrin	2-28 mg/l	7 (70)	10
Zonisamid	5-35 mg/l	11 (91,7)	12
Ukupno		218 (64,1)	340

U odnosu na spol, 72 (59,5 %) vrijednosti su određene kod žena, a 49 (40,5 %) kod muškaraca. Koncentracija lamotrigina ne prati normalnu distribuciju (Slika 1.).



Slika 1. Distribucija koncentracija lamotrigina (mg/l) u odnosu na teorijsku distribuciju

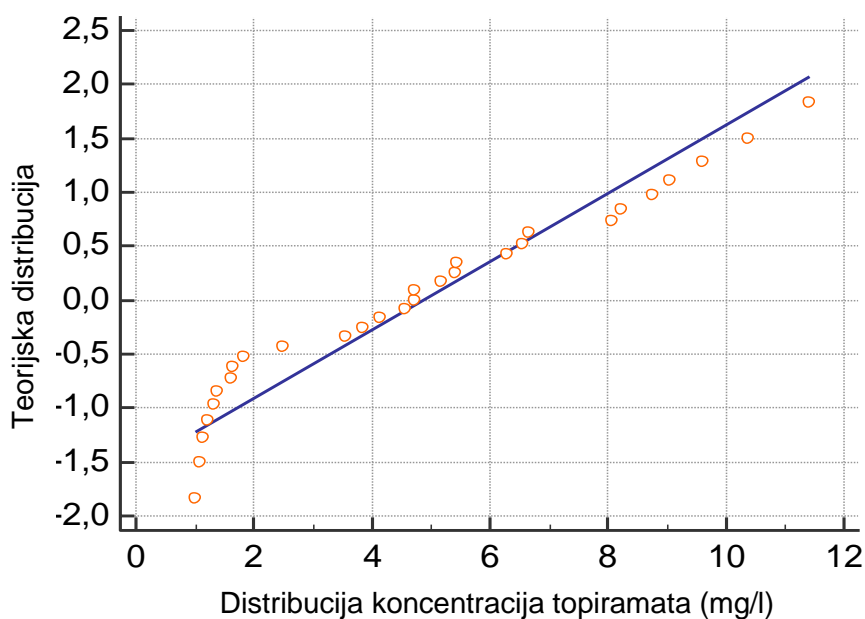
Koncentracija lamotrigina središnje je vrijednosti (medijana) 3,8 mg/l uz interkvartilni raspona od 2,6 mg/l do 7,2 mg/l (Slika 2.).



Slika 2. Prikaz koncentracija lamotrigina (medijan(linija po pravokutniku, minimum (donja horizontalna linija), maksimum(kvadratić), donji i gornji kvartil (horizontalne granice pravokutnika))

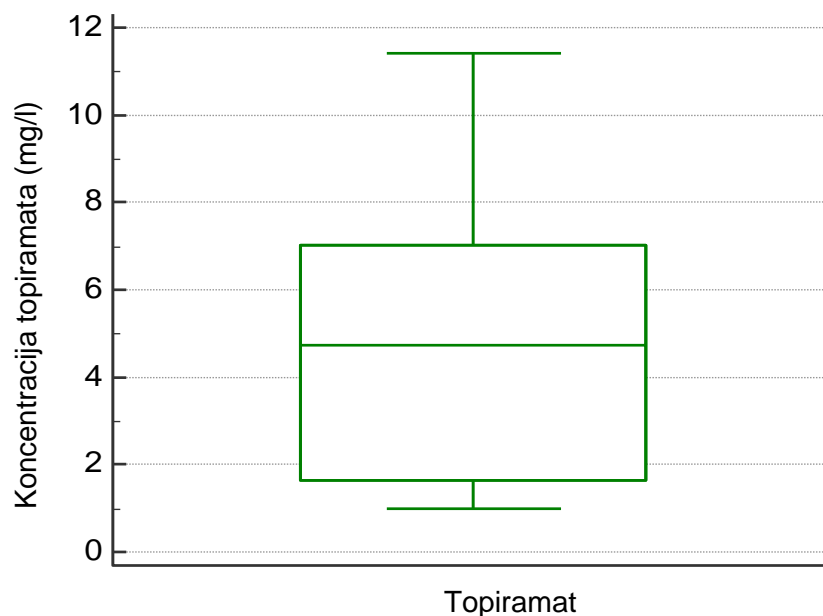
Koncentracije topiramata određene su kod 29 ispitanika od kojih je 10 žena i 19 muškaraca. Većina vrijednosti topiramata, njih 20 (69 %) unutar je terapijskog intervala koji se kreće od

2 mg/L do 25 mg/L. Iz grafičkih prikaza koncentracija topiramata vidljivo je da funkcija gustoće topiramata ne prati normalnu distribuciju (Slika 3.).



Slika 3. Distribucija koncentracija topiramata (mg/l) u odnosu na teorijsku distribuciju

Koncentracija topiramata je središnje vrijednosti (medijana) 4,73 % mg/l uz interkvartilni raspona od 1 mg/l do 11,42 mg/l (Slika 4).

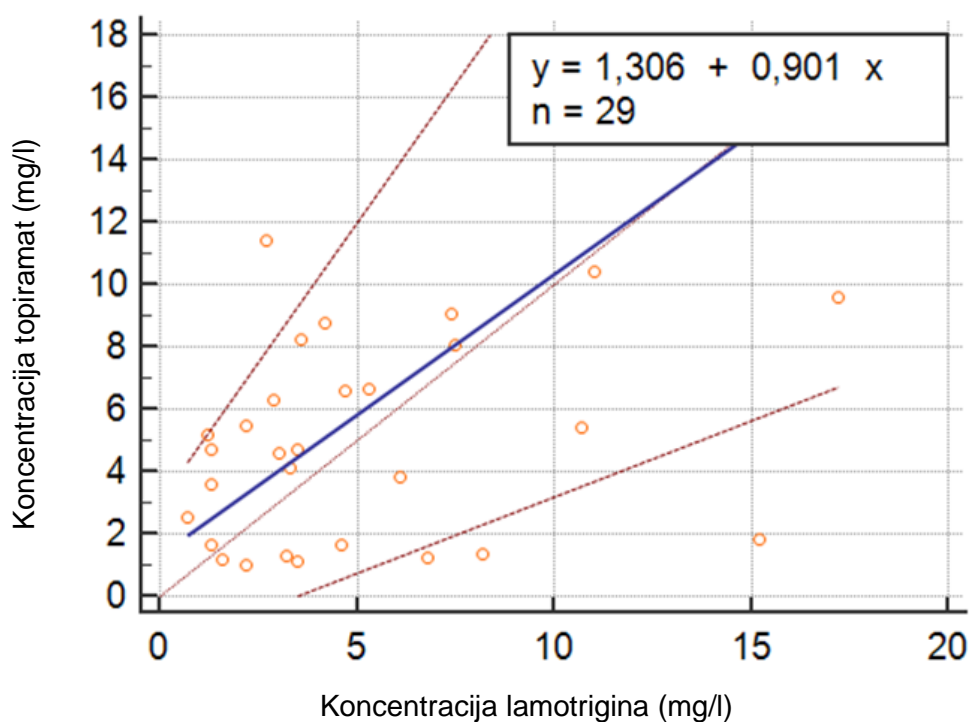


Slika 4. Prikaz koncentracija topiramata (medijan (linija po pravokutniku), minimum i maksimum (donja i gornja horizontalna linija), donji i gornji kvartil (horizontalne granice pravokutnika))

Nema značajne razlike u odstupanju dobivenih vrijednosti od terapijskih intervala lamotrigina i topiramata (Mann Whitney U test,  $P=0,95$ ).

Spermanovim koeficijentom korelacije uočeno je da nema statistički značajne povezanosti između koncentracije lamotrigina i topiramata ( $\rho = 0,294$ ,  $P = 0,95$  uz 95% interval pouzdanosti (-0,08 do 0,60)).

Passing Bablock regresijskom analizom uočeno je da nema značajnog odstupanja u linearnosti dobivenih vrijednosti (Cusum test,  $P = 0,58$ ) (Slika 5).



Slika 5. Passing-Bablok regresija (regresijski pravac (puna linija), granice pouzdanosti regresijskog pravca (isprekidane linije), idealan pravac  $y = x$  (sitno isprekidana linija))

## 5. RASPRAVA

Ovim istraživanjem pregledana je elektronička baza nalaza te su analizirani zahtjevi za određivanjem koncentracija novih antiepileptika. Sveukupno tijekom 2018. godine koncentracija novih antiepileptika određivana je 340 puta, a radilo se o devet različitih novih antiepileptika. Koncentracija novih antiepileptika određivana je visoko osjetljivom i specifičnom LC MS/MS metodom kojom je moguće dokazati i metabolite lijekova. Kit koji se koristi za TDM na Shimadzu instrumentu nudi mogućnost određivanja ukupno 26 različitih antiepileptika od kojih je čak njih 12 nove generacije. Najviše je određivana koncentracija levetiracetama (155) i lamotrigina (121) (Tablica 1.). Lamotrigin je, uz karbamazepin, lijek prvog izbora za liječenje tek dijagnosticirane epilepsije. Ujedno je i najprepisivaniji novi antiepileptik pa je razumljivo da se gotovo trećina zahtjeva odnosi upravo na njega. Zahtjeva za određivanje koncentracije felbamata, gabapentina i tiagabina nije bilo u ovom razdoblju. Gunindro et al. Napravili su studiju koja retrospektivno donosi podatke o TDM-u antiepileptika. Provedena je na 65 pacijenata od kojih je većina koristila dva antiepileptika (27). Za razliku od ovog istraživanja, najprepisivaniji i određivani lijek u studiji je bio okskarbazepan (70,77 %) dok je levetiracetam bio treći po zastupljenosti. Također, u studiji su lamotrigin i topiramet značajno manje zastupljeni u terapiji epilepsije (27).

Koncentracije novih antiepileptika uspoređivane su s pripadajućim terapijskim intervalima te je utvrđeno da se ukupno 218 vrijednosti nalazi unutar očekivanih granica. Koncentracija rufinamida je određivana samo kod jednog pacijenta i nije bila unutar terapijskog intervala 5-30 mg/l. Studije o farmakokinetici antiepileptika treće generacije govore kako TDM rufinamida dobro korelira s kontrolom napadaja te da bi se mogao iskoristiti za pacijente na hemodijalizi ili terapiji CYP inducirajućim lijekovima (20). Kao i za rufinamid, za okskarbazepin imamo samo jednu vrijednost koja se nalazi izvan terapijskog intervala, stoga je nemoguće izvući dodatne zaključke o učinkovitosti TDM-a za ova dva antiepileptika (Tablica 1.). Lakozamid se uspješno koristi u liječenju parcijalnih epileptičnih napadaja kod odraslih (20). Koncentracija lakozamida je određivana samo jednom te je bila unutar terapijskog intervala 1-10 mg/l. Također, dobro korelira s dozom te koncentracija lijeka u krvi nije značajno različita kod odraslih, starijih i djece (18). Međutim, zaključke o iskoristivosti TDM za lakozamid je nerealno temeljiti samo na jednom pozitivnom rezultatu. Nešto više zahtjeva bilo je za određivanje pregabalina i vigabatrina (po 10). Zbog izrazitog inhibitornog djelovanja na GABA receptore i ovisnosti o regeneraciji GABA transaminaze, trajanje farmakološkog učinka lijeka je teško predvidjeti temeljem koncentraciju vigabatrina u krvi



(15). Prema tome, možemo zaključiti da terapijsko djelovanje vigabatrina nije ograničeno samo na predloženi terapijski interval te je korist od TDM mala. Kao i kod vigabatrina, 70 % vrijednosti pregabalina se nalazi unutar terapijskog intervala. Povoljne farmakokinetičke karakteristike otklanjaju potrebu za TDM pregabalina, osim u slučajevima bubrežnog zatajenja ili kao potvrda toksičnosti.

Najveći udio vrijednosti unutar terapijskog intervala zabilježen je kod zonisamida, čak 91,7 %. Iako su studije na životinjama pokazale da djelovanje lijeka bolje korelira s koncentracijom u krvi nego s dozom, kod ljudi se pokazalo da jednake koncentracije zonisamida izazivaju različito ili nikakvo djelovanje (15). U metabolizmu zonisamida djelomično sudjeluje CYP3A4, stoga smjernice predlažu određivanje koncentracije zonisamida kod pacijenata na komedikaciji s inhibitorima CYP enzima (18). Prethodno je spomenuto te je iz Tablice 1. vidljivo da je levetiracetam novi antiepileptik koji se najviše pratio TDM-om. 94 (60,7 %) vrijednosti se nalazi unutar terapijskog intervala 10-40 mg/l. TDM levetiracetama općenito nije koristan s obzirom na njegovu linearnu kinetiku i predvidljivi odnos doze i koncentracije u krvi, izostanak interakcija i široki terapijski prozor (15). Međutim, sve je više dokaza koji potvrđuju da se farmakokinetika levetiracetama može promijeniti u posebnim populacijama. Tako je jedna studija definirala četiri kritične skupine kod koje bi praćenje koncentracije levetiracetama imalo koristi (28). Populacijske studije potvrđuju kako dob ima najveći utjecaj na klirens levetiracetama. Pokazalo se kako je smanjen za 40% kod starijih, a povećan za čak 60% kod djece mlađe od 10 godina (28). Također, lijek se većim dijelom izlučuje preko bubrega pa je potrebno reducirati dozu kod pacijenta s bubrežnim insuficijencijom. Nekoliko studija preporučuje TDM levetiracetama za trudnice, dok jedna studija zaključuje da se koncentracija treba nadzirati i nakon trudnoće jer lijek i tada pokazuje varijabilno djelovanje (28).

Lamotrigin je u 2018. godini određivan 121 puta te je 78 vrijednosti unutar terapijskog intervala. Distribucija vrijednosti lamotrigina je ispitana Shapiro-Wilkovim testom te se pokazalo da lamotrigin ne pokazuje normalnu distribuciju (Slika 1.). Numeričke karakteristike koncentracije lamotrigina iskazane su preko medijana, graničnih vrijednosti i interkvartilnih raspona (Slika 2.). Medijan je 3,8 mg/l te je ta vrijednost vrlo blizu donje granice terapijskog intervala. Donji kvartil od 2.6. mg/l također cijeli pripada u subterapijsko područje. Kutijastim dijagramom je prikazano i nekoliko stršećih vrijednosti od kojih je maksimalna vrijednost lamotrigina 21,6 mg/l. Literatura navodi jednu retrospektivnu studiju kao primjer revizije TDM-a lamotrigina. Istraživanjem je obuhvaćeno 138 odraslih pacijenata koji su bili razvrstani ovisno o tome uzimaju li samo lamotrigin, lamotrigin i inhibitor ili lamotrigin i

induktor (29). U studiji je 65 % pacijenata koncentraciju lamotrigina imalo unutar terapijskog intervala. Vrijednost se gotovo u potpunosti poklapa s rezultatima koji su dobiveni ovom analizom, a autori studije su koristili isti terapijski interval (3-14 mg/l). Autori studije također donose srednje vrijednosti koncentracije lamotrigina za sve tri skupine. Te su vrijednosti očekivano različite i razlikuju se od medijana koji je dobiven u ovom radu. Froscher et al. u svojoj studiji iznose kako je medijan terapijskih koncentracija lamotrigina 3.6 mg/l, što je vrlo blizu vrijednosti koja je dobivena u ovom radu (30). Jedno ograničenje ove studije koje ne dopušta potpunu korelaciju jest uži terapijski interval. Hirsch et al. pak iznosi kako postoji korelacija između koncentracije lamotrigina u krvi i tolerancije, neovisno o postojanju komedikacije (31). Međutim, većina provedenih studija navodi kako koncentracije lijeka u krvi nisu nužno vezane uz terapijsko djelovanje ili pojavu nuspojava. KM Søndergaard iznosi kako se individualni terapijski pragovi za lamotrigin mogu definirati te podržava stajalište Froscher et al., Hirsch et al., Johannessen i Tomsona i Perucca (32). Neke karakteristike lamotrigina upućuju na to da bi TDM mogao korisno djelovati na postizanje terapijskog učinka zbog interindividualne varijacije u odnosu doze i koncentracije u krvi, promjene serumskih koncentracija kod trudnica ili kod interakcije s drugim lijekovima.

Približno 70 % vrijednosti topiramata je unutar terapijskog intervala. Kao i za lamotrigin, za topiramat je utvrđeno kako funkcija gustoće ne prati normalnu distribuciju (Slika 3.). Medijan je 4,73 mg/l, što je dosta malo, uzevši u obzir da je terapijski interval ovoga lijeka 2-25 mg/l (Slika 4.). Lhatoo et al. donose kako je srednja koncentracija topiramata kod pacijenta koji pokazuju odgovor na terapiju 7 mg/l, a kod onih koji su u remisiji 9 mg/l (34). Kako maksimalna vrijednost iznosi 11,42 mg/l, niti jedna izmjerena koncentracija topiramata se ne nalazi u supratherapijskom području. To govori kako su mogućnosti za postizanje toksičnih koncentracija i nuspojava smanjene. Jedna od studija iznosi kako širok raspon doza i serumskih koncentracija dovodi do poželjnog djelovanja topiramata kod 70 % pacijenata s refraktornom epilepsijom (33). Kod uspoređivanja topiramata i lamotrigina, možemo uočiti kako je broj vrijednosti unutar terapijskih intervala podjednak (Tablica 1.). Međutim, koncentracija topiramata je daleko manje određivana (29 vrijednosti). Koncentracije topiramata i lamotrigina su i statistički uspoređene. Mann-Whitney-U testom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike u odstupanju od terapijskih intervala za ova dva lijeka. Analizirajući korelaciju Spearmanovim korelacijskim testom, utvrđeno je da korelacija između koncentracije topiramata i lamotrigina postoji. Passing-Bablok regresijom je utvrđeno kako nema značajnog odstupanja od linearnosti (Slika 6).

Pregled literaturnih podataka donosi argumente koji potvrđuju stvarnu primjenu TDM-a novih antiepileptika. Broj studija koje su se bavile TDM-om nove generacije antiepileptika je malen te one ne donose značajno novije rezultate. Većinom se u studijama iznose farmakokinetičke i farmakodinamičke osobine lijekova, analiziraju interakcije i utjecaj drugih lijekova te objašnjavaju nuspojave. Samo nekoliko studija je provedeno retrospektivno analizirajući izmjerene koncentracije novih antiepileptika, dok rijetke studije iznose zaključke o potrebi za TDM-om (27, 29, 32). Razlog djelomično proizlazi iz činjenice da ne postoje jedinstvene svjetske smjernice za TDM novih antiepileptika. ILAE je 2008. godine utvrdio smjernice za TDM antiepileptika kao dio terapijske strategije (15). U njima stoji kako u određenoj mjeri postoji potreba za praćenjem koncentracije sljedećih novih antiepileptika: gabapentina, lamotrigina, levetiracetama, okskarbamazepina, pregabalina, tiagabina, topiramata, vigabatrina i zonisamida. Također, donose i popis stanja i situacija u kojima je poželjno provoditi TDM antiepileptika (trudnoća, starija dob, djeca itd.) (15). Međutim, od trenutka objave tih smjernica, za liječenje epilepsije odobreno je još lijekova za koje ne postoje pouzdani terapijski intervali kao ni preporuke za optimizaciju njihovih vrijednosti u krvi. U Hrvatskoj pak postoje Smjernice za farmakološko liječenje epilepsije koje je uspostavila skupina autora (2). One, između ostalog, donose izbor terapije za pojedini podtip epilepsije popraćen mišljenjem eksperta. Međutim, kao ni smjernice ILAE organizacija, ne osvrću se na TDM novih antiepileptika.

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata moguće je izvesti sljedeće zaključke o novim antiepilepticima:

- Tijekom 2018. godine koncentracija antiepileptika nove generacije je određivana 340 puta.
- Koncentracija levetiracetama je najviše određivana jer klirens lijeka značajno varira u pojedinim dobnim skupinama. Lamotrigin je često određivan jer je najprepisivaniji novi antiepileptik.
- Sveukupno je kod 218 pacijenata koncentracija lijeka bila unutar terapijskog intervala. Najveći postotak je kod zonisamida (91,7 %), dok se brojevi kod levetiracetama, topiramata i lamotrigina kreću između 60-70 %.
- Udio vrijednosti koje se nalaze unutar terapijskih intervala je moguće poistovjetiti s literaturnim navodima jer gotovo svi određivani lijekovi pokazuju širok raspon djelovanja. Međutim, zbog ograničenih podataka o dozi lijeka i postojanju komedikacije, nije moguće sa zaključivati o uspješnosti terapije.
- Koncentracija topiramata je daleko manje određivana u odnosu na koncentraciju lamotrigina dok je udio vrijednosti unutar terapijskog intervala približno isti.
- Nema statistički značajne razlike u odstupanju od preporučenih terapijskih intervala niti je uočena značajna povezanost između koncentracija topiramata i lamotrigina.
- TDM novih antiepileptika se prvenstveno provodi jer koncentracija nekih antiepileptika u krvi bolje korelira s terapijskim djelovanjem nego propisana doza lijeka.

## 7. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Utvrditi koliko često se određivala koncentracija antiepileptika nove generacije tijekom 2018. godine u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Osijek. Prikazati kod koliko pacijenata je koncentracija bila unutar terapijskog intervala. Usporediti vrijednosti za lamotrigin i topiramata međusobno i s terapijskim intervalima.

**Materijali i metode:** Koncentracije antiepileptika nove generacije izdane u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC Osijek u 2018. godini. Koncentracija antiepileptika je određena kromatografskom metodom na LC-MS/MS-8050.

**Rezultati:** Tijekom 2018. godine koncentracija novih antiepileptika je određivana 340 puta, a kod 218 pacijenata bila unutar terapijskih intervala. Najviše je određivana koncentracija levetiracetama (155), a najmanje je lakozamida, okskarbazepina i rufinamida. Najviše vrijednosti unutar terapijskog intervala su imali pacijenti na zonisamidu (91,67 %). 64,5 % koncentracije lamotrigina se nalazi unutar terapijskog intervala s medijanom 3,8 mg/l. 69 % vrijednosti topiramata se nalazi unutar terapijskog intervala te je medijan 4,73 mg/l. Distribucija koncentracija lamotrigina i topiramata nije normalna te nema značajne razlike u odstupanju vrijednosti od terapijskih intervala (Mann Whitney U test,  $P=0,95$ ). Nema značajne korelacije između koncentracija lamotrigina i topiramata niti vrijednosti odstupaju značajno od linearnosti.

**Zaključak:** TDM novih antiepileptika se provodi jer koncentracija antiepileptika u krvi bolje korelira s terapijskim djelovanjem. Za razliku od topiramata, koncentracija lamotrigina češće je određivana jer se radi o prepisivanjem antiepileptiku. Udio vrijednosti koje se nalaze unutar terapijskih intervala približno je jednak za topiramata i lamotrigin dok kod ostalih antiepileptika varira. Nema statistički značajne razlike u odstupanju od preporučenih terapijskih intervala.

**Ključne riječi:** antiepileptici nove generacije, lamotrigin, LC MS/MS, TDM , topiramata

## 8. SUMMARY

### THERAPEUTIC DRUG MONITORING OF THE NEW GENERATION ANTIEPILEPTICS

**Research goal:** Determine the frequency of monitoring of the new generation antiepileptics concentration during 2018 in the Department of Laboratory Diagnostics of KBC Osijek. To show the number of patients whose concentration was within the therapeutic range. Compare the values of lamotrigine and topiramate with the therapeutic range.

**Materials and methods:** Concentrations of the new generation antiepileptics that are issued by the Department of Laboratory Diagnostics of KBC Osijek in 2018. The antiepileptics concentration was determined by a chromatographic method on LC-MS/MS-8050.

**Results:** During 2018, the new generation antiepileptic drugs concentration was determined 340 times and it was within the therapeutic range in the case of 218 patients. Levetiracetam (155) and lamotrigine (121) are determined as the most frequent antiepileptics determined by the concentration in patients' blood, while lacosamide, oxcarbazepine and rufinamide are shown as the rarest. The highest values within the therapeutic range had the patients who were using zonisamide (91,67%) 64.5% of the concentration of lamotrigine is within the therapeutic range while the median value is 3,8 mg/l. 69 % of the topiramate value is within the therapeutic range while the median value is 4,73 mg/l. Concentrations of lamotrigine and topiramate were not to be considered as normal distribution and there was no significant difference in the concentration of mentioned drugs (Mann Whitney U test,  $P=0,95$ ). There is no significant statistical correlation between the concentration of lamotrigine and topiramate whilst the results do not deviate significantly from linearity.

**Conclusion:** TDM of new antiepileptic drugs is primarily carried out due to better relationships between blood antiepileptic drug concentration and therapeutic effect. In contrast to topiramate, lamotrigine concentration is more often determined because of the fact that it is to be the most prescribing new antiepileptic. The proportion value of topiramate and lamotrigine is approximately equally within the therapeutic range, while the value of other antiepileptic drugs vary. Statistically, there is no significant deviation from therapeutic range between the concentration of lamotrigine and topiramate.

**Key words:** lamotrigine, LC MS/MS, TDM, the new generation antiepileptic drugs, topiramate

**9. LITERATURA**

1. Petelin Gadže Ž. Klasifikacija epilepsije. *Medicus*. 2019;28(1):7-12.
2. Hrvatska Liga protiv epilepsije. Smjernice za farmakološko liječenje epilepsije. Dostupno na adresi: [http://www.ilae.com.hr/assets/\\_smjernice-za-farmakolo%C5%A1ko-lije%C4%8Denje-epilepsije.pdf](http://www.ilae.com.hr/assets/_smjernice-za-farmakolo%C5%A1ko-lije%C4%8Denje-epilepsije.pdf). Datum pristupa: 26.8.2019.
3. Hajnšek S, Kovačević I, Petelin Ž. Epilepsija – terapijske smjernice. *Neurol. Croat*. 2010;59:1-2.
4. French JA, Gazzola DM. New generation antiepileptic drugs: what do they offer in terms of improved tolerability and safety?. *Ther Adv Drug Saf*. 2011;2(4):141–158.
5. Bašić S, Marković I, Sporiš D, Šušak – Sporiš I, Čolak Romić Z i Županić S. Antiepileptici i njihove interakcije. *Medicus*. 2019;28(1):13-22 .
6. Osmanović Barilar J. Antiepileptici za studente medicine. *Gyrus Journal*. 2014;2:99-103.
7. Allahverdiyev O, Dzhafar1 S, Berköz M, Yıldırım M. Advances in current medication and new therapeutic approaches in epileps. *East J Med*. 2018;23(1): 48-59.
8. Neels HM, Sierens AC, Naelaerts K, Scharpe SL, Hatfield GM, Lambert WE. Therapeutic drug monitoring of old and newer anti-epileptic drugs. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(11):1228–1255.
9. Marson, A G, Al-Kharusi AM, Alwaidh MH, Appleton RC and on behalf of the Sanad Study group. The SANAD study of effectiveness of valproate, lamotrigine, or topiramate for generalised and unclassifiable epilepsy: an unblinded randomised controlled trial. *The Lancet*. 2007;369: 1016-1026.
10. Chowdhury D. New Drugs for the Treatment of Epilepsy : A Practical Approach. *J Assoc Physicians India*. 2013;61:19-39.
11. Kaur H, Kumar B, Medhi B. Antiepileptic drugs in development pipeline: A recent update. *eNeurological Sci*. 2016;4:42-51.
12. Štraus B, Barišić K. Određivanje koncentracije lijekova tijekom terapije. U: Čvorišćec D, Čepelak I, urednic. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb, Medicinska naklada; 2009. str. 203-214.
13. Burtis CA, Bruns DE, Sawyer BG, Tietz NW. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 7th ed. St. Louis: Elsevier/Saunders, 2015.
14. National Center for Biotechnology Information. An Introduction to Epilepsy. Chapter 3



Neuropharmacology of Antiepileptic Drugs. Dostupno na adresi:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2513/> . Datum pristupa: 31.8.2019.

15. Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BFD, Cloyd JC, Glauser TA, Johannessen SI, Leppik IE, Tomson T, Perucca E. 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*. 2008;49(7):1239–1276.
16. Topić E, Primorac D, Janković S, Štefanić M i sur. *Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi*. 2. dopunjeno i izmijenjeno izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
17. Knezevic CE, Marzinke MA. Clinical use and monitoring of antiepileptic drugs. *JALM*. 2018;3:1-13.
18. Krasowski MD. Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Anti-Epilepsy Medications. *Pharmaceuticals*. 2010;3:1909-1935.
19. Landmark CJ, Johannessen SI, Tomson T. Dosing strategies for antiepileptic drugs: from standard dose for all to individualised treatment by implementation of therapeutic drug monitoring. *Epileptic Disord*. 2016;18(4):367-83.
20. Jacob S, Nair AB. An Updated Overview on Therapeutic Drug Monitoring of Recent Antiepileptic Drug. *Drugs R D*. 2016;16:303–316.
21. Reimers A, Berg JA, Burns ML, Brodtkorb E, Johannessen SI, Johannessen Landmark C. Reference ranges for antiepileptic drugs revisited: a practical approach to establish national guidelines. *Drug Des Devel Ther*. 2018;12:271-280.
22. LaRoche SM, Helmers SL. The New Antiepileptic Drugs- Scientific Review. *JAMA*. 2004;291(5):605-614.
23. Pit JJ. Principles and Applications of Liquid Chromatography- Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry. *Clin Biochem Rev*. 2009;30:19-34.
24. ChromSystems. Instruction Manual for the LC-MS/MS Analysis of MassTox TDM Series A BASIC Kit A, Order number 92111, 2014.
25. ChromSystems diagnostics by HPLC and LC-MS/MS. Instruction Manual for the LCMS/MS Analysis of MassTox TDM Series A PARAMETER Set, Antiepileptic Drugs and Metabolites in Serum/Plasma, Order Number 92921, 2013.
26. High Performance Liquid Chromatograph Mass Spectrometer LCMS–8050, Instruction Manual. Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan. 2013.
27. Gunindro, et al. Prescribing Patterns of Antiepileptic Drugs in Epilepsy Patients: A

- Picture from the Therapeutic Drug Monitoring Unit in a Medical Institute in Manipur. *IJCMR*. 2018;5:77-83.
28. Jarvie D1, Mahmoud SH. Therapeutic Drug Monitoring of Levetiracetam in Select Populations. *J Pharm Pharm Sci*. 2018;21(1s):149-176.
29. Tester et al. Retrospective study on therapeutic drug monitoring of lamotrigine in indian epileptic patients. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014;6(8):430-433.
30. Fröscher W1, Keller F, Vogt H, Krämer G. Prospective study on concentration-efficacy and concentration-toxicity: correlations with lamotrigine serum levels. *Epileptic Disord*. 2002 Mar;4(1):49-56.
31. Weintraub D, AB; Buchsbaum R; Resor SR,, Hirsch LJ. Effect of Antiepileptic Drug Comedication on Lamotrigine Clearance. *Arch Neurol*. 2005;62:1432-1436.
32. Søndergaard Khinchi M, Nielsen KA, Dahl M, Wolf P. Lamotrigine therapeutic thresholds. *Seizure*. 2008;17:391-395.
33. Stephen LJ, Sills GJ, Brodie MJ. Topiramate in refractory epilepsy: a prospective observational study. *Epilepsia*. 2000;41:977–980.
34. Lhatoo S, Wong ICK, Sander JWAS. Prognostic factors affecting long-term retention of topiramate in patients with chronic epilepsy. *Epilepsia*. 2000; 41:338–341.

## 10. ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Magdalena Galinec

Datum i mjesto rođenja: 15. siječnja 1995., Osijek

Adresa stanovanja: Kralja Tomislava 32, 31 222, Bizovac

Broj telefona: 095/857 97 73

E-mail: magdalena.galinec@gmail.com

### OBRAZOVANJE

2002. - 2010. - Osnovna škola Bratoljuba Klaića, Bizovac

2010. - 2014. - III. Gimnazija, Osijek

2014. - 2017. - Medicinski fakultet Osijek, preddiplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

2017-danas - Medicinski fakultet Osijek, diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

### ČLANSTVO

Gradsko društvo Crvenog križa, Osijek