



**Tesis de Doctorado en Farmacia,
orientación Biofarmacia y Farmacocinética
Diciembre de 2008
Facultad de Química
Montevideo (Uruguay)**



***RELACIÓN FARMACOCINÉTICA-
FARMACODINÁMICA DE FÁRMACOS
ANTICONVULSIVANTES EN PACIENTES CON
DISTINTOS SÍNDROMES EPILÉPTICOS DE
GRUPOS ETARIOS DIFERENTES***

Q.F. M.Sc. Ivette Olano

**Directores de Tesis:
Prof. Dra. Q. F. Marta Vázquez
Prof. Dra. Aurora Delfino**

A mi madre

AGRADECIMIENTOS

A mis directoras de tesis, Dra. Marta Vázquez y ex Prof. Dra. Aurora Delfino, por haber aceptado la dirección científica en este trabajo y por el apoyo humano brindado a lo largo del mismo.

A los pacientes, porque sin ellos no se podría haber llevado a cabo esta tesis.

A los médicos Neuropediatras de la Cátedra de Neuropediatria de la Facultad de Medicina y a la actual Prof. Dra. Cristina Scavone, por la disposición a colaborar en todo momento.

A la Dra. Graciela Queiruga, Jefa del Laboratorio de Análisis Clínicos del BPS, por haber facilitado muestras biológicas de pacientes de esa institución que eran de interés para esta tesis.

A Rosa Eiraldi, Anna Boronat, Silvia Sánchez, Bruno Villamarín, Cecilia Maldonado y Fernanda Trindade, por el apoyo y el compañerismo de siempre.

Por último a la Dra. Lourdes Pignatta, al ex Prof. Dr. Raúl Ruggia y al Prof. Dr. Pietro Fagiolino, por aceptar ser integrantes del tribunal de defensa pública de esta tesis.

ÍNDICE

Capítulo 1: <i>Introducción</i>	pág. 4
Capítulo 2: <ul style="list-style-type: none">• <i>Saliva como fluido biológico de monitorización</i>• <i>Incidencia de transportadores de eflujo en la farmacocinética de drogas antiepilépticas</i>.....	pág.15
Capítulo 3: <i>Validación de técnicas analíticas en plasma y saliva</i>	pág.26
Capítulo 4: <i>Tratamiento clínico–experimental de pacientes epilépticos</i>	pág.39
Capítulo 5: <i>Conversión sistémica y pre-sistémica de la carbamacepina a carbamacepina-10,11-epóxido en tratamiento prolongado</i>	pág.70
Capítulo 6: <i>Niveles salivales de ácido valproico en niños con monoterapia antiepiléptica</i>	pág.83
Capítulo 7: <i>Estudio en niños de la concentración libre de ácido valproico y su relación con saliva</i>	pág.92
Capítulo 8: <i>Educación en epilepsia</i>	pág.96
Capítulo 9: <i>Discusión, conclusiones generales y proyección de la tesis</i>	pág.100
<i>Referencias bibliográficas</i>	pág.105

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Esta tesis está enfocada al estudio farmacocinético de distintos fármacos anticonvulsivantes en diferentes poblaciones de epilépticos: ya sea aquellos pacientes epilépticos denominados refractarios o de difícil control (que constituyen aproximadamente entre el 8 y 10% del total de la población de epilépticos), en niños en monoterapia o politerapia de anticonvulsivantes y en adultos.

Uno de los puntos capitales de la tesis es, profundizar en otros fluidos de monitorización como la *saliva*. Como proyección de la misma y de acuerdo a los datos obtenidos queda planteado el estudio de la incidencia de los transportadores de eflujo en la farmacocinética de las drogas anticonvulsivantes.

La epidemiología nos enseña que una de cada 200 personas de la población general y una de cada 50 personas de la población infantil, sufrirá de ataques epilépticos lo cual le confiere particular importancia desde el punto de vista de la salud pública. En más de un 50% de los pacientes, la epilepsia se desencadena antes de los 18 años.

A continuación se pasa a describir lo que es la Epilepsia y los Síndromes Epilépticos, aunque su abordaje puede resultar un tanto extenso, es necesaria su presentación en este capítulo, ya que en los siguientes capítulos los casos clínicos seleccionados pertenecen a pacientes que presentan diferentes tipos de epilepsias así como síndromes epilépticos.

Epilepsia y Síndromes Epilépticos

La Epilepsia es un desorden del Sistema Nervioso Central (SNC) cuyos síntomas son manifestaciones críticas motoras o sensitivas o vegetativas o psíquicas o con o sin compromiso de la conciencia. El clínico debe tratar de determinar si se trata de un síndrome porque esto tiene profundas implicancias para el tratamiento y pronosis. En otras palabras, una crisis, es un síntoma no específico de un desorden que deberá ser diagnosticado. Esto es análogo a la fiebre siendo el síntoma de un sin número de enfermedades. Para ayudar a organizar el diagnóstico de estos desórdenes, la International League Against Epilepsy (ILAE) ha desarrollado una clasificación de las epilepsias y síndromes epilépticos (Tabla I y II). Muchos de estos síndromes están relacionados con la edad (Tabla III). (Rey A., 2006)

Un síndrome epiléptico está caracterizado por un grupo de signos y síntomas que habitualmente ocurren juntos; estos incluyen ítems tales como el mismo tipo de crisis, la etiología, la anatomía, los factores desencadenantes, la edad de inicio, la severidad, la cronicidad, ciclos diurnos y circadianos y, a veces el pronóstico. Un síndrome no tiene necesariamente una etiología y pronósticos comunes.

La primera etapa en la identificación del síndrome epiléptico es identificar correctamente el tipo de crisis que tiene el individuo. Un síndrome epiléptico puede incluir más de un tipo de crisis.

Epilepsia es una de las manifestaciones de diferentes disturbios cerebrales (algunas veces su principal manifestación); las crisis epilépticas son una de las formas por las que se definen y clasifican las epilepsias.

En el sistema de clasificación de epilepsias de la ILAE, la distinción primaria está basada en el tipo de crisis, parcial o focal, o generalizada.

Epilepsias asociadas con patologías del SNC, son secundarias o sintomáticas. Si la etiología es desconocida, se usa el término criptogénico. Epilepsias no relacionadas con patologías del SNC, son primarias o idiopáticas. (*Leppik I.E., 1998*)

Crisis Parciales (Focales, Locales)

Las crisis parciales se clasifican según haya o no pérdida de conciencia. Cuando no hay pérdida de conciencia se llama crisis parcial simple, y cuando la hay se llama crisis parcial compleja. La pérdida de conciencia puede ser el primer signo clínico, y la crisis parcial puede evolucionar a compleja. En pacientes con pérdida de conciencia pueden aparecer automatismos (alteraciones del comportamiento). Una crisis parcial puede evolucionar a generalizada.

La pérdida de conciencia se define como la incapacidad de responder normalmente a los estímulos exógenos. Existen evidencias claras de que una crisis parcial simple usualmente involucra a un área cerebral.

Las crisis parciales se clasifican en:

a) Crisis parciales simples

- Con signos motores
- Con síntomas somatosensoriales o sensoriales especiales
- Con síntomas o signos autonómicos
- Con síntomas psíquicos

El denominador común entre todos los tipos es la conservación de la conciencia durante la crisis, el paciente relata “lo que le pasa”. Un tipo común de las crisis parciales simples vegetativas son las sensaciones súbitas en la región epigástrica, descrita por el paciente como un peso, o como un malestar que sube del estómago hacia el cuello. Una súbita sensación de familiaridad extrema con una situación como si ya la hubiera experimentado anteriormente y el paciente pudiera prever su desarrollo, es uno de los ejemplos clásicos de crisis parciales simples de tipo psíquico. Mientras que el tipo más común de las psíquicas, es una sensación súbita de miedo, sin ningún motivo, a la cual con frecuencia el paciente reacciona con manifestaciones autonómicas apropiadas (gestos de pavor, taquicardia).

Existen tres aspectos fundamentales prácticos para que un determinado síntoma represente una crisis epiléptica:

- que el síntoma ocurra súbitamente,
- que haya una tendencia definida hacia la repetición, o sea que el paciente experimente la misma sensación de forma recurrente a lo largo de meses o años,
- aunque muchas veces el síntoma ocurra aisladamente, en otras habrá una evolución de la crisis, con compromiso de otras áreas cerebrales lo que llevará a comprometer la respuesta del paciente al ambiente y otras manifestaciones.

Es muy poco común que la forma de crisis parcial simple persista como repetición sistemática de síntomas psíquicos, generalmente evolucionan con alteraciones de la memoria y de la respuesta al ambiente.

b) Crisis parciales complejas

- con pérdida de conciencia al comienzo
- parcial simple al comienzo y seguida de pérdida de conciencia

En la mayoría de los casos, las crisis **epilépticas** son fenómenos altamente dinámicos. El escenario más común es aquel en el cual la crisis se inicia como crisis parcial simple, de cualquier tipo, evolucionando segundos después a un compromiso de la conciencia, hay una cesación de actividad, o queda vago y distante y no responde a llamados verbales. Esta progresión de una crisis parcial simple a una parcial compleja (ahora con respuesta alterada) se explica por la tendencia natural de las descargas epilépticas a propagarse de una región cerebral a otra, con la que se encuentra sinápticamente conectada. En las Epilepsias parciales o focales complejas sintomáticas o criptogenéticas las manifestaciones motoras más precoces son los que se llama automatismos. Estos son movimientos en general estereotipados, repetitivos, sin propósito aparente. Los más comunes son los movimientos tipo engullir, masticar, lamerse, restregar una mano contra otra, pegar y soltar repetitivamente un objeto, etc. Durante estos automatismos tanto la conciencia como la memoria del paciente se hallan alteradas. Consecuentemente el paciente no recuerda nada de lo que ocurre durante los automatismos. Luego de la crisis, el paciente se presentará confuso y somnoliento durante algunos minutos u horas hasta recuperarse completamente, este es el periodo post-ictal. La propagación de la actividad epiléptica puede limitarse a algunas estructuras, generalmente configurando una crisis parcial compleja.

c) Crisis parciales evolucionando a convulsiones tónico-clónicas generalizadas

- simples evolucionando a crisis tónico-clónicas generalizadas
- complejas evolucionando a crisis tónico-clónicas generalizadas
- crisis parciales simples al comienzo evolucionando a complejas parciales evolucionando a generalizadas (*Leppik I.E., 1998*)

Crisis Generalizadas (convulsivas o no convulsivas)

Las crisis generalizadas son aquellas en las cuales el primer cambio clínico indica el compromiso de ambos hemisferios. La pérdida de conciencia y ésta es la manifestación inicial. Las manifestaciones motoras son bilaterales.

La definición de crisis generalizadas lleva en consideración el acontecimiento simultáneo simétrico y sincrónico, de una gran parte o la totalidad de las estructuras de los dos hemisferios cerebrales. El cerebro está sometido totalmente por la actividad epiléptica desde el inicio de la crisis o, como ya se destacó, la crisis epiléptica puede comenzar parcial y evolucionar a generalizada, en la medida que las descargas epilépticas se propagan hacia los dos hemisferios cerebrales. La nomenclatura de estos dos tipos de secuencias es simple: si la actividad epiléptica generalizada estuvo presente desde el inicio, ésta será una **crisis primariamente generalizada**; si la crisis fue parcial al inicio, y luego de algunos segundos, evolucionó a generalización, será llamada **crisis secundariamente generalizada**.

Existen básicamente cuatro tipos de crisis generalizadas. El tipo más común, más dramático y más fácilmente reconocible es el de las crisis tónico-clónicas generalizadas. Se caracterizan primero por pérdida de conciencia seguida de una contracción inicial de la musculatura axial de las extremidades, durante varios segundos. Luego aparecen interrupciones intermitentes de ese estado hipertónico, caracterizando movimientos clónicos. La hipertonía inicial incluye la musculatura extra-ocular y ventilatoria. Esto

provoca movimientos de los ojos, producción de algunos sonidos guturales y también cianosis durante las crisis. El periodo de movimientos clónicos determina que algunos pacientes se muerdan la lengua o las encías durante las crisis. También es bastante común la incontinencia esfinteriana.

El segundo tipo más común de crisis generalizada son las crisis de ausencia. El término **crisis de ausencia** en la actual clasificación se reserva para episodios en los cuales se aprecia breves interrupciones de la conciencia que se repiten diariamente con una súbita cesación de la actividad motora, quedando el paciente como “parado”, distante y con las características que se describen a continuación. Puede acompañarse de movimientos como tics, temblores alrededor de la boca o un leve desvío de los ojos hacia arriba. Las ausencias clásicas son breves (la mayoría de las veces duran menos de 10 segundos), no se siguen por un periodo de alteración del comportamiento post-ictal (post-ictal) y apenas raramente se acompañan de automatismos. Una forma semiológica de diferenciar esas entidades lleva justamente en consideración los aspectos citados: duración, presencia de aura, ocurrencia de alteraciones del comportamiento post-ictal y presencia de automatismos. Vale la pena resaltar que las crisis de ausencia se inician y terminan de forma abrupta. Una vez terminadas, el paciente sigue sus actividades exactamente en el punto en que las había cesado unos segundos antes. El diagnóstico se realiza por la clínica y por las características del EEG que es típico.

Las **crisis mioclónicas**, se caracterizan por breves contracciones musculares, generalmente involucrando las raíces de las extremidades, en particular de los miembros superiores. En las mioclonias generalizadas el compromiso es bilateral y generalmente simétrico. Los pacientes describen las mioclonias como “sustos o choques eléctricos”. En su mayor parte, las mioclonias ocurren en la mañana. Son activadas por la privación de sueño, el consumo de alcohol, tensión emocional y estímulos luminosos (especialmente luces centelleantes)

El cuarto tipo más común de crisis generalizadas son las caídas súbitas o drop-attacks. Esas caídas son abruptas y representan la primera manifestación de la crisis, de forma que, la mayoría de las veces el paciente no tiene como protegerse. La mayoría de los pacientes que presentan este tipo de crisis tienen las formas más severas de la epilepsia, las cuales frecuentemente son acompañadas por retardo mental y otras manifestaciones neurológicas. Estas caídas se deben a crisis generalizadas tónicas, atónicas o mioclónicas. (Leppik I.E., 1998)

Crisis Epilépticas no clasificadas

Incluye todas las crisis que no pueden ser clasificadas por no poseer datos adecuados o incompletos por lo que no pueden ser incluidas en las categorías antes descritas. Comprenden las crisis neonatales (por ejemplo: movimientos rítmicos de los ojos, movimientos de las mandíbulas, movimientos de natación) (Leppik I.E., 1998)

Crisis prolongadas o repetitivas (Status Epilepticus)

El término “status epilepticus” es usado cuando una crisis se prolonga por más de treinta minutos o se repite tan frecuentemente que no hay recuperación entre una crisis y otra. El “status epilepticus” puede ser dividido en parcial (por ejemplo, Jacksoniano), o generalizado (por ejemplo, status de ausencia o status tónico-clónico). Cuando ocurre un motor status muy localizado, se dice que es una epilepsia parcial continua. (Leppik I.E., 1998)

Tabla I. CLASIFICACIÓN DE LAS CRISIS EPILÉPTICAS (ILAE 1981)

CRISIS PARCIALES	
Parciales simples	
A1- Parciales simples con síntomas motores focales motoras sin progresión jacksonianas versivas posturales fonatorias	A2- Parciales simples con síntomas somato-sensitivos o alucinaciones sensoriales especiales somatosensoriales visuales auditivas olfatorias gustativas vertiginosas
A3- Parciales simples con signos y síntomas vegetativos	A4- Parciales simples con síntomas psíquicos disfásicos dismnésicos cognitivos afectivos ilusiones alucinaciones estructurales
Parciales complejas	
B1- Parcial simple que se sigue con pérdida de conciencia Inicio parcial simple y trastorno de la conciencia Con automatismos	B2- Parcial con pérdida de conciencia desde su inicio Simple trastorno de la conciencia Con trastornos motores, sensitivos, vegetativos o psíquicos Con automatismos
Parcial simple o compleja con generalización secundaria	
Crisis parcial simple que evoluciona a generalizada tónico-clónica Crisis parcial compleja que evoluciona a generalizada tónico-clónica Crisis parcial simple que evoluciona a parcial compleja que evoluciona a generalizada tónico-clónica	
CRISIS GENERALIZADAS (CONVULSIVAS O NO CONVULSIVAS)	
Crisis de ausencia	
A1- Ausencias típicas Simple trastorno de conciencia con automatismos con componente mioclónico con componente atónico con componente tónico con componente vegetativo	A2- Ausencias atípicas
B- Mioclonias	C- Crisis clónicas
D- Crisis tónicas	E- Crisis tónico-clónicas
F- Crisis atónicas	G- Espasmos infantiles

Tabla II. CLASIFICACIÓN DE SINDROMES EPILÉPTICOS (ILAE 1989)

Epilepsias y síndromes relacionados con la localización (focales, locales, parciales)
<ul style="list-style-type: none"> • Idiopáticos (con inicio relacionado con la edad) <ul style="list-style-type: none"> - Epilepsia benigna de la infancia con foco centrottemporal - Epilepsia infantil con paroxismos occipitales - Epilepsia primaria de la lectura
<ul style="list-style-type: none"> • Sintomáticos <ul style="list-style-type: none"> - Epilepsia parcial continua crónica progresiva de la infancia - Síndrome de Kojewnikow - Síndromes caracterizados por crisis precipitadas por factores específicos - Epilepsias lóbulo temporal - Epilepsias lóbulo frontal - Epilepsias lóbulo parietal - Epilepsias lóbulo occipital
<ul style="list-style-type: none"> • Criptogénicos (presumiblemente sintomáticos, de etiología desconocida)
Epilepsias y síndromes epilépticos generalizados
<ul style="list-style-type: none"> • Idiopáticos (inicio relacionado con la edad, por orden cronológico) <ul style="list-style-type: none"> - Convulsiones neonatales familiares benignas - Convulsiones neonatales benignas - Epilepsia mioclónica benigna de la infancia - Epilepsia ausencia de la infancia (picnolepsia) - Epilepsia ausencia juvenil - Epilepsia mioclónica juvenil (petit mal impulsivo) - Epilepsia con crisis tónico-clónicas (gran mal) al despertar - Otras epilepsias generalizadas idiopáticas no definidas - Epilepsias con crisis precipitadas por factores específicos de activación
<ul style="list-style-type: none"> • Criptogénicos o sintomáticos (por orden cronológico) <ul style="list-style-type: none"> - Síndrome de West (espasmos infantiles) - Síndrome de Lennox Gastaut - Epilepsia con ausencias mioclónicas - Epilepsia con crisis mioclónico-astáticas
<ul style="list-style-type: none"> • Sintomáticos <ul style="list-style-type: none"> - Con etiología inespecífica - Encefalopatía mioclónica precoz - Encefalopatía epiléptica infantil precoz con paroxismo-supresión - Otras epilepsias generalizadas sintomáticas no definidas - Síndromes específicos
Epilepsias y síndromes epilépticos de carácter indeterminado focal o generalizado
Con crisis generalizada y focal simultáneamente
<p>Convulsiones neonatales Epilepsia mioclónica grave de la infancia Epilepsia con punta onda continua durante el sueño lento Afasia epiléptica adquirida (síndrome de Landau Kleffner) Otras epilepsias indeterminadas no definidas Sin características inequívocas de carácter focal o generalizado</p>
Síndromes Especiales
<p>Crisis ocasionales Convulsiones febriles Crisis aislada o estado epiléptico aislado Crisis desencadenadas por factores metabólicos o tóxicos agudos</p>

Tabla III. CLASIFICACIÓN DE LOS SINDROMES EPILÉPTICOS DE ACUERDO A LA EDAD DE INICIO

Período neonatal

Convulsiones neonatales benignas
Convulsiones neonatales familiares benignas
Miscelánea – crisis neonatales

Infancia (corresponde hasta los 2 años)

Crisis febriles
Encefalopatía epiléptica de la infancia temprana
Encefalopatía mioclónica temprana
Espasmos infantiles (Sd. West)
Epilepsia mioclónica severa de la infancia
Epilepsia mioclónica benigna de la infancia
Epilepsia parcial benigna de la infancia
Convulsiones familiares infantiles benignas
Sintomáticas/criptogenéticas epilepsias parciales

Infancia temprana

Epilepsias con ausencias mioclónicas
Síndrome de Lennox-Gastaut
Epilepsia con crisis mioclónico astáticas (Sd. Doose)
Afasia epiléptica adquirida (Landau-Kleffner)
Epilepsia con espica-onda continua durante el sueño lento
Epilepsia con crisis gelástias y hamartoma hipotalámico
Sintomáticas/criptogenéticas epilepsias parciales

Edad escolar, adolescente y adultos jóvenes

Epilepsia ausencia de la niñez
Epilepsia parcial benigna con espica centro-temporal
Epilepsia benigna occipital
Epilepsias reflejas (epi fotosensible, de la lectura)
Epilepsia ausencia juvenil
Epilepsia con crisis TCG al despertar
Epilepsia mioclónica juvenil
Epilepsia lóbulo frontal autonómica dominante
Sintomáticas/criptogenéticas epilepsias parciales

Epilepsias Idiopáticas tienen un fuerte componente genético y recientemente se ha descubierto que están asociadas a defectos en un gen específico y este produce estos síndromes. Idiopáticas o formas primarias de varias epilepsias usualmente tiene mejor pronóstico que las epilepsias secundarias.

La propia clasificación de las crisis es de gran valor en la localización de la región del cerebro implicada. Pero la identificación correcta del tipo de crisis no es necesariamente útil en la determinación de patologías no claras. Por ejemplo, cuando se evalúa a un paciente con crisis parciales motoras simples afectando la mano izquierda, el médico puede deducir que existe una lesión en la corteza motora derecha del área de la mano. Sin embargo, no puede determinar si la lesión es un tumor, una malformación arterio-venosa, cisticercosis, o una cicatriz cerebral de una vieja cirugía. Otros estudios son necesarios para determinar la patología, pero el conocimiento de la ubicación puede ayudar en los estudios diagnóstico guía. (*Leppik I.E., 1998*)

Epilepsia Localizada (Focal, Local, Parcial) (1)

Epilepsias localizadas están descritas como idiopática o sintomática. En la categoría idiopática (genética), solo unos pocos síndromes específicos han sido identificados, de aparición en la infancia y con clínica específica y EEG característicos. (*Leppik I.E., 1998*)

Idiopática (1.1)

Epilepsia Infantil Benigna con espigas centrotemporales (Epilepsia Rolándica) es un síndrome común y puede explicar una cuarta parte de los casos de epilepsia en niños de edad escolar. Se inicia entre los 3 y 13 años de edad. Las crisis comienzan con una crisis parcial simple, usualmente comenzando en la cara y variablemente generalizando a crisis tónico-clónicas. Las crisis ocurren casi siempre en la noche. Los niños tienen un examen neurológico normal y no asociado a enfermedad. La etiología es genética, con una herencia autosomal dominante reportada por el EEG, pero menos del 25% de los pacientes con un EEG patrón, desarrollan crisis. La prognosis es excelente; las crisis son fácilmente controladas con Carbamacepina o Fenitoína y casi todos los niños crecen sin secuelas hasta los 15 años.

Epilepsia Infantil con espigas occipitales es mucho menos común; está caracterizada por crisis durante el día consistiendo en experiencias visuales seguidas por crisis parciales complejas. Luego de la crisis, los pacientes a menudo tienen cefaleas. (*Leppik I.E., 1998*)

Sintomática (1.2)

Epilepsias sintomáticas localizadas son los síndromes más comunes en adultos y tienen muchas causas específicas identificables. Existe un gran número de causas en esta categoría (vasculares, infecciosas, tumores, degenerativas, congénitas, traumáticas, criptogénicas), el tipo de crisis está limitado a crisis parciales que a menudo, si no son tratadas, progresan a crisis tónico-clónicas secundariamente generalizadas. Así, la fenomenología de la crisis es útil directamente del hecho de que es identificable y

potencialmente tratable está presente, pero no es útil en la identificación de la etiología, la cual debe ser hecha por la evaluación diagnóstica. La patología puede ser difusa o multifocal, tal como anoxia, trauma físico (daño cerebral), o infecciones. Otras causas son más focales, tales como enfermedad cerebrovascular (stroke, malformación arteriovenosa, hemorragia subaracnoidea, trombosis venosa), tumores cerebrales (astrocitomas, meningiomas, glioblastomas, tumores metastáticos), y esclerosis mesial temporal. Esclerosis mesial temporal es uno de los tipos de epilepsias más tratadas quirúrgicamente. (Leppik I.E., 1998)

Epilepsias Generalizadas y Síndromes (2)

Las Epilepsias Generalizadas son las comunes en la población pediátrica. Los síndromes idiopáticos (genéticos) han sido bien definidos en los últimos años, y el gen foci ha sido asociado para algunas, cementando firmemente el concepto de identificación de un síndrome específico.

Idiopáticas relacionadas con la edad (2.1)

Convulsiones Neonatales Familiares Benignas es un síndrome raro caracterizado por crisis generalizadas ocurriendo solo durante la primera semana de vida. Debe ser diferenciada de la larga lista de crisis neonatales sintomáticas severas. Existe claramente una clara historia familiar y las crisis remiten espontáneamente después de unos pocos días. Otros desórdenes infrecuentes, epilepsia mioclónica benigna en la infancia, se diferencia en este grupo etario por el EEG.

Ausencia Infantil (Picnolesia) se refiere a la “epilepsia de petit mal” del pasado. Sin embargo, porque el mal uso del término petit mal, el término más exacto de la ausencia infantil ha sido aplicado a esta condición. El término picnolesia también es utilizado porque las crisis tienen una tendencia a ocurrir muchas veces en una hora. Consiste de crisis de ausencias típicas. Aunque cada crisis puede ser corta, el hecho que estas crisis ocurren en sucesión rápida a menudo comienza a considerable disfunción porque el niño pierde tiempo en la escuela y otras actividades de aprendizaje. La Epilepsia de Ausencia Infantil ocurre en un 2% a 4% de los niños con epilepsia. Las crisis parciales complejas son el mayor diagnóstico diferencial.

La Epilepsia de Ausencia Infantil remite en un 40% de los pacientes, así la terapia prolongada puede que no sea necesaria. Los dos fármacos más efectivos, en la epilepsia de ausencia son la Etosuximida y Ácido Valproico. Porque la Epilepsia de Ausencia Infantil es benigna, la Etosuximida es de primera elección, pero si está es insuficiente o el paciente tiene crisis tónica-clónicas generalizadas, entonces se recomienda el Ácido Valproico. Existe una fuerte predisposición genética y estaría involucrado un locus de un gen específico.

Epilepsia Mioclónica Juvenil (JME) ocurre en la adolescencia y es un síndrome característico que consiste de una tríada de crisis (mioclonias, ausencia, y tónico-clónica generalizada). Las mioclonias por lo general ocurren en la mañana e involucran primero los miembros superiores. La queja más común es la torpeza, la cual es exacerbada por stress y es a menudo inicialmente una conducta errónea en la adolescencia. Desarrollan crisis tónico-clónicas generalizadas, usualmente en la mañana. Las crisis de ausencia pueden ser relativamente difíciles de detectar. No todas las personas tienen los tres tipos de crisis, pero el diagnóstico se realiza con un EEG característico junto con la historia del paciente. Esto es importante para diferenciar este síndrome de las epilepsias localizadas porque el tratamiento es altamente específico; responde poco con

Carbamacepina o Fenitoína, mientras que es muy efectivo el Ácido Valproico. Un locus de gen específico en el cromosoma 6p21.2-p11 ha sido propuesto para este síndrome familiar. (*Leppik I.E., 1998*)

Sintomática y/o Idiopática (2.2)

Este grupo de epilepsias generalizadas consiste de una mezcla de síndromes. Algunos niños en estos grupos tienen causas sintomáticas identificables, mientras en otros la etiología es indeterminada o criptogénica. En este grupo el retardo mental es común.

Espasmos Infantiles, también conocido como síndrome de West, comenzando entre los 4 y 12 meses de edad. Está definido por un tipo de crisis específica, un espasmo que consiste de flexión en el cuello, tronco, brazos, y piernas, con abducción o aducción de los brazos. Estos son rápidos, de un segundo de duración, conocidos como crisis relámpago. Estos pueden ocurrir cientos de veces al día. Aproximadamente dos tercios de estos pacientes tienen un patrón de EEG descrito como hipsarritmia y un tercio tienen grandes anormalidades definidas. El patrón de hipsarritmia es una mezcla desorganizada de espigas y ondas lentas que son diferentes en cada hemisferio.

La prognosis en espasmos infantiles está relacionada a un desorden cerebral y a la terapia. Los pacientes con espasmos infantiles idiopáticos que responden a una terapia óptima tienen mejor prognosis. Aquellos con desórdenes encefalopáticos severos tienen el peor. Entre todos los pacientes con espasmos infantiles, 20% fallece antes de los 5 años de edad, y de los sobrevivientes entre 75% y 93% se reportan con retardo mental; más del 50% tienen epilepsia tardía en la vida, y la mitad de estos desarrollan el síndrome de Lennox-Gastaut.

La terapia corriente en los espasmos infantiles es la hormona adrenocorticotrófica (ACTH). Cuando la ACTH y esteroides no son efectivos, se utilizan anticonvulsivantes convencionales, más a menudo una benzodiacepina tal como Clonazepam. Recientemente, se ha reportado como efectivo el Vigabatrin para el control de las crisis si el síndrome de West es causado por esclerosis tuberosa.

Síndrome de Lennox-Gastaut ha designado para representar una combinación de crisis (ataques tónicos axiales, crisis tónico-clónicas, crisis de ausencias atípicas, y atónicas) con subnormalidad mental. Comienza entre 1 a 8 años, el síndrome de Lennox-Gastaut es típicamente difícil de tratar. Ácido Valproico, benzodiacepinas y Felbamato son las drogas más efectivas. (*Leppik I.E., 1998*)

Epilepsias, no determinadas como Focales o Generalizadas (3)

En esta categoría de epilepsias está formada por un número de síndromes pediátricos (Tablas I y II) cuya naturaleza clínica aún no ha sido completamente elucidada. Algunos pacientes pueden experimentar una mezcla de clínica y de EEG patrones de crisis focales y generalizadas. Este grupo incluye un número de casos de epilepsia mioclónica con retardo mental. (*Leppik I.E., 1998*)

Síndromes Especiales (4)

Esta categoría es designada para circundar condiciones en la cual las crisis no ocurren espontáneamente, pero tal vez están relacionadas a estímulos específicos. Así, estos pacientes probablemente tienen alguna predisposición a una disfunción del SNC. Sin

embargo, diferentes síndromes epilépticos antes descritos; tratamiento para estas condiciones especiales a menudo consiste de evitar el estímulo específico, o tratando solo el tiempo de provocación. También en este grupo están los pacientes los cuales tienen crisis aisladas y pueden simplemente tener un bajo umbral convulsivo. (*Leppik I.E., 1998*)

Situaciones relacionadas con crisis (4.1)

Convulsiones Febriles ocurren entre niños de 3 meses a 5 años de edad, quienes tienen fiebre y no evidencian otra causa. Estudios prospectivos en la población indican que las crisis febriles son relativamente benignas. Estas crisis no están asociadas con un incremento del riesgo de retardo mental o un severo deterioro neurológico.

La probabilidad de desarrollar epilepsia luego de las crisis febriles es baja. Es más probable la aparición de la epilepsia cuando están presentes ciertos factores de riesgo como historia familiar de epilepsia tardía, anormalidades neurológicas preexistentes, crisis febriles complejas y crisis febriles focales. El riesgo de crisis febriles adicionales está relacionado a la edad del paciente al tiempo de aparición de la primera crisis febril. Algunos pacientes tienen su primera crisis febril antes de los 12 meses, la probabilidad de una segunda crisis es del 50%. (*Leppik I.E., 1998*)

En los subsiguientes capítulos que componen esta tesis, se incursionará en el estudio farmacocinético de la Carbamacepina y de su metabolito activo epóxido, de la Oxcarbacepina y del Ácido Valproico utilizando como se mencionó anteriormente la saliva como fluido de monitorización clave para evaluación del estado clínico del paciente y como posible fluido que nos permita inferir sobre los transportadores de eflujo.

CAPÍTULO 2

- **SALIVA COMO FLUIDO BIOLÓGICO DE MONITORIZACIÓN**
- **INCIDENCIA DE TRANSPORTADORES DE EFLUJO EN LA FARMACOCINÉTICA DE DROGAS ANTIEPILÉPTICAS**

SALIVA COMO FLUIDO BIOLÓGICO DE MONITORIZACIÓN

Respuesta Clínica al tratamiento farmacológico

La observación de la respuesta clínica a un tratamiento farmacológico es decisiva a la hora de evaluar el éxito terapéutico. El sólo hecho de administrar fármacos no asegura el objetivo. Es preciso adecuar las dosis para cada paciente a los efectos de lograr los beneficios buscados.

Aunque habitualmente los textos de farmacología introducen los principios básicos de la terapéutica a partir de la relación dosis-efecto, ésta no es la mejor estrategia para el seguimiento clínico del paciente. No siempre la dosis administrada ingresa al organismo, ni aún la fracción biodisponible de la misma es constante a lo largo del tratamiento.

Las características farmacocinéticas del paciente son tan variables interindividualmente que una correcta posología en un sujeto es a menudo inapropiada en otro individuo. La variabilidad intraindividual también interfiere en la concreción del objetivo terapéutico, por cuanto una misma dosis mantenida suficientemente en un paciente puede producir diferentes grados de respuesta clínica.

Analizando los aspectos conceptuales de la acción de los fármacos, se concluye que la actividad terapéutica es consecuencia de la concentración que ellos alcanzan en los tejidos donde se ubican los sitios de acción. Por lo tanto es evidente que la relación concentración-efecto es más lógica que la relación dosis-efecto, ya que se desligan todos aquellos factores que puedan interponerse al objetivo buscado con las dosis administradas: biodisponibilidad, capacidad metabólica, capacidad excretora, y características distributivas del paciente tratado.

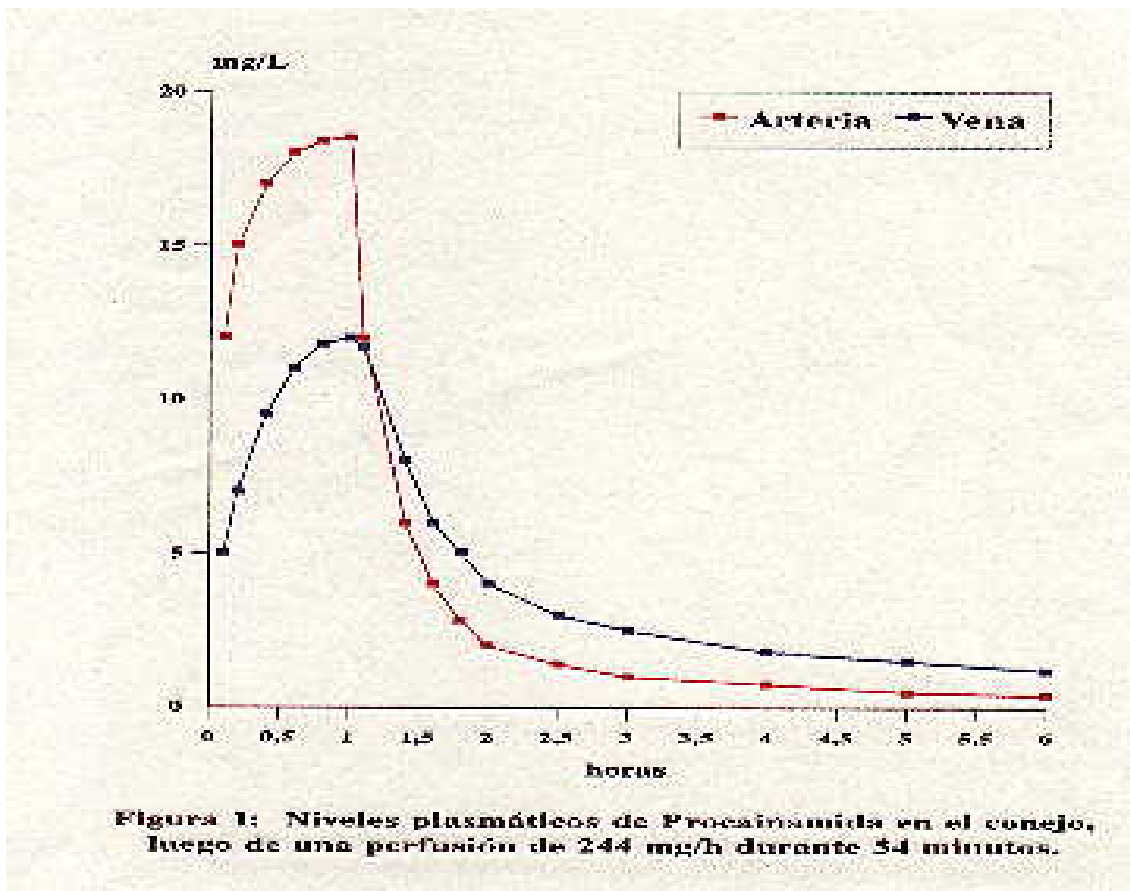
Es necesario precisar que cuando se menciona concentración responsable de la acción medicamentosa, se hace referencia a la concentración de moléculas realmente activas y no necesariamente de la sustancia administrada, tal como sucede con fármacos que deben su acción a metabolitos activos. Además dichas concentraciones son las presentes en los sitios de acción (biofase), y no los niveles circulantes en sangre.

El monitoreo de concentraciones de fármacos con fines terapéuticos es realizado de rutina en el plasma o suero, y no en la biofase de la mayoría de los medicamentos. Si bien esta práctica permitió importantes adelantos terapéuticos, no colma totalmente los requisitos científicos. En el caso de drogas antiepilépticas la biofase sería el tejido nervioso encefálico.

Las concentraciones plasmáticas informadas corrientemente miden los niveles totales de fármaco, es decir lo unido a proteínas plasmáticas y lo que circula libremente en los vasos sanguíneos. Es sabido que la extravasación de solutos requiere de un tamaño molecular que permita la filtración capilar hacia el líquido intersticial. Por lo tanto sólo podrá difundir hacia los tejidos la fracción de fármaco libre contenido en el plasma sanguíneo. Corregir técnicamente el método de análisis no resuelve totalmente el problema.

Las muestras sanguíneas utilizadas en el monitoreo de concentraciones provienen habitualmente de las venas. Sin embargo como se mencionó, el intercambio tejido-sangre procede a través de los capilares. Resulta lógico admitir que el mejoramiento en la correlación efecto-concentración se lograría monitoreando los niveles libres de fármaco en los capilares sanguíneos que irrigan al tejido blanco.

La figura 1 ilustra los niveles arteriales y venosos de procainamida administrada por perfusión endovenosa en el conejo (*Lam G. & Chiou W.L. 1982*), muestreado en vasos sanguíneos ajenos a la ruta de ingreso al organismo. Es interesante advertir que la concentración arterial es mayor que la concentración venosa mientras perdura el ingreso de sustancia, para luego invertirse la relación al cesar la perfusión.



Se deduce que las concentraciones capilares, intermedio arterio-venoso, no guarda relación constante con las concentraciones venosas. Por lo tanto lo ilustrado en la figura 2 (Fagiolino P. 1999) podría ser la causa de que 2 concentraciones plasmáticas venosas iguales se relacionen con 2 intensidades de efecto diferentes. La evidencia más clara de este enunciado puede interpretarse de la acción cardiovascular observada experimentalmente con nicotina (Gourlay S.G. & Benowitz N.L. 1997).

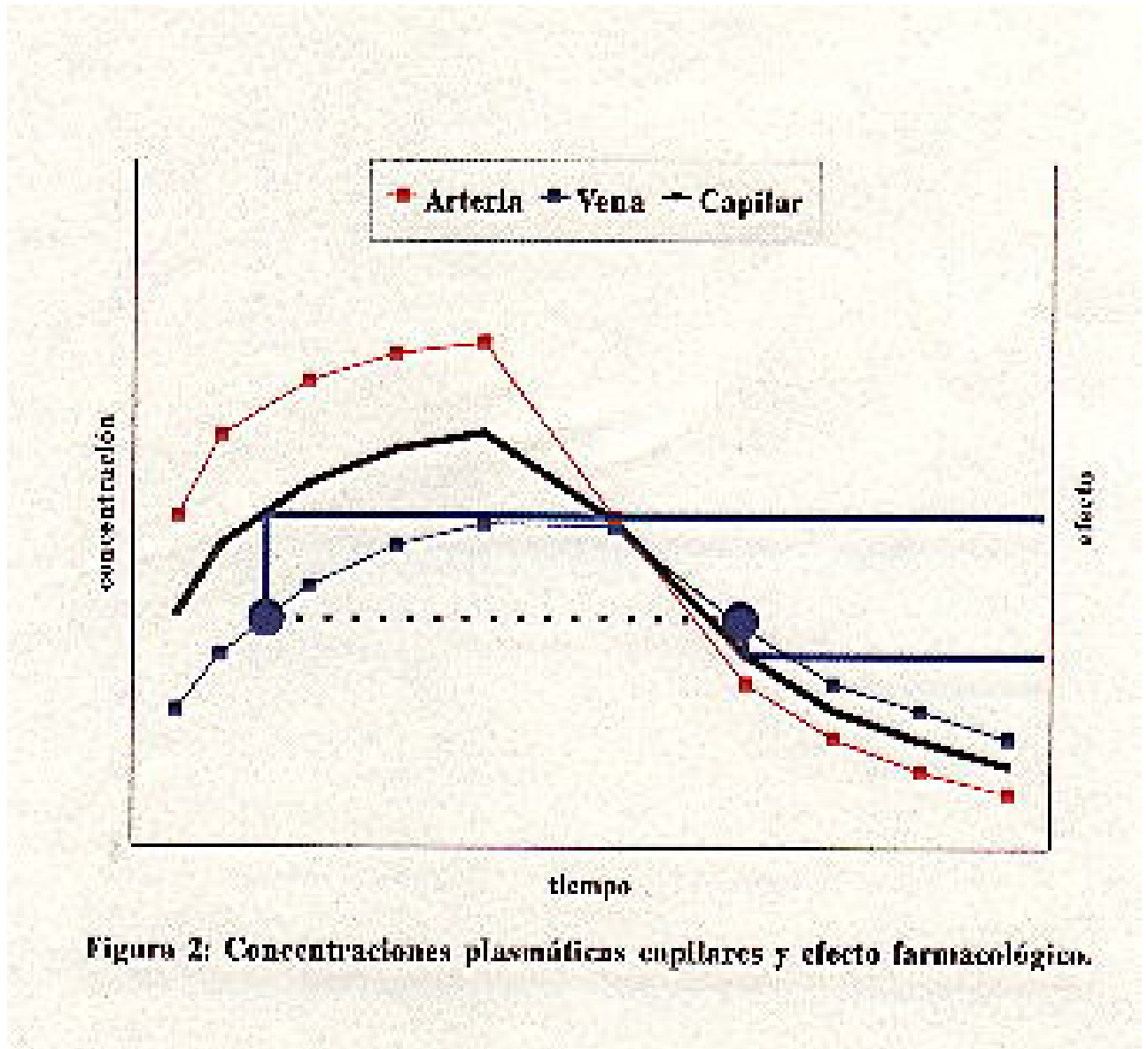


Figura 2: Concentraciones plasmáticas capilares y efecto farmacológico.

Sin embargo, pese al avance conceptual realizado, las concentraciones libres capilares aún no correlacionan teóricamente con la concentración tisular del principio activo. Puede demostrarse matemáticamente (Fagiolino P. 1999a) que la concentración tisular de un soluto difusible pasivamente desde la vasculatura es directamente proporcional al caudal sanguíneo que alimenta dicho órgano, mientras que la concentración intravascular es producto del mezclado incesante que realiza el aparato circulatorio de toda la sangre colectada de los diferentes órganos del cuerpo.

Intuitivamente puede comprenderse que cuando el porcentaje del gasto cardíaco que irriga a un órgano aumenta, debido a vasodilatación de la arteria aferente o vasoconstricciones en otras regiones, la fracción de moléculas enfrentadas al órgano del total circulante en el cuerpo aumenta. Por consiguiente existe más probabilidad de difundir al tejido en estas circunstancias.

En conclusión, como no podía ser de otra manera, la concentración en los sitios de acción tisular es el referente necesario para correlacionarse con el efecto farmacológico. Lamentablemente no siempre es posible monitorear concentraciones en la biofase. El desafío está en lograr validar algún fluido biológico que conceptualmente cumpla algunos de los requisitos comentados anteriormente, como predictor de la respuesta clínica en el tratamiento farmacológico. Nuestra propuesta recae sobre la saliva.

En la última década se ha venido investigando la monitorización de fármacos en saliva, y se tienen fuertes evidencias de lo diferente que resultan las concentraciones salivales de las plasmáticas. Muchas veces no son correlacionables entre sí, ya que fortuita o intencionalmente se han producido eventos que modificaron la relación de concentraciones saliva/plasma (S/P) en un mismo individuo. (*Fagiolino P. 1999b*).

A modo de ejemplo, la eventual alteración de la unión a proteínas plasmáticas de un fármaco origina en el caso de aumentar la fracción libre, un descenso de las concentraciones plasmáticas. Esto se debe a que se facilita la distribución extravasal y concomitantemente la eliminación de la droga. Sin embargo a nivel salival, si bien se aumenta inicialmente la concentración, la incrementada eliminación sistémica compensa, pudiéndose constatar al cabo de un tiempo un valor promedio de niveles constante. La consecuencia es el aumento del cociente S/P. Podría por lo tanto deducirse un corrimiento análogo en la relación tejido/plasma de concentraciones.

La difusión de sustancias hacia la saliva se realiza en forma pasiva pero también por sistema de transportadores como se comentará más adelante (*Uematsu T., et.al, 2001*).

La glándula salival se nutre circulatoriamente de la arteria carótida externa, mientras que el encéfalo de la arteria carótida interna. Ambas arterias derivan de la misma arteria carótida y por consiguiente se transportará a ambos tejidos más o menos moléculas según se afecte el porcentaje de gasto cardíaco derivados a otros órganos del cuerpo. La alteración del caudal sanguíneo aportado por el sistema arterial es cotidiano y regido por las conocidas variaciones circadianas, alternancias ejercicio-reposo, etc.

Con este breve resumen en mente, debiera la experimentación propuesta en esta tesis conducirnos a una significativa correlación efecto-concentración salival de fármacos antiepilépticos. Sin embargo ésta es una hipótesis que debe confirmarse en la práctica. La no demostración de la hipótesis significaría que la saliva no es el mejor fluido biológico simulador de la biofase, o que la concentración de drogas en los sitios de acción no explican por sí solo la respuesta terapéutica de los medicamentos.

Con relación a la última afirmación, existen bases científicas que la refuerzan. Otros factores coadyuvan en la respuesta clínica a un tratamiento farmacológico, y mantienen cierto grado de variabilidad en la relación efecto-concentración. Es decir que aún manteniendo constante los niveles de principio activo en la biofase que en un momento fueron efectivos en el control de la enfermedad, tales factores pueden puntualmente

agonizar un rebrote de la patología. En el caso de la epilepsia podría suceder que un paciente controlado medicamentosamente, volviera a evidenciar crisis epilépticas producto de la aparición de "factores desencadenantes" de las crisis sin traducirse en variación de las concentraciones en la biofase.

Este aspecto ha sido poco estudiado con rigor científico en la medida que no se han realizado investigaciones con mediciones de concentración de fármacos en los sitios de acción. Esta tesis tampoco lo realizará, pero acotará el problema en estudio, ya que propone un fluido que conceptualmente es más idóneo que el plasma sanguíneo, y a su vez tomará en cuenta la eventualidad de los factores desencadenantes.

El avance con el uso de saliva es real:

- Se miden niveles fuera del aparato circulatorio.
- Se miden niveles en la región extra-espláncicarrenal, y más precisamente en la región nutrida por la arteria carótida.
- Se miden niveles más frecuentemente de lo que pudiera realizarse en sangre.
- No existe un procedimiento invasivo en la recolección de muestras.

INCIDENCIA DE TRANSPORTADORES DE EFLUJO EN LA FARMACOCINÉTICA DE DROGAS ANTIEPILÉPTICAS

INTRODUCCIÓN

La resistencia al tratamiento con agentes antineoplásicos es una de las principales causas de falla en el tratamiento quimioterápico de enfermos con cáncer. La misma puede adquirirse durante el tratamiento farmacológico. En los años 70 se detectó que el paciente podría desarrollar resistencia cruzada a determinados agentes citotóxicos a los que no había sido expuestos previamente.

Esta observación llevó al concepto de resistencia a múltiples drogas (multidrug resistance o MDR), debido a cambios hereditarios expresados en niveles alterados de proteínas específicas en las células cancerosas, o a mutaciones que les permitirían a las células cancerosas sobrevivir en presencia de agentes citotóxicos.

Uno de los mecanismos de adquisición de resistencia consiste en la expresión elevada de proteínas de membrana que bombean el agente quimioterápico hacia el exterior de la célula disminuyendo las concentraciones citotóxicas en su interior. Dentro de la familia de proteínas transportadoras dependientes de ATP relacionadas con el fenómeno de resistencia a múltiples drogas se encuentra la fosfo-glicoproteína o P-glicoproteína (P-gp, de peso molecular 170kDa).

También, se ha demostrado la expresión constitutiva de la P-gp en tejidos humanos normales (*Schaiquevich P. et al. 2006*). Estos tejidos forman parte de órganos involucrados en la absorción y disposición de drogas (epitelio intestinal, hepatocitos, túbulo proximal de riñón, endotelio de la barrera hemato-encefálica (BHE) y trofoblasto placentar), lo que ha llevado a la hipótesis de que la P-gp ha evolucionado como un mecanismo de defensa para

limitar la entrada y distribución de sustancias potencialmente tóxicas a las que puede estar expuesto el hombre y los animales. (Raub T.J., 2005)

Considerando la distribución de la P-gp, su modulación puede resultar en modificaciones en la biodisponibilidad y disposición de fármacos lo que producirá consecuencias en la terapéutica clínica. En la actualidad esta es un área en estudio muy importante para lograr el incremento de la actividad farmacológica de ciertas drogas y, en otros casos, disminuir los efectos adversos e interacciones entre drogas (Schaiquevich P. et al. 2006).

LA P-GLICOPROTEÍNA: TRANSPORTADOR DE EFLUJO

La P-gp integra la superfamilia de transportadores de eflujo que ligan ATP o ATP binding cassette (ABC), que en los mamíferos cuenta con alrededor de cincuenta miembros. Entre los integrantes destacados se encuentra la proteína relacionada a resistencia a múltiples drogas (MRP), la bomba de secreción biliar (BSEP), la proteína de resistencia en cáncer de mama (BCRP) (y sus análogos MXR, ABCP, ABCG2), la proteína de resistencia pulmonar (LRP-56) y el regulador transmembranal de fibrosis quística (CFTR). Los transportadores mencionados comparten características similares de inserción en la membrana plasmática y tienen dominios intracelulares para la unión de nucleótidos (NBD) (Schaiquevich P. et al. 2006).

La P-gp presenta dos porciones homólogas, cada una formada por seis dominios transmembrana y un dominio intracelular de unión al ATP, separadas entre sí por un polipéptido flexible. La proteína presenta un segmento glicosilado hacia el exterior celular. Los extremos carboxilo y amino terminal se encuentran en el citoplasma. La interacción de las dos porciones homólogas es necesaria para acoplar la actividad ATPasa al transporte. A través de mutaciones genéticas y de unión de sustratos análogos de P-gp por fotoafinidad, se ha determinado que los dominios transmembranales 5, 6 y 11, 12 y los dominios extracelulares que conectan a los anteriores, son los sitios de mayor interacción con drogas.

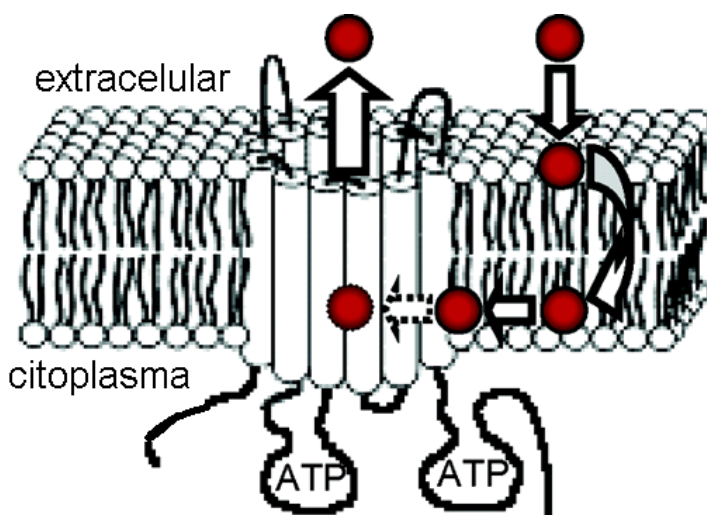


Figura 3

En la figura 3 (Raub T.J., 2005) se representa a la P-gp y sus doce dominios transmembranales en la bicapa lipídica de membrana. Se ha postulado que la P-gp actúa como una “aspiradora” que mueve compuestos desde la bicapa lipídica al espacio extracelular. Otra hipótesis sugiere que funciona como una flipasa, moviendo sustratos de la capa

lipídica interna a la externa de la membrana o alterando la composición lipídica de la membrana.

TRANSPORTADORES MULTIDROGA EN LAS BARRERAS HEMATO-ENCEFÁLICA Y HEMATO-FLUIDO CEREBROESPINAL (FCE)

Las drogas para entrar al cerebro, deben atravesar la Barrera Hemato Encefálica (BHE) o la Barrera Hemato-FCE. Debido a estas barreras anatómicas, la entrada de la droga al cerebro es restringida. La naturaleza restrictiva de las células endoteliales de la microvasculatura cerebral que forman la BHE se debe en parte a la formación de delgadas uniones entre las células (ver siguiente figura 4, (Löscher W. & Potschka H., 2002)) y a la carencia de pasos transendoteliales tales como canales transcelulares o fenestraciones. La consecuencia funcional es que los capilares cerebrales actúan en una forma pasiva como membranas fosfolipídicas, restringiendo en gran parte la penetración de compuestos hidrofílicos, polares, grandes, o compuestos unidos a proteínas, mientras que los compuestos no polares (no iónicos), drogas altamente solubles en lípidos, penetran fácilmente a través de la BHE por difusión pasiva (ver figura 4).

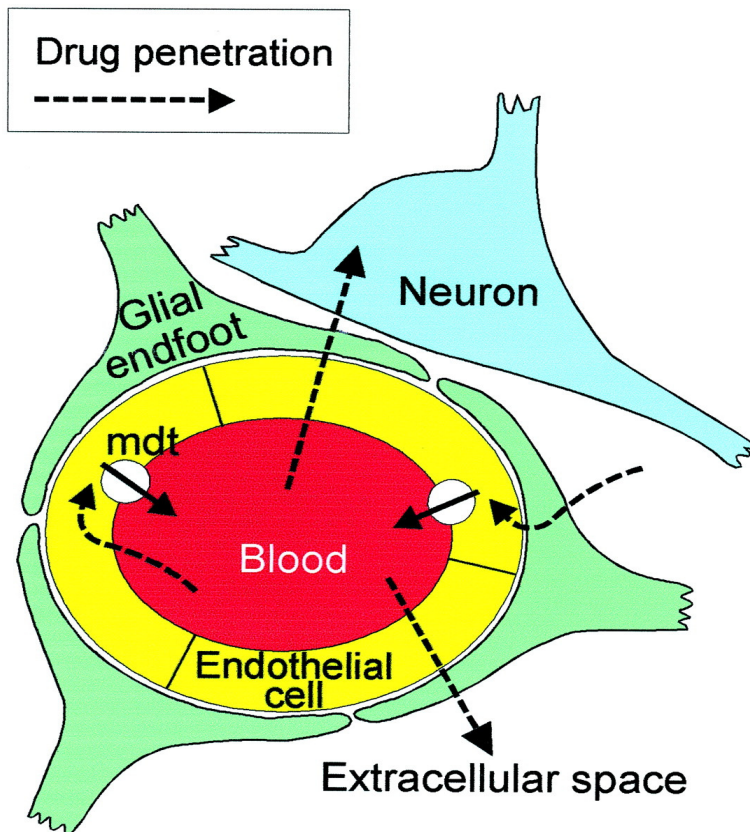
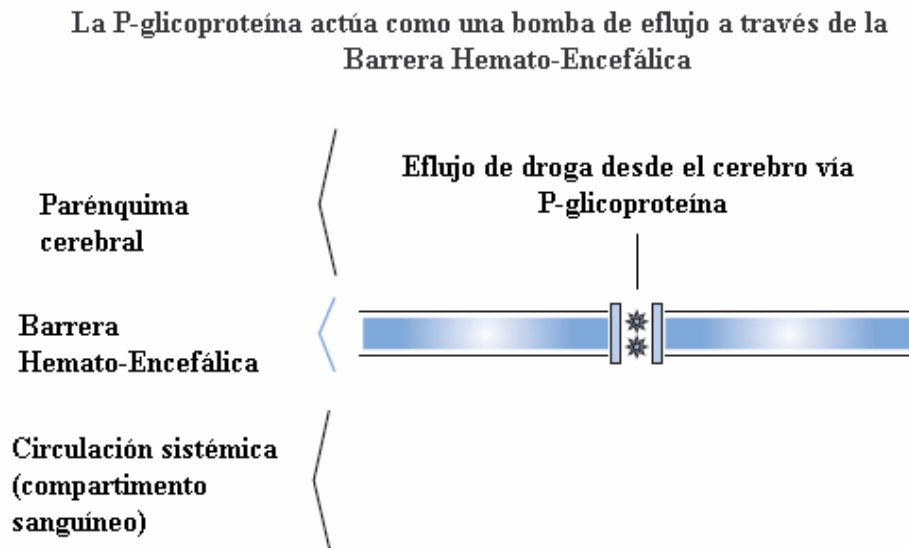


Figura 4

La figura 4 es una representación esquemática de la BHE y el rol de los transportadores a múltiples drogas (mdt) en el transporte de drogas a través de esta barrera. Se muestra un capilar cerebral con tres células endoteliales separadas por delgadas uniones. El endotelio capilar está rodeado por una membrana basal (no ilustrada) y una capa envolvente de astrocitos especializados (glial end-feet). Drogas altamente lipofílicas (como la mayoría de las drogas antiepilépticas, DAEs) ingresan fácilmente a través de la BHE por difusión simple (flechas segmentadas). Como un mecanismo de defensa activo de la BHE contra sustancias lipofílicas, los transportadores de múltiples drogas dependientes de ATP, tales como P-gp o MRP2, localizados en la membrana celular apical de las células endoteliales

del capilar, actúan como bombas de eflujo activas dirigidas hacia fuera, transfiriendo parte de la droga, la cual ha entrado a la célula por difusión de vuelta a la sangre, limitando así la penetración de la mayoría de las drogas lipofílicas al parénquima cerebral. Además, ambas P-gp y MRP están expresadas en células epiteliales de los plexos coroideos que forman la Barrera Hemato-FCE con una función no del todo dilucidada.

El movimiento de los compuestos intravasculares desde la sangre al parénquima cerebral está obstaculizado por la barrera hemato-encefálica (BHE), la cual está formada por células endoteliales, pericitos, astrocitos y delgadas uniones interendoteliales. En suma algunas moléculas que penetran la BHE están sujetas a la extracción desde el cerebro a la circulación sistémica por transportadores de droga. La P-gp sirve como un complemento funcional a la física de la BHE. La P-gp está expresada como una bomba de eflujo en una forma polarizada sobre las células endoteliales revistiendo la microvasculatura cerebral y remueve activamente drogas desde el cerebro, produciendo una importante reducción neta en la disponibilidad de la droga en el tejido cerebral. (Figura 5 extraída en *Ozdemir V. & Godard B., 2007*)



Un transportador P-gp muy activo podría resultar potencialmente en entrega disminuida de droga hacia el cerebro y, por extensión, puede conducir a resistencia al tratamiento aún cuando las concentraciones de droga en la periferia pueden estar dentro de la franja terapéutica. (*Ozdemir V. & Godard B., 2007*)

La expresión de las proteínas transportadoras de droga, incluyendo la P-gp, en el endotelio vascular del cerebro representa un reto para la efectiva entrega de drogas para el tratamiento de diferentes desórdenes del Sistema Nervioso Central (SNC) incluyendo depresión, esquizofrenia y epilepsia. Se ha hipotetizado que la P-gp juega un rol mayor en el eflujo de drogas a la BHE, y puede ser un factor que está detrás de las respuestas variables de los pacientes a fármacos o drogas que actúan en el SNC. Sin embargo, el rol de

la P-gp en el transporte de la mayoría de estas drogas no ha sido directamente demostrado. (Maines L.W. et. al, 2005)

La epilepsia o las epilepsias son desórdenes neurológicos comunes, que afectan aproximadamente 1 al 2% de la población. La epilepsia es un desorden crónico y a menudo progresivo, caracterizado por la periódica e impredecible ocurrencia de crisis, las cuales pueden ser generalizadas, originándose simultáneamente en ambos hemisferios del cerebro, o parciales (focales) en una o más partes de ambos hemisferios, más comúnmente el lóbulo temporal (ver Capítulo 1). A pesar del considerable progreso en el conocimiento de la patogenicidad de las crisis y epilepsia, para la mayoría de los tipos de crisis y síndromes epilépticos se tiene poca información acerca de sus bases fisiopatológicas. En ausencia de un conocimiento etiológico específico, la farmacoterapia para la epilepsia está dirigida necesariamente al control de los síntomas, la supresión de crisis.

La administración crónica de DAEs es el tratamiento de elección en epilepsia. La selección de una DAE está basada mayormente en su eficacia para tipos específicos de crisis, la tolerancia y seguridad. La meta de esta terapia es mantener al paciente libre de crisis sin interferir con la función normal cerebral. En la mayoría de los pacientes se alcanza. Sin embargo, cerca del 30% de los pacientes con epilepsia persiste con sus crisis a pesar de la elección de una adecuada DAE y del tratamiento cuidadosamente monitorizado (Löscher W. & Potschka H., 2002).

Aunque el término “fármacorresistencia” o “refractariedad medicamentosa” carece de una definición precisa, se podría considerar una Epilepsia Fármacorresistente, la que no ha sido controlada por dos a tres DAE de primera elección usualmente usadas para síndromes epilépticos. La probabilidad de intratabilidad en gran parte depende del tipo de crisis y epilepsia.

La Epilepsia Fármacorresistente es el mayor problema en salud, asociado con incremento en la morbi - mortalidad. El problema de crisis intratable o difícil de tratar no ha cambiado en forma significativa por la reciente introducción de varias de las nuevas DAEs, aunque el tratamiento con estas drogas ha sido más tolerable para un número de pacientes. Un llamativo obstáculo en el desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento de Epilepsia Fármacorresistente es que los mecanismos de fármacorresistencia son mal entendidos.

Algunas características clínicas están asociadas con resistencia, incluyendo el temprano inicio de las crisis (antes del año de vida), alta frecuencia de crisis previo al inicio del tratamiento, una historia de crisis febriles, el tipo de crisis (cerca del 60 % de los pacientes con epilepsia intratable padecen crisis parciales) o epilepsia, lesiones cerebrales estructurales, y malformaciones del desarrollo cortical.

Existen muchas causas probables de Epilepsia Refractaria; es probable que sea un proceso multifactorial.

Una característica importante de Epilepsia Fármacorresistente es que la mayoría de los pacientes con Epilepsia Refractaria son resistentes a la mayoría, y a menudo todas las DAEs.

El rol de la P-gp o MRPs en fármacorresistencia ha sido extensamente estudiado, en células tumorales que poseen resistencia cruzada intrínseca o adquirida a diversos agentes quimioterapéuticos. Algunos grupos han comenzado a estudiar la posibilidad que la sobre-expresión de transportadores de múltiples drogas en tejidos normales tal como la BHE contribuye a la fármacorresistencia en otras patologías, resultando en evidencia acumulada

que varios transportadores a múltiples drogas están sobre-expresados en el cerebro de pacientes con epilepsia intratable médicamente (*Löscher W. & Potschka H., 2002*).

SOBRE-EXPRESIÓN DE TRANSPORTADORES A MÚLTIPLES DROGAS EN TEJIDO CEREBRAL DE PACIENTES CON EPILEPSIA FÁRMACORRESISTENTE.

La expresión en cerebro de *MDRI*, la cual codifica el transportador de múltiples drogas P-gp en humanos, está incrementada en forma muy marcada en la mayoría de los pacientes con epilepsia parcial (por lo general lóbulo temporal) intratable médicamente. Los niveles de *MDRI* mRNA fueron determinados por transcripción reversa-por reacción en cadena de la polimerasa en muestras cerebrales removidas por una cirugía resectiva en pacientes con epilepsia intratable y comparadas con muestras normales obtenidas de pacientes a los que se les eliminó una malformación arterio-venosa.

Conforme en realzar la expresión de *MDRI* en tejido cerebral epileptógeno, los ensayos inmunohistoquímicos para P-gp mostraron un incremento en la tinción en el endotelio capilar y astrocitos. Se ha propuesto que la P-gp puede jugar un rol clínicamente significativo por el acceso limitado de las DAEs al parénquima cerebral, así que la expresión incrementada de *MDRI* puede contribuir a la refractariedad de las crisis en pacientes con Epilepsia Fármacorresistente.

Subsecuentemente, se ha visto que, la P-gp, MRP1 y MRP2 están sobre-expresados en el tejido cerebral de pacientes fármacorresistentes. *Sisodiya et al. en 1999* reportó sobre-expresión de P-gp en las células gliales de muestras cerebrales de pacientes con malformación en el desarrollo cortical, la cual está a menudo asociada con epilepsia médicamente intratable.

En un estudio posterior, *Sisodiya et al. en 2001*, encontraron sobre-expresión de MRP1 en neuronas displásticas, en la glia, y hacia los vasos en tejido cerebral obtenido de resección quirúrgica de epilepsia de pacientes con Displasia Cortical Focal (DCF), una importante malformación del desarrollo cortical, causante de Epilepsia Refractaria.

Además, cuando determinó la expresión de P-gp y MRP1 en tres causas comunes de Epilepsia Refractaria, a saber, tumores neuroepiteliales disembrionarios, DCF, y esclerosis hipocámpal, y comparando la expresión en el tejido anormal epileptógeno con la expresión de P-gp y MRP1 en tejido adyacente histológicamente normal, *Sisodiya et al. en 2002*, encontraron sobre-expresión de ambos P-gp y MRP1 en astrocitos reactivos en el tejido epileptógeno en las tres patologías, y MRP1 sobre-expresada en neuronas displásticas en DCF. La sobre-expresión en astrocitos parece más notable hacia los vasos sanguíneos.

Un tema todavía no dilucidado es si la sobre-expresión de P-gp y MRPs en tejido cerebral epileptógeno de pacientes con Epilepsia Fármacorresistente es una consecuencia de la epilepsia, las crisis no controladas, tratadas crónicamente con DAEs, o combinación de estos factores.

En suma, sobre-expresión intrínseca o adquirida de transportadores de múltiples drogas en la BHE o la Barrera Hemato-FCE de pacientes epilépticos, polimorfismos funcionales de estos transportadores pueden jugar un rol en fármacorresistencia. Además, sobre-expresión y polimorfismo funcional de transportadores de múltiples drogas en pacientes con Epilepsia Fármacorresistente no necesita necesariamente estar limitada al cerebro, pero podría

también aparecer en otros tejidos, tales como el intestino delgado, donde la P-gp forma una barrera contra la entrada de drogas desde el lumen intestinal al torrente sanguíneo, limitando de esta forma la biodisponibilidad oral. En este sentido, es interesante notar que *Lazarowski et al. en 1999*, han reportado niveles subterapéuticos persistentes de DAEs a pesar de administración continua y agresiva de DAE en un paciente con Epilepsia Refractaria asociada con sobre-expresión de *MDR1*.

En vista del surgimiento de evidencia de que transportadores de múltiples drogas están sobre-expresados en tejido epileptógeno cerebral, particularmente en células endoteliales de capilares y astrocitos contribuyendo a la permeabilidad de la BHE, es de interés clínico evaluar si las DAEs son sustratos de estos transportadores. Sólo entonces, la sobre-expresión de la P-gp o MRPs podrían contribuir críticamente a la fármacorresistencia en epilepsia. (*Löscher W. & Potschka H., 2002*).

Una sobre-expresión de P-gp en el cerebro no explica los inapropiados niveles plasmáticos de DAEs que han sido descrito en diversos estudios. La hipótesis es que la sobre-expresión de P-gp en el cerebro podría estar acompañada por elevada expresión de P-gp en órganos excretores, resultando en un clearance acelerado de DAEs de lesiones cerebrales epilépticas, y también de los tejidos periféricos, quizás con otros sistemas metabólicos y excretorios activos.

LA P-GLICOPROTEÍNA EN LAS GLÁNDULAS SALIVALES

La expresión de la P-gp, fue analizada en glándulas salivales normales mayores y menores de humanos encontrándose distribuida sobre la membrana basolateral de las células acinares serosas en ambas glándulas. En particular, se ha encontrado que está presente en la membrana basolateral y citoplasmática de las células demilunares acinares en el interior de la glándula lingual anterior. Sobre-expresión de la P-gp, se identificó en la membrana basolateral de las células de los ductos estriados de las glándulas salivales mayores. La P-gp se encontraba, en la membrana basolateral y/o luminal de la parte inicial y en la membrana luminal de la parte terminal de las células de los ductos excretorios de las glándulas salivales mayores, mientras que era positiva en la membrana luminal de ambas de la parte inicial y terminal de las células de los ductos excretorios de las glándulas salivales menores. Estas distribuciones distintas entre las glándulas salivales mayores y menores sugieren diferentes excreciones fisiológicas en el ducto estriado. La P-gp puede estar fisiológicamente involucrada en una parte importante del sistema transportador, no solo en las células serosas acinares y en las células estriadas del ducto, pero también en las células excretorias del ducto en las glándulas salivales. (*Uematsu T., et al. 2001*)

Si la P-gp también se sobre-expresa en las glándulas salivales cuando la Epilepsia es Refractaria, la concentración de droga en saliva también podría ser útil en detectar una Epilepsia Refractaria.

CAPÍTULO 3

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS EN PLASMA Y SALIVA

3.1 OXCARBACEPINA

3.1.1 Generalidades

Mecanismo de acción

Antiepiléptico. Oxcarbacepina (OXC) ejerce su actividad farmacológica principalmente a través del metabolito 10,11-dihidro-10-monohidroxi-carbamacepina (MHD). El mecanismo de acción de OXC y de MHD se debe principalmente al bloqueo de los canales de sodio voltaje dependientes, lo que produce una estabilización de las membranas neuronales hiperexcitadas, inhibición de la descarga neuronal repetitiva y reducción de la propagación de impulsos sinápticos.

Farmacocinética

- **Absorción:** Tras la administración oral la OXC se absorbe completamente y es ampliamente metabolizada a su metabolito farmacológicamente activo (MHD). Los alimentos no afectan a la tasa y grado de absorción de OXC; por tanto, OXC puede tomarse con o sin alimentos
- EL volumen de distribución (Vd) es de 0.3 - 0.8 L/kg
- Aproximadamente el 40 % de MHD se fija a proteínas séricas, principalmente a albúmina.
- **Metabolismo:** Las enzimas citosólicas del hígado reducen rápidamente la OXC transformándola en MHD, responsable principal del efecto farmacológico de la OXC. MHD es metabolizado adicionalmente por conjugación con el ácido glucurónico. Cantidades menores (4 % de la dosis) son oxidadas al metabolito farmacológicamente inactivo (10,11-dihidroxiderivado, DHD, Figura 3.1)
- **Eliminación:** OXC se elimina del organismo en su mayor parte en forma de metabolitos excretados fundamentalmente por los riñones. Más del 95 % de la dosis aparece en orina con menos del 1% como OXC inalterada. Menos del 4 % de la dosis administrada se excreta por vía fecal. Aproximadamente el 80 % de la dosis se excreta en orina, como glucurónidos de MHD (49%), o como MHD inalterado (27%), mientras que el DHD inactivo representa aproximadamente el 3 % de la dosis y los conjugados de la OXC el 13 % de la misma.

La OXC se elimina rápidamente del plasma con una semivida aparente de 1.3 a 2.3 horas. Por el contrario, la semivida plasmática aparente de MHD es en promedio, de 9.3 ± 1.8 hs.

- **Proporcionalidad de dosis:** En pacientes, las concentraciones plasmáticas en estado estacionario de MHD se alcanzan en 2 ó 3 días cuando OXC se administra dos veces al día. En estado estacionario, la farmacocinética de MHD es lineal y proporcional a la dosis en el rango posológico de 300 a 2400 mg/día.
- **Pacientes con alteración hepática:** La alteración hepática ligera a moderada no afectó a la farmacocinética de OXC y MHD. OXC no se ha estudiado en pacientes con alteración hepática grave.
- **Pacientes con alteración renal:** Cuando OXC se administra en una dosis única de 300 mg, en pacientes con alteración renal (aclaramiento de creatinina < 30 mL/min) la semivida de eliminación de MHD se prolonga en un 60-90% (16 a 19 horas) con el correspondiente aumento de AUC al doble comparado con adultos con función renal normal.
- **Niños:** en los niños con función renal normal, el aclaramiento renal de MHD normalizado por peso corporal es mayor que en los adultos. En niños, se observó una reducción de la semivida de eliminación de MHD (5 a 9 horas) comparado con adultos (10 horas).

Indicaciones

- **Epilepsia:** crisis epilépticas parciales con o sin generalización secundaria con crisis tónico-clónicas. En monoterapia o en terapia combinada en adultos y niños mayores de 6 años.

Interacciones

- **Inhibición enzimática:** la OXC y su metabolito farmacológicamente activo (el monohidroxiderivado, MHD) inhiben el CYP2C19. OXC y MHD tienen poca o ninguna capacidad de actuar como inhibidores de las siguientes enzimas: CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP4A9 y CYP4A11.
- **Inducción enzimática:** OXC y MHD inducen in vitro e in vivo, los citocromos CYP3A4 y CYP3A5 responsables del metabolismo de los antagonistas de calcio tipo dihidropiridina, los anticonceptivos orales y los DAEs (p.ej. carbamacepina), lo cual reduce las concentraciones plasmáticas de estos medicamentos. In vitro, MHD es un inductor débil de la UDP-glucuroniltransferasa y por tanto, in vivo es poco probable que tenga efecto sobre fármacos eliminados principalmente por conjugación a través de la UDP-glucuroniltransferasa (p.ej. ácido valproico, lamotrigina). A pesar de este débil potencial inductor de OXC y MHD, puede ser necesario utilizar una dosis mayor de los fármacos administrados concomitantemente que son metabolizados vía CYP3A4 o vía conjugación (UDPGT). En el caso de interrupción del tratamiento con OXC, puede ser necesaria una reducción de la medicación concomitante.

Los estudios de inducción realizados con hepatocitos humanos confirman que OXC y MHD son inductores débiles de las isoenzimas de la subfamilia CYP 2B y 3A4. Se desconoce el potencial inductor de OXC/MHD sobre los otros isoenzimas CYP.

- **Fenitoína, Fenobarbital y Carbamacepina:** In vivo, los niveles plasmáticos de fenitoína aumentaron hasta en un 40 % cuando se administró OXC a dosis superiores a 1200 mg/día. Por tanto, cuando se usen dosis mayores de 1200 mg/día

durante una terapia combinada podría ser necesario disminuir la dosis de fenitoína. El aumento de los niveles de fenobarbital, sin embargo, es pequeño (15 %).

- Los inductores fuertes de las enzimas del citocromo P450 (p.ej., carbamacepina, fenitoína y fenobarbital) reducen los niveles plasmáticos de MHD (29-40 %).
- No se ha observado autoinducción con OXC.
- **Anticonceptivos hormonales:** OXC afecta a los dos componentes de un anticonceptivo oral - etinilestradiol (EE) y levonorgestrel (LNG). Los valores de AUC medios de EE y LNG disminuyeron entre un 48-52% y 32-52%, respectivamente. No se han realizado estudios con otros anticonceptivos orales o implantes anticonceptivos. Por tanto, el uso concomitante de OXC y anticonceptivos hormonales podría anular la eficacia de estos últimos.
- **Antagonistas de calcio:** Tras la administración repetida de OXC y felodipino, los valores de AUC de felodipino disminuyeron en un 28 %. Sin embargo, los niveles plasmáticos permanecieron en el rango terapéutico recomendado.
- **Verapamilo** produjo una reducción del 20 % de los niveles plasmáticos de MHD. Esta reducción en los niveles plasmáticos de MHD no se consideró clínicamente relevante.
- **Ciclosporina:** posible disminución de los niveles plasmáticos de ciclosporina por inducción de su metabolismo hepático.
- **Cimetidina, eritromicina y dextropropoxifeno** no ejercieron ningún efecto sobre la farmacocinética de MHD.
- **Viloxazina:** produjo cambios menores en los niveles plasmáticos de MHD (aprox. un 10 % mayor después de la coadministración repetida).
- **Warfarina:** Los resultados obtenidos con warfarina no revelaron que hubiese interacción con dosis únicas o repetidas de OXC.
- **Antidepresivos:** Por motivos teóricos (relación estructural con antidepresivos tricíclicos) el uso de OXC no está recomendado en combinación con inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs).

En los ensayos clínicos se incluyeron pacientes en tratamiento con antidepresivos tricíclicos y no se observaron interacciones clínicamente relevantes.

- **Litio:** La combinación de litio y OXC puede provocar un aumento de la neurotoxicidad.

Reacciones adversas

- Muy común (>10%): fatiga. Común (1-10%): astenia. Muy raro (<0.01%): angioedema; trastornos por hipersensibilidad multiorgánica (caracterizada por acontecimientos tales como: exantema, fiebre, linfadenopatía, pruebas de la función hepática anormales, eosinofilia, artralgia).
- **Sistema Nervioso Central:** Muy común (>10%): mareo, cefalea, somnolencia. Común (1-10%): agitación, amnesia, apatía, ataxia, problemas de concentración, confusión, depresión, inestabilidad emocional (p.ej., nerviosismo), nistagmo, temblor.
- **Sistema cardiovascular:** Muy raro: arritmia (p.ej., bloqueo AV).
- **Sistema digestivo:** Muy común (>10%): náuseas, vómitos. Común (1-10%): estreñimiento, diarrea, dolor abdominal.

- **Hematología:** Poco común (>10%): leucopenia. Muy raro: trombocitopenia.
- **Hígado:** Poco común: aumento de transaminasas y/o de fosfatasa alcalina. Muy raro: hepatitis.
- **Trastornos metabólicos y nutricionales:** Común: hiponatremia.

Muy raro: hiponatremia asociada con signos y síntomas tales como crisis epilépticas, confusión, alteración de la conciencia, encefalopatía (ver también "Sistema Nervioso Central" para otros efectos indeseados), trastornos de la visión (p.ej., visión borrosa), vómitos, náuseas.

- **Piel y anexos:** Común (1-10%): acné, alopecia, exantema. Poco común: urticaria. Muy raro: Síndrome de Stevens-Johnson, lupus eritematoso sistémico.
- **Órganos sensoriales:** Muy común (>10%): diplopía. Común (1-10%): vértigo, trastornos de la visión (p.ej., visión borrosa).

(Shorvon S., 2000; Flesch G., 2004; Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2005)

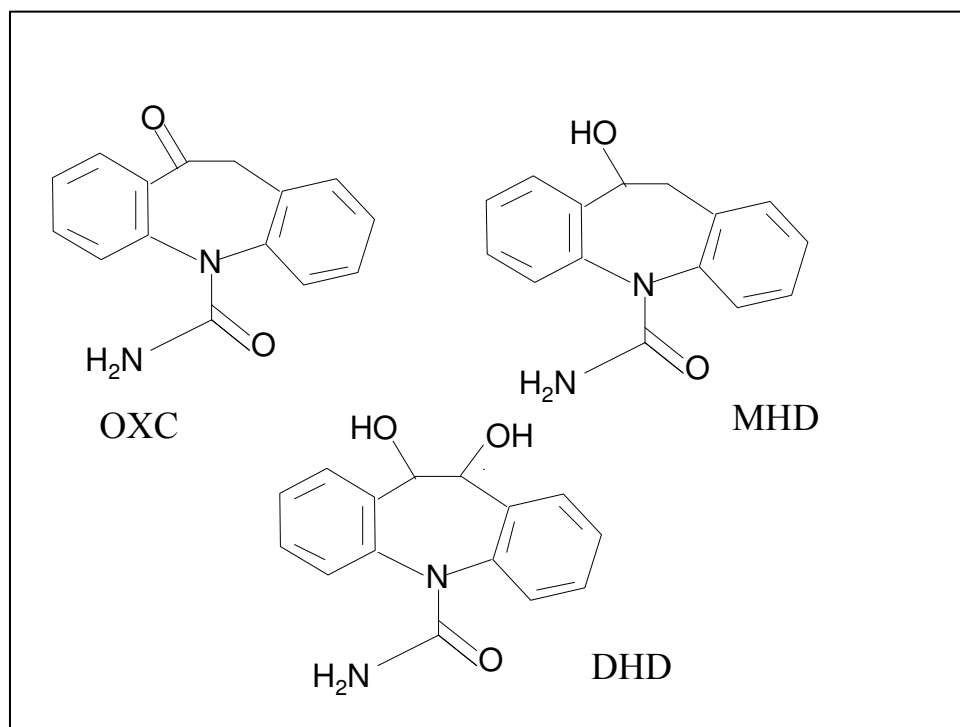


Figura 3.1. Fórmulas de Oxcarbazepina (OXC); 10,11-dihidro-10-monohidroxi-carbamacepina (MHD) y *trans*-10,11-dihidro-10,11-dihidroxicarbamacepina (DHD)

3.1.2 Determinación analítica de OXC y su metabolito activo por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en saliva

Materiales

Reactivos y material de laboratorio

- Acetato de etilo ppa
- Metanol ppHPLC
- Acetonitrilo ppHPLC
- Agua destilada
- Solución metanólica de Ácido 5-fenil-5-etil-3-metil-barbitúrico (Prominal) de concentración 0.040 mg/mL
- Soluciones estándares en metanol de Oxcarbacepina (OXC) de concentraciones: 0.0234; 0.0468; 0.0935; 0.1870 mg/mL
- Soluciones estándares en metanol de Monohidroxiderivado de Oxcarbacepina (MHD) de concentraciones: 0.0545; 0.1090; 0.2180; 0.4360 mg/mL
- Material de vidrio aforado
- Pipetas graduadas
- Tubos de ensayo y de centrífuga
- Probetas
- Pipetas pasteur
- Jeringa analítica de 50 μ L (SGE)
- Jeringa analítica de 100 μ L (SGE)

Equipos

- Vortex (Thermolyne)
- Centrifuga clínica (IEC)
- Baño termoestabilizable
- HPLC Shimadzu, bomba LC-6A, detector SPD-6A; controlador del sistema SCL-6A, registrador-integrador C-R6A Chromatopac

Técnica de análisis de OXC y MHD

1. A 2.0 mL de saliva problema agregar 50 μL de solución de estándar interno (Prominal).
2. Agregar 5 mL de acetato de etilo.
3. Agitar en vortex durante 1 minuto.
4. Centrifugar durante 5 minutos.
5. Tomar con pipeta pasteur la fase orgánica.
6. Evaporar a sequedad bajo corriente de aire en baño de agua a 37 °C.
7. Retomar el residuo con 50 μL de metanol.
8. Inyectar 20 μL en HPLC.

Condiciones Cromatográficas

- a. Fase estacionaria: Columna Spherex RP-C18 (5 μm , 15 cm x 4.6 mm d.i.).
Marca Phenomenex.
- b. Fase móvil: H_2O : MeOH : CH_3CN (60 : 36 : 4)
- c. Flujo: 2.0 mL/min.
- d. Presión: 219 kg/cm².
- e. Detección: 240 nm.
- f. Temperatura: 36°C

Tiempo de retención

MHD = 4.2 min.

OXC = 6.2 min.

Estándar interno = 7.3 min.

Validación de la técnica de análisis de OXC y MHD en saliva

El estudio de validación consistió en las siguientes etapas:

- a) Realización de una **curva de calibración** para relacionar la respuesta del método analítico con la concentración del analito (en este caso OXC y MHD).
- b) **Linealidad**, que es la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo determinado.
- c) **Precisión (repetibilidad, reproducibilidad y robustez)**. Es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos efectuados sobre una muestra homogénea, o sea la distribución de los valores analíticos alrededor de su media. Lo expresamos como coeficiente de variación (CV)

$$CV = (\text{desviación estándar} / \text{media}) \times 100$$

- **Repetibilidad** es la medida de la precisión de un método analítico efectuado en las mismas condiciones.

- **Reproducibilidad** es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra pero en condiciones diferentes (días diferentes).

- **Robustez** es la evaluación de los efectos de pequeños cambios en las condiciones operacionales del análisis sobre la fiabilidad del método analítico.

- d) **Exactitud**, es la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximo posible al valor verdadero.
- e) **Especificidad**, es la facultad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito, sin interferencias de impurezas, productos de degradación o compuestos relacionados.

Verificándose, para la técnica en saliva que cumple, linealidad, precisión, exactitud y especificidad.

Datos de la validación:

Curva de calibración MHD:

2.48; 4.95; 9.91; 19.82 µg/mL

Curva de calibración OXC:

0.53; 1.06; 2.125; 4.25 µg/mL

Linealidad MHD

2.5 – 19.8 µg/mL ($p < 0.001$)

$[MHD] = 0.633 (IC95\% \pm 0.032) Rh + 0.364 (IC95\% \pm 0.571)$

siendo Rh = altura de pico MHD / altura de pico de estándar interno

Linealidad OXC

0.5 – 4.3 µg/mL ($p < 0.001$)

$[OXC] = 0.318 (IC95\% \pm 0.020) Rh + 0.119 (IC95\% \pm 0.154)$

siendo Rh = altura de pico OXC / altura de pico de estándar interno

Precisión:

CV: MHD – OXC MHD (< 3%) OXC (< 4%)

Robustez:

Pequeñas variaciones en el volumen de acetato de etilo no afectan la precisión del método.

Exactitud:

MHD < 7% OXC < 7% en sus apartamientos del verdadero valor.

Especificidad:

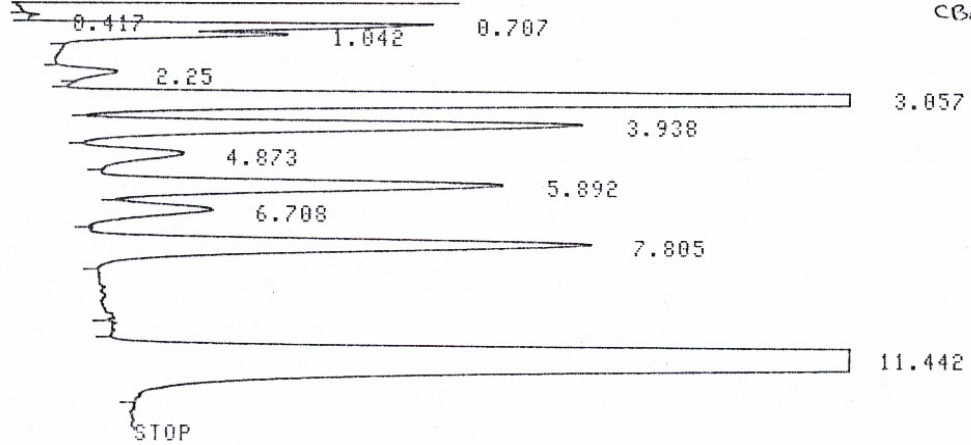
Para efectuar el estudio se carga un patrón de trabajo con los posibles fármacos que puedan estar tomando los pacientes como ser DFH y FB y en algunos casos CBZ, que no sería lo más habitual. Se muestra cromatograma en el que se puede observar que el método de análisis tiene la capacidad de detectar la OXC (5.892 min.) y el MHD (3.938 min.) sin interferencias de DFH (7.805 min.), FB (3.057 min.), EPOX (4.873 min.) y CBZ (11.442 min.).

		187hi		
5	2.748	3879084	V	81.9266
		153777hi		
6	7.688	811309		17.1349
		25685hi		

START TOTAL 4734828

100
ZERO

FB - MHD -
EPOX - OXC -
SJ - DFH -
CB2

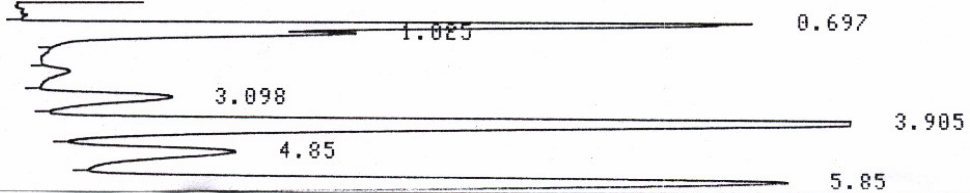


CHROMATOPAC C-R6A
SAMPLE NO 0
REPORT NO 4080

FILE 0
METHOD 2121

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.707	13515			2.8928	
		957hi				
2	1.042	7054	V		1.5099	
		573hi				
3	2.25	2016			0.4315	
		126hi				
4	3.057	101220			21.6661	
		4649hi				
5	3.938	28084	V		6.0113	
		1222hi				
6	4.873	7038	V		1.5064	
		257hi				
7	5.892	25763	V		5.5146	
		1007hi				
8	6.708	7811	V		1.672	
		303hi				
9	7.805	32773			7.015	
		1196hi				
10	11.442	241909			51.7804	
		7411hi				

START TOTAL 467182
ZERO



3.1.3. Observaciones

En primera instancia, lo más lógico hubiera sido desarrollar y validar, la técnica de análisis de OXC y de MHD en plasma (*Matar K.M. et.al., 1995; Rouan M.C. et.al., 1994*). Pero dado la realidad de estos pacientes con epilepsia de difícil control, la monitorización de MHD y OXC en plasma sanguíneo, se vería dificultada por la imposibilidad de obtención de alguna muestra sanguínea. Por lo que se hizo imperativo en tratar de monitorizar el MHD en saliva, que es un fluido de más fácil acceso y en el que estamos midiendo la concentración libre de fármaco que es realmente la farmacológicamente activa.

Para el desarrollo analítico se tomó como referencia el trabajo de *Cardot JM et al., 1995*.

3.2 CARBAMACEPINA

3.2.1. Generalidades

La Carbamacepina (CBZ) es un iminoestilbeno relacionado químicamente con los antidepresivos tricíclicos del tipo de la imipramina.

La CBZ se utiliza como antiepiléptico, también en la neuralgia del trigémino y como antimaníaco. Es eficaz frente a las crisis tónico-clónicas generalizadas y crisis parciales complejas, pero no frente a ausencias típicas, mioclonias y convulsiones febriles.

Tanto la CBZ como su metabolito activo, la 10,11-carbamacepina epóxido (EPOX) inhiben la entrada de sodio bloqueando selectivamente las descargas de alta frecuencia. Es más eficaz frente a las convulsiones que se inician en el sistema límbico que en la corteza. Afecta más las neuronas normales que propagan la descarga que las del foco epiléptico y, a su vez, inhibe las descargas paroxísticas más que la transmisión fisiológica, por lo que no interfiere con las funciones cognitivas ni tiene acción sedante. A dosis altas es posible que su acción presináptica reduzca la entrada de calcio e inhiba la liberación de neurotransmisores.

Su absorción oral es lenta e incompleta, especialmente a dosis altas, por lo que debe aumentarse el número de tomas o utilizar preparados de liberación sostenida para reducir la fluctuación de los niveles séricos. Se une aproximadamente el 75% a la albúmina; su concentración cerebral es similar a la plasmática, más baja en el cordón umbilical y en la leche (60%) y aún más en líquido céfalo-raquídeo (LCR) y saliva (20 – 30%). Se elimina casi exclusivamente por metabolización microsómica hepática (>95%) y provoca autoinducción enzimática que reduce su semivida de eliminación de 30 horas tras dosis única a 15 horas a las dos semanas de tratamiento (*Armijo J.A, 1999*).

La principal ruta metabólica de la CBZ es la formación de EPOX, activo, por el citocromo P-450 isoenzima CYP3A4. Este metabolito activo es luego desactivado por acción de la epóxido hidrolasa para dar 10,11-CBZ-diol inactivo, que es excretado como glucurónido (ver Figura 3.2). El EPOX tiene efectos terapéuticos (*Eichelbaum M., et al., 1985; Spina E., et al., 1991*) y tóxicos y teratogénicos (*Lindhout D. et al., 1984*) similares a los de la CBZ; la concentración sérica de este metabolito es el 30% de la de

la CBZ, pero puede llegar al 80% cuando se asocia a otros antiepilépticos inductores, como la DFH (Armijo J.A, 1999)

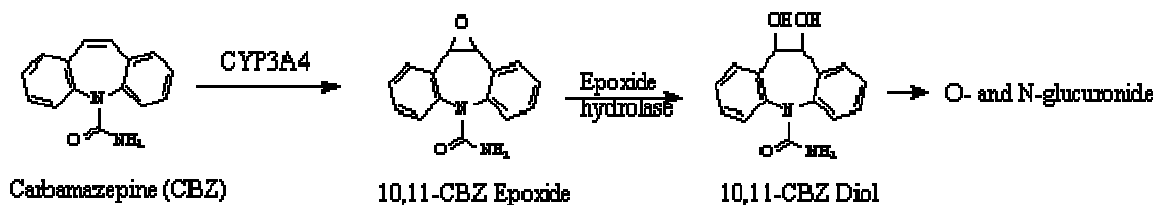


Figura 3.2 Ruta metabólica de la Carbamazepina (CBZ)

3.2.2 Determinación analítica de CBZ y EPOX por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en saliva

Saliva

- A 2.0 mL de saliva problema agregar 50 μL de solución de estándar interno (Prominal).
- Agregar 5 mL de acetato de etilo.
- Agitar en vortex durante 1 minuto.
- Tomar con pipeta pasteur la fase orgánica.
- Evaporar a sequedad bajo corriente de aire en baño de agua a 37 $^{\circ}\text{C}$.
- Retomar el residuo con 50 μL de metanol.
- Inyectar 20 μL en HPLC.

Condiciones cromatográficas

- Fase estacionaria: Columna Spherex RP-C18 (5 micras, 15 cm x 4.6 mm d.i.). Marca Phenomenex.
- Fase móvil: H_2O : MeOH: CH_3CN (58: 38:4).
- Flujo: 2.0 mL/min.
- Presión: 219 kg/cm^2 .
- Detección: 240 nm.
- Temperatura: 37 $^{\circ}\text{C}$

Tiempos de retención

EPOX = 4.0 minutos

Estándar interno = 6.5 minutos

CBZ = 9.0 minutos

3.2.3. Determinación analítica de CBZ y EPOX por HPLC en plasma

Plasma

- A 1.0 mL de plasma problema agregar 50 µL de solución de estándar interno (Prominal)
- Agregar 3 mL de acetato de etilo.
- Agitar en vortex durante 1 minuto.
- Centrifugar durante 5 minutos.
- Tomar con pipeta pasteur la fase orgánica.
- Evaporar a sequedad bajo corriente de aire en baño de agua a 37 °C.
- Retomar el residuo con 100 µL de metanol.
- Inyectar 20 µL en HPLC.

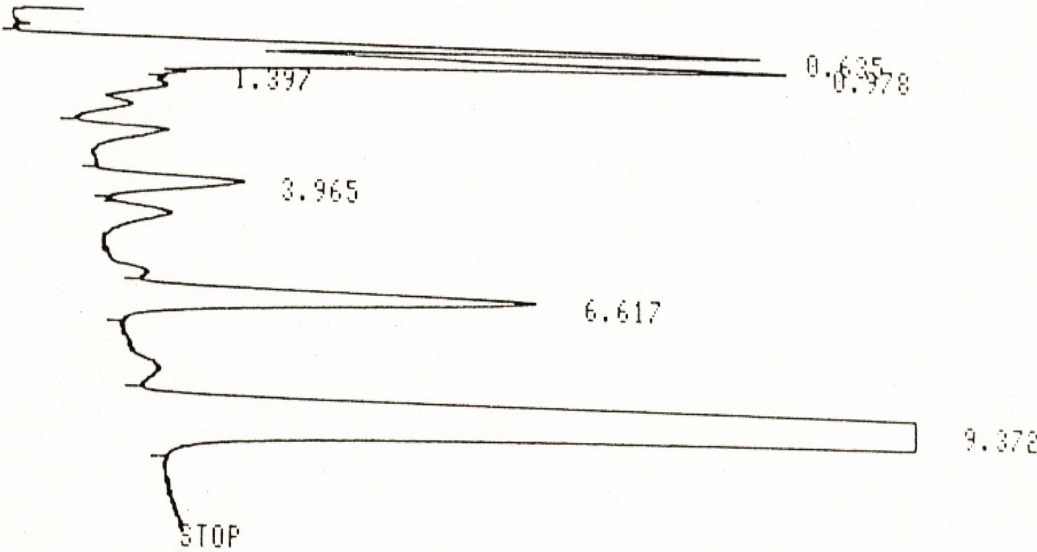
Condiciones cromatográficas

Son las mismas que para saliva.

Estas técnicas analíticas para determinar la concentración de CBZ y del EPOX, tanto en saliva como en plasma, fueron previamente desarrolladas y validadas. (*Olano, I., et al., 1998; Olano I., 1998*)

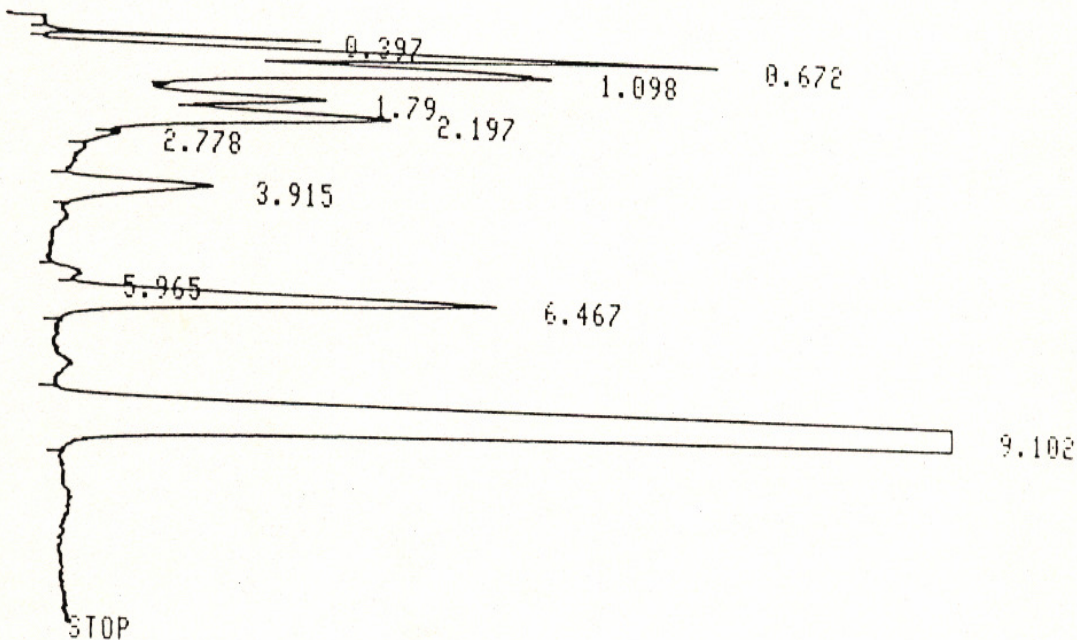
En la página siguiente se pueden apreciar los cromatogramas tipo para las técnicas en plasma y en saliva.

PLASMA



START
ZERO

SALIVA



CAPÍTULO 4

TRATAMIENTO CLÍNICO-EXPERIMENTAL DE PACIENTES EPILEPTICOS

4.1 INTRODUCCIÓN

En este capítulo se presenta dos estudios utilizando saliva como fluido de monitorización:

A) CONCENTRACIONES SALIVALES DE DROGAS ANTIEPILEPTICAS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS EN MONOTERAPIA Y SU RELACIÓN CON LA CLÍNICA

Este trabajo fue realizado en la Unidad de Monitoreo de Medicamentos (UMM) del Hospital de Clínicas, con pacientes niños ambulatorios o internados del Centro Hospitalario Pereira Rossell (CHPR).

B) ESTUDIO DE LA RELACIÓN CONCENTRACIÓN-EFECTO DE DROGAS ANTIEPILEPTICAS POR MEDIO DE LA UTILIZACIÓN DE CURVAS DE CONCENTRACIÓN SALIVAL VS TIEMPO

Este trabajo es el resultado del proyecto de investigación y desarrollo de CSIC (Comisión Sectorial de Investigación Científica), titulado "*Monitoreo en saliva de las drogas antiepilépticas en pacientes con epilepsias de difícil control. Aplicación de la Historia Computarizada de Epilepsia*", dirigido por el Prof. Dr. Raúl Ruggia, ex -catedrático de la Cátedra de Neuropediatría, Facultad de Medicina, y co-dirigido por el Prof. Dr. Pietro Fagiolino y la Prof. Agregada Dra. Marta Vázquez de la Cátedra de Farmacología y Biofarmacia de la Facultad de Química.

La parte experimental, consistió en obtener curvas de concentración salival de drogas antiepilépticas, en un periodo del día en el cual el paciente en cuestión presentara variaciones en su estado clínico tales como, crisis o la presencia de efectos secundarios del o de los fármacos con los cuales estuviera medicado. Luego se interpretaban los resultados obtenidos, de tal forma de realizar ajustes posológicos que produjeran control de las crisis o desaparición de efectos tóxicos, si esta fuera la situación.

Los sujetos incluidos en este segundo estudio, debían tener diagnóstico de epilepsia refractaria o de difícil control, estar en estado estacionario con la posología propuesta por el médico tratante y ser pacientes de las Policlinicas de Neuropediatría del Hospital de Clínicas y del Centro Hospitalario Pereira Rossell.

Los pacientes que padecen de Epilepsia Refractaria (8 a 10% de la población de epilépticos), son sujetos que no han respondido al tratamiento farmacológico y se pueden beneficiar con la cirugía. Para llegar a este punto es necesario tener una prueba

categoría en cuanto al uso adecuado, en tiempo y dosis adecuadas, de los fármacos anticonvulsivantes.

El principal objetivo de ambos estudios fue correlacionar las concentraciones salivales de los fármacos anticonvulsivantes, Fenitoína (DFH), Fenobarbital (FB), Carbamacepina (CBZ) y su metabolito (EPOX), Ácido Valproico (DPA), y Oxcarbacepina (OXC) con el estado clínico de cada paciente.

4.2 METODOLOGÍA

En los dos estudios se:

- 1) Determinaron las concentraciones salivales por FPIA (inmunofluorescencia de luz polarizada, TDx Abbott Laboratories) o por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) de acuerdo a técnica descrita en capítulo 3.
- 2) Evaluó el estado clínico de cada paciente.

En el caso del estudio A) el paciente se atiende en la Policlínica de Neuropediatría del CHPR y se elabora una ficha por parte del médico con los datos personales del paciente. El paciente concurre a la UMM en horas de la mañana previo a la toma de la medicación y se le extrae la muestra salival, se chequeaba la ficha y se le preguntaba sobre su estado clínico.

En el caso del estudio B) la metodología era la siguiente:

- Citar al paciente a la UMM y realizar el esquema de extracción de las muestras, según la distribución horaria de la dosis en el día del o de los fármacos en cuestión y si el paciente presentaba crisis o algún efecto secundario.
- Luego el paciente, se llevaba el material necesario para realizar la colecta de las muestras en domicilio. El día del muestreo, el paciente o familiar debía anotar en que momento ocurriera algún evento en la clínica del paciente. Las muestras salivales se conservan en el freezer a -20°C hasta el momento del análisis.

Estimulación de saliva

La estimulación salival, se puede lograr por: a) masticación con papel de Parafilm lo cual podría llegar a ser un riesgo en niños ya que podrían tragarlo o b) con unos cristales de ácido cítrico depositados sobre la lengua lo cual también podría traer aparejado problemas con el pH salival alcanzado que puede descomponer al EPOX.

Las muestras salivales fueron, en forma general, obtenidas por estimulación con ácido cítrico. En el caso que el paciente estuviera medicado con CBZ y se pudiera determinar su metabolito activo, la muestra salival se obtiene por estimulación con ácido cítrico y se recoge en un recipiente con NaHCO_3 , para que el pH salival esté cerca de 7, ya que el

epóxido de CBZ, se descompone a pH ácido (que es el que tiene la saliva al estimularse con el ácido cítrico) (Olano I., 1998).

Lo que puede observarse en los cromatogramas que aparecen a continuación:

- a) Saliva estimulada con Parafilm;
- b) Saliva estimulada con ácido cítrico;
- c) Saliva estimulada con ácido cítrico tamponada con NaHCO_3

Se determinó el pH en los tres casos:

- a) pH = 7;
- b) pH = 4;
- c) pH = 8

Las muestras salivales obtenidas en a), b) y c) se cargaron con 50 μL de soluciones de concentración conocida de CBZ, EPOX y del estándar interno y se procesaron según técnica, (Olano I. et al., 1998; Olano I., 1998), ver en el capítulo 3, sección 3.2.2.

En los casos a) y c) se aprecia el pico correspondiente al EPOX, a 4.6 minutos, mientras que en b) dicho pico no se encuentra, que coincide con lo expresado anteriormente.

El cálculo de la relación de alturas para los cromatogramas a) y c) es el siguiente:

- Saliva estimulada con Parafilm

$$R_h(\text{EPOX}) = h_{\text{EPOX}}/h_{\text{estándar interno}} = 886/525 = 1.69$$

$$R_h(\text{CBZ}) = h_{\text{CBZ}}/h_{\text{estándar interno}} = 1682/525 = 3.20$$

- Saliva estimulada con ácido cítrico tamponada con NaHCO_3

$$R_h(\text{EPOX}) = h_{\text{EPOX}}/h_{\text{estándar interno}} = 1438/915 = 1.57$$

$$R_h(\text{CBZ}) = h_{\text{CBZ}}/h_{\text{estándar interno}} = 2799/915 = 3.06$$

Los errores relativos en la medida de la relación de alturas del EPOX y de la CBZ, en ambas muestras, no difiere de la precisión determinada en la validación de la técnica analítica, (Olano I. et al., 1998; Olano I., 1998)

Por lo antes expuesto, puede demostrarse que no hay diferencias entre la obtención de saliva estimulada por masticación de Parafilm y saliva estimulada con ácido cítrico tamponada con NaHCO_3 .

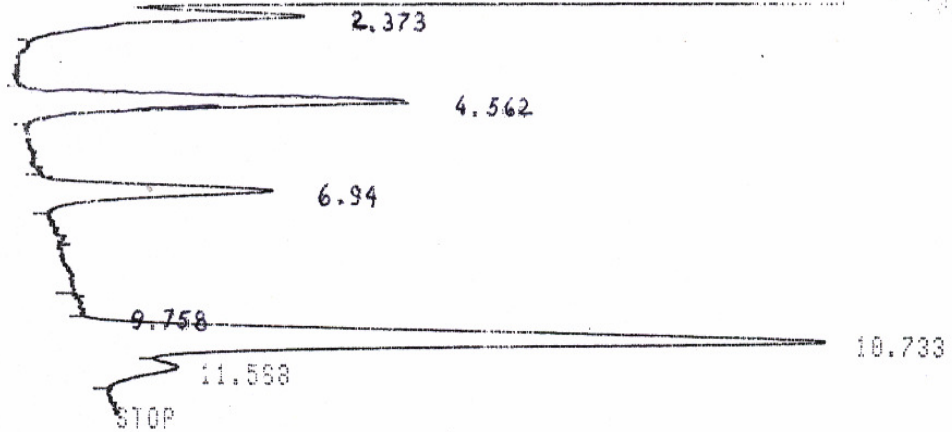
CHROMATOPAC C-86A
 SAMPLE NO 0
 REPORT NO 2360

FILE 9
 METHOD 2121

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.058	211 43hi			0.1124	
2	0.19	423 63hi	V		0.2248	
3	0.298	827 101hi	V		0.4398	
4	0.45	903 281hi	V		0.4801	
5	0.762	185752 14284hi			98.7429	
TOTAL		186116			100	

*saliva
 estirado
 c/Parafilm*

START



CHROMATOPAC C-86A
 SAMPLE NO 0
 REPORT NO 2361

FILE 0
 METHOD 2121

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.05	372 41hi			0.1273	
2	0.348	2402 340hi	V		0.8229	
3	0.45	8553 2385hi	V		2.9308	
4	0.71	77444 6121hi	V		26.5362	
5	1.037	13582 1595hi	V		4.6538	
6	1.213	12416 1813hi	V		4.2544	
7	1.345	31647 2051hi	V		10.8436	
8	1.737	48065 2860hi	V		16.4697	
9	2.373	14774 632hi	V		5.0624	

9	2.373	14774	V	5.0624
		658hi		
10	4.562	18739		6.421
		880hi		
11	6.94	11383		3.9005
		525hi		
12	9.758	305		0.1044
		20hi		
13	10.733	47612	V	16.3144
		1682hi		
14	11.583	4548	V	1.5383
		175hi		

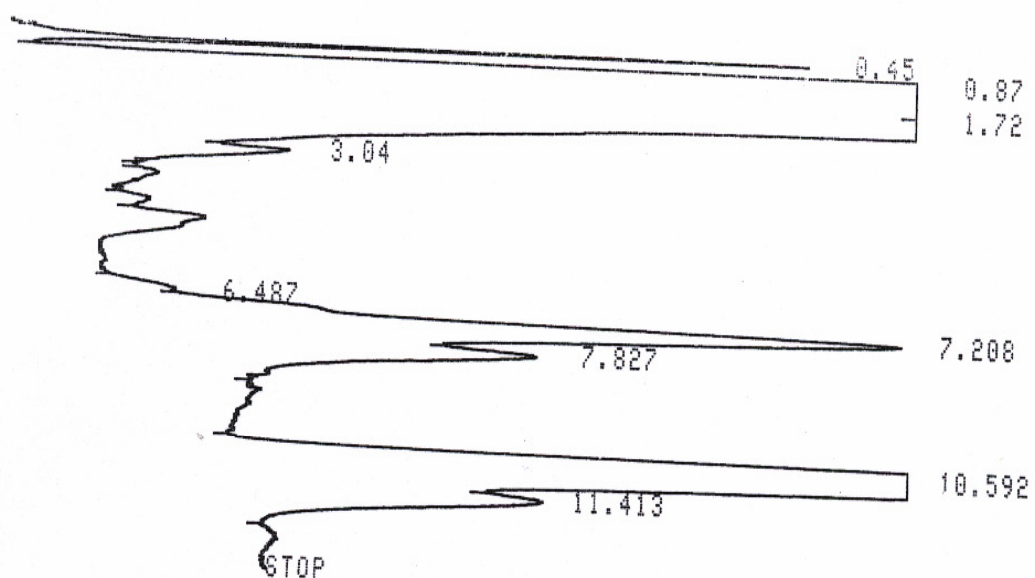
TOTAL 291842

100

Saliva
estimulada
c/ Ac. citr.

START

ZERO



CHROMATOPAC C-R6A
SAMPLE NO 0
REPORT NO 2362

FILE 0
METHOD 2121

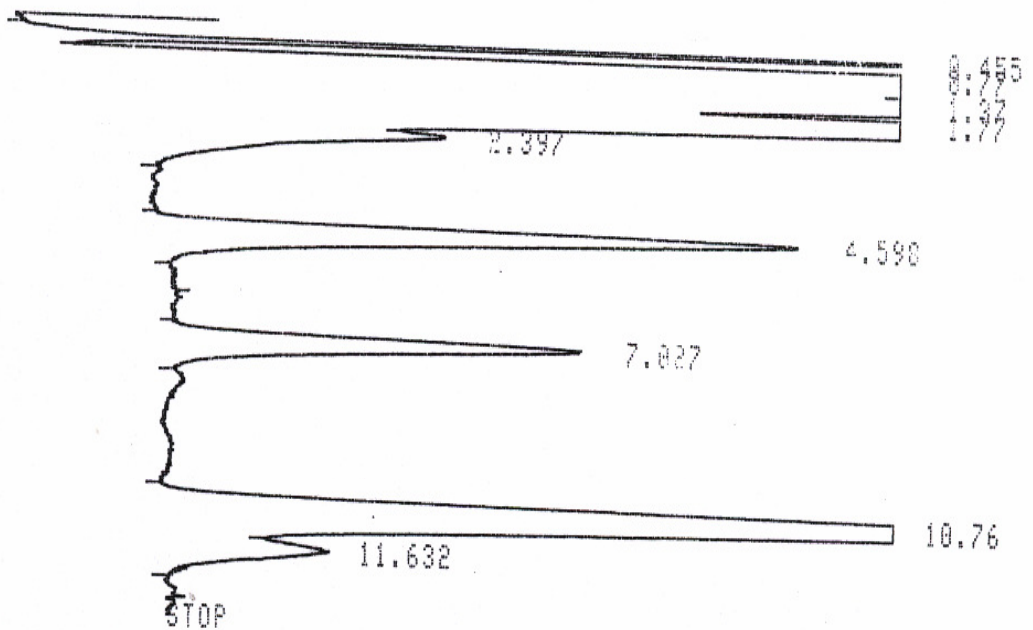
PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.45	6331			0.1926	
		1652hi				
2	0.87	2923621	S		88.9301	
		122106hi				
3	1.72	102912	T		3.1303	
		6953hi				
4	3.04	2772	T		0.0840	
		195hi				
5	6.487	1543			0.0469	
		110hi				
6	7.208	50095	V		1.5238	
		1647hi				
7	7.827	23770	V		0.6318	
		749hi				
8	10.592	161356			4.9881	
		5374hi				
9	11.413	18150	V			

5	6.487	1543		0.0469
		110hi		
6	7.208	59095	V	1.5238
		1647hi		
7	7.827	23778	V	0.6318
		749hi		
8	10.592	161356		4.9001
		5374hi		
9	11.413	18150	V	0.5521
		659hi		

TOTAL 3287548 100

START

*saliva
stimulate
c/Ab. estivo
+ NaHCO₃*



CHROMATOPAC C-R6A
SAMPLE NO 0
REPORT NO 2363

FILE 0
METHOD 2121

PK	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.455	20387			3.6772	
		5754hi				
2	0.77	184645	V		33.3046	
		12235hi				
3	1.37	79325	V		14.308	
		3748hi				
4	1.77	119351	V		19.904	
		5792hi				
5	2.397	17822	V		3.2146	
		729hi				
6	4.590	32411			5.846	
		1438hi				
7	7.027	29378			3.6757	
		915hi				

3	1.37	79325 V	14.308
		3748hi	
4	1.77	110351 V	19.904
		5792hi	
5	2.297	17822 V	3.2146
		729hi	
6	4.590	32411	5.846
		1438hi	
7	7.027	20378	3.6757
		915hi	
8	10.76	79240	14.2926
		2799hi	
9	11.632	9853 V	1.7773
		359hi	
		-----	-----
TOTAL		554414	100

2057

TOPAC 2-194
 FILE 8
 REPORT NO 2284
 METHOD 2117

TIME	TIME	TIME	TIME
1	0.475	06753	4.7833
2	0.343	085075 V	78.251
		1744hi	
3	1.232	18734 V	8.7634
		2576hi	
4	2.502	19347 V	2.4275
		722hi	
5	2.158	2415 V	6.4287
		159hi	

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A)

En este punto se estudia cada fármaco en monoterapia conjuntamente con el estado clínico, se calcularon las concentraciones media y desviación estándar, cuando el número de individuos era inferior a 6, se hallaron promedios.

Para la DFH, 12 pacientes estaban con crisis, 19 controlados y 4 con efectos secundarios, las concentraciones salivales media y desviación estándar se pueden apreciar en la siguiente tabla

<i>Estado clínico</i>	<i>[DFH]_{media} (mg/L)</i>
Con crisis	0.7 (± 0.6)
Sin crisis	1.2 (± 0.5)
Efectos secundarios	3.1 (promedio)

Las concentraciones individuales se pueden ver en la Tabla 4.1

Tabla 4.1. Concentraciones salivales de DFH agrupadas según el estado clínico

<i>Con crisis (mg/L)</i>	<i>Sin crisis (mg/L)</i>	<i>Efectos secundarios (mg/L)</i>
0.3	1.2	1.6
0.5	0.9	4.7
1.0	0.8	4.3
0.5	1.1	1.7
0.4	1.0	
0.3	0.7	
0.4	1.4	
0.3	1.0	
2.4	0.8	
1.0	0.9	
1.3	2.5	
0.5	1.1	
	1.0	
	0.8	
	2.5	
	0.7	
	1.0	
	1.2	
	1.4	

En el caso de FB, 6 pacientes presentaban crisis, 12 controlados y 8 estaban con efectos secundarios, con las siguientes concentraciones salivales media y desviación estándar:

<i>Estado clínico</i>	<i>[FB]_{media} (mg/L)</i>
Con crisis	4.7 (± 3.0)
Sin crisis	7.2 (± 2.5)
Efectos secundarios	13.1 (± 2.9)

En la Tabla 4.2, se pueden observar los niveles de FB individuales

Tabla 4.2 Concentraciones salivales de FB agrupadas según el estado clínico

<i>Con crisis (mg/L)</i>	<i>Sin crisis (mg/L)</i>	<i>Efectos secundarios (mg/L)</i>
1.3	11.8	13.0
9.2	7.7	13.6
5.8	5.9	14.5
5.3	3.6	11.9
5.2	7.8	15.9
1.5	7.1	7.6
	8.6	11.3
	5.7	17.0
	10.4	
	8.2	
	2.9	
	6.7	

Y para el DPA, 31 pacientes no estaban controlados, 23 sin crisis y 6 con efectos no deseados y los niveles salivales medios y desviación estándar son los siguientes:

<i>Estado clínico</i>	<i>[DPA]_{media} (mg/L)</i>
Con crisis	2.3 (± 1.5)
Sin crisis	2.7 (± 1.5)
Efectos secundarios	6.3 (± 3.9)

Tabla 4.3 Concentraciones salivales de DPA agrupadas según el estado clínico

<i>Con crisis (mg/L)</i>	<i>Sin crisis (mg/L)</i>	<i>Efectos secundarios (mg/L)</i>
4.1	6.5	7.8
1.7	1.7	6.7
4.0	2.7	6.5
1.4	2.1	1.6
0.2	2.3	2.6
2.2	1.4	12.4
2.0	1.4	
0.5	2.7	
0.5	3.5	
2.2	1.4	
0.6	3.0	
3.8	2.6	
1.1	4.3	
2.4	6.6	
2.4	1.4	
3.5	2.2	
0.6	1.5	
5.6	2.0	
2.6	3.7	
0.5	1.7	
3.5	1.5	
2.5	2.3	
3.4	4.4	
4.8		
2.4		
4.2		
1.2		
0.5		
4.3		
1.7		
2.2		

Para la CBZ 60 fueron los niños de epilépticos en monoterapia.

Del total de los pacientes, 46 estaban sin crisis y sin efectos adversos (no deseados), con una concentración media salival de CBZ y EPOX de 1.26 mg/L (\pm 0.47) y 0.40 mg/L (\pm 0.16) respectivamente.

La media del cociente metabólico (EPOX/CBZ) en saliva para estos pacientes era de 34 % (\pm 13) (los resultados se muestran en la Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Concentraciones salivales de CBZ y EPOX y el cociente metabólico en niños sin crisis y sin efectos secundarios.

<i>Edad (años)</i>	<i>CBZ (mg/L)</i>	<i>EPOX (mg/L)</i>	<i>EPOX/CBZ (%)</i>
9	1.15	0.36	31.3
11	1.26	0.25	19.8
12.9	0.97	0.31	32.0
3.9	0.72	0.30	41.7
9	0.72	0.17	23.6
12	0.69	0.12	17.4
7	0.77	0.38	49.4
7	0.42	0.18	39.0
10	1.30	0.32	25.0
8	1.27	0.31	24.0
8	2.22	0.60	21.9
7	1.60	0.49	30.6
13	1.15	0.38	33.0
9	1.52	0.52	34.2
13	1.26	0.37	29.4
11	1.51	0.40	26.3
9	1.05	0.30	28.2
13	1.20	0.22	18.3
9	1.34	0.37	27.6
7	1.32	0.47	35.6
13	1.23	0.33	26.8
11	1.58	0.38	24.0
4	1.89	0.57	30.2
13	1.61	0.48	29.5
6	0.59	0.19	32.2
6	1.39	0.61	43.9
6	1.24	0.36	29.0
6	0.75	0.29	38.7
12	1.02	0.26	25.7
6	2.48	0.41	16.5
12	1.76	0.80	45.5
6	1.17	0.38	32.5
6	0.83	0.44	53.0
12	1.26	0.80	63.5
13	1.65	0.40	23.9
9	1.62	0.43	26.5
12	0.60	0.21	35.0
6	1.22	0.60	49.2
10	1.31	0.60	45.8
10	1.65	0.52	31.5
6	2.06	0.45	21.8
12	0.13	0.12	92.3
10	1.24	0.39	31.4
6	1.05	0.34	32.4
12	1.26	0.53	42.1
6	1.97	0.78	39.6

Tabla 4.5. Concentraciones salivales de CBZ y EPOX y el cociente metabólico en niños sin crisis pero con efectos secundarios.

<i>Edad (años)</i>	<i>CBZ (mg/L)</i>	<i>EPOX (mg/L)</i>	<i>EPOX/CBZ (%)</i>
13	1.85	0.60	32.4
5	1.53	0.86	56.2
8	1.05	0.19	17.9
9	1.60	0.59	36.9
9	1.70	0.78	45.6
9	1.90	0.66	34.1
9	1.90	0.55	29.6
12	1.72	0.50	29.1
9	1.60	0.54	33.8
10	1.42	0.49	34.1
10	1.58	0.51	32.3
6	2.29	1.10	48.0
10	1.24	0.39	31.4
10	1.12	0.25	22.3

La Tabla 4.5 reúne a 14 pacientes sin crisis que presentaron efectos secundarios (visión borrosa, diplopía, somnolencia). La concentración media de CBZ y EPOX para estos pacientes era 1.60 mg/L (\pm 0.33) y 0.57 mg/L (\pm 0.22) respectivamente.

Comparando ambos grupos de pacientes, se pudo observar un incremento significativo ($p < 0.02$) en la media de la concentración salival de CBZ en el grupo con efectos no deseados. A su vez, se encontró un aumento significativo ($p < 0.01$) en la media de la concentración de EPOX. La CBZ tiene un nivel medio salival 27% más alto, mientras que el EPOX es 42% mayor en los niños con efectos secundarios. Los efectos adversos pueden ser atribuidos a concentraciones más elevadas de CBZ y EPOX, pero en mayor medida a este último.

B)

Nueve son los pacientes incluidos.

Paciente M.M.C.

Paciente de 18 años de edad con epilepsia hípica en la noche. Está recibiendo 1100 mg de CBZ (200 mg-9:00; 200 mg 17:00 y 700 mg 22:00 hs). Con esta dosis el paciente no presenta crisis pero se queja de cefaleas intensas y fotofobia. Se realiza curva salival durante las 24 horas determinando también el metabolito activo de la CBZ (EPOX).

La concentración media salival de CBZ es de 1.8 (\pm 0.3) mg/L y para el EPOX es de 0.6 (\pm 0.1) mg/L (Figura 4.1).

Se le decide disminuir la dosis a 1000 mg de CBZ (100 mg-09:00; 200 mg 17:00 y 700 mg-22:30 hs) y se le realiza nueva curva salival. La concentración media para la CBZ es de 2.3 (\pm 0.5) mg/L y 0.8 (\pm 0.2) mg/L para el EPOX (Figura 4.2). La paciente continuó con efectos adversos. Estos efectos adversos se pueden deber tanto a la CBZ como al EPOX. En ambas oportunidades los niveles de EPOX eran mayores o iguales a 0.6

mg/L, concentración a partir de la cual se han observado efectos adversos como se explicó anteriormente en el estudio A). Lo destacable de este caso es que ambas concentraciones medias aumentaron con una disminución de dosis. Este paciente en este período aumentó su actividad física. Podemos estar concluyendo una redistribución de flujo sanguíneo, redistribución de sangre desde órganos eliminadores a órganos motrices. Esto disminuye el clearance de eliminación. En estado estacionario se cumple que:

$$C_{ss\ media} = R/Cl = R/k_{10}V_1$$

Donde: R es la posología (biodisponible).

K_{10} es la constante de velocidad de eliminación desde el compartimiento central.

V_1 el volumen del compartimiento central

$C_{ss\ media}$ es la concentración media en estado estacionario.

Al incrementar el ejercicio de esta paciente hay una menor proporción de sangre destinada al hígado (órgano eliminador de CBZ), por lo tanto k_{10} va a disminuir y con esto el clearance del paciente y por lo tanto la $C_{ss\ media}$ va a aumentar.

El factor de redistribución de flujo puede ser la causa lo que se contrapone con lo sabido hasta el momento que la CBZ es una droga de baja extracción hepática, sin embargo, este concepto se aplica a un modelo de perfusión de un órgano aislado. In vivo, esta no es la situación ya que todos los órganos están comunicados entre sí.

Figura 4.1. CARBAMACEPINA Y EPÓXIDO EN SALIVA.
Paciente M.M.C. 02/06/01

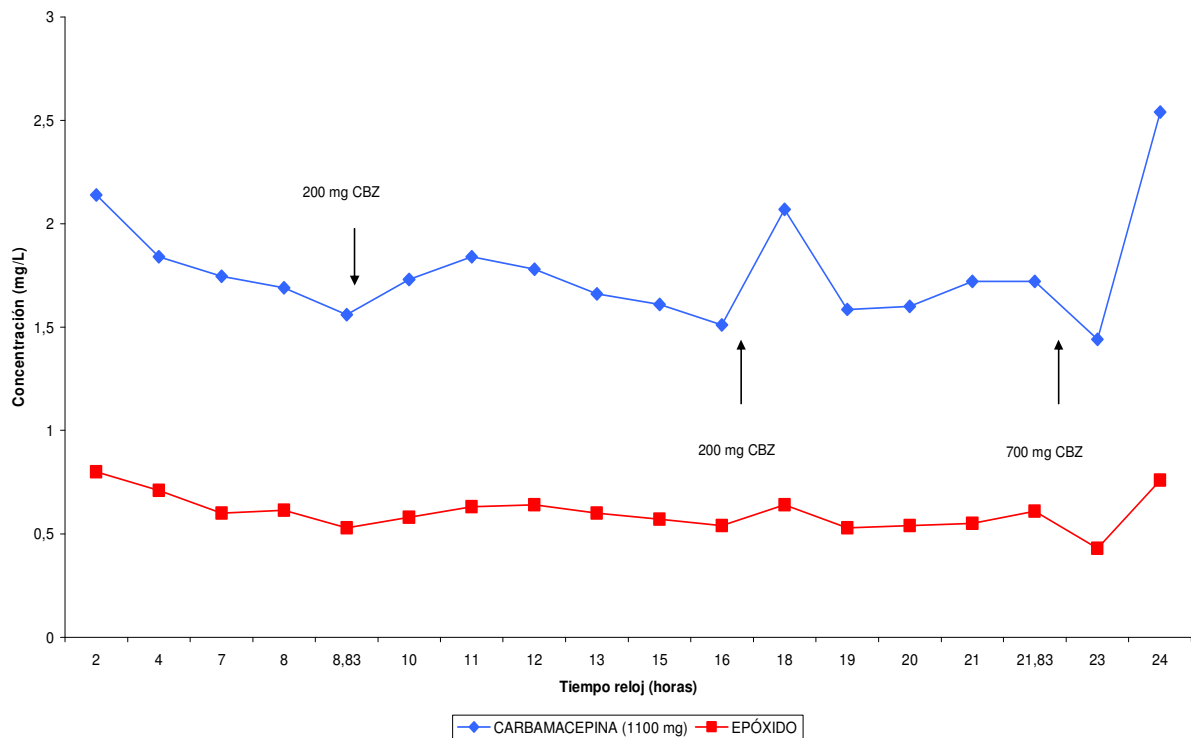
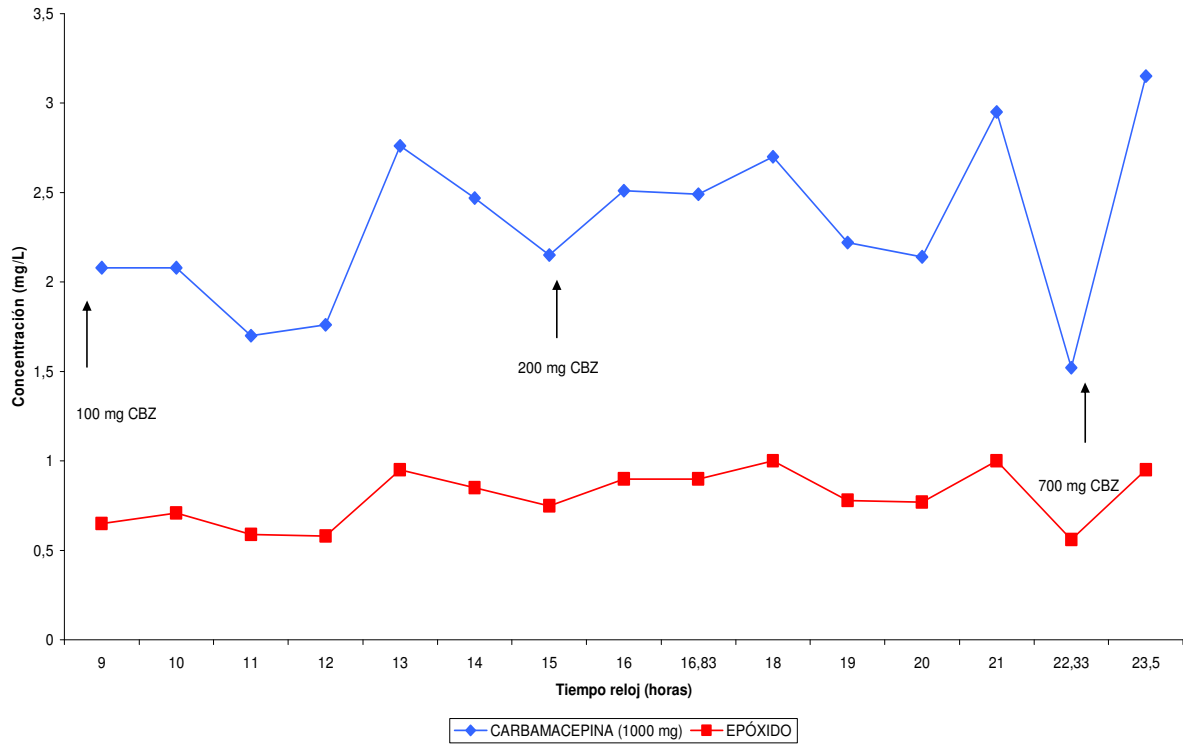


Figura 4.2. CARBAMACEPINA Y EPÓXIDO EN SALIVA.
Paciente M.M.C. junio/02



Paciente A.D.R.

Hombre de 37 años de edad, comenzó con crisis de ausencia típicas (con componente tónico), y además generalizadas tónicas con caídas y tónico-clónicas, crisis parciales complejas y mioclonias en la mañana que fueron parcialmente controladas con 2000 mg de DPA (400 mg-07:00; 400 mg-12:00; 400 mg-17:00; 800 mg-22:00 hs), 300 mg de DFH (100 mg-07:00; 100 mg-12:00; 100 mg-22:00 hs) y 500 mg de Lamotrigina. Los niveles medios salivales de DPA y DFH fueron de 0.7 (\pm 0.7) y 1.1 (\pm 0.2) mg/L respectivamente. El paciente tuvo crisis durante la mañana que correspondieron a bajos niveles de DPA (Figura 4.3). La dosis de DPA se incrementó a 2600 mg/día (800 mg-07:00; 600 mg-12:00; 800 mg-17:00 y 400 mg-22:00 hs) reforzándose el período de la mañana. Después del ajuste de dosis, las concentraciones media para DPA y DFH fueron 2.4 (\pm 1.4) y 1.4 (\pm 0.2) mg/L respectivamente. El incremento de las concentraciones de DPA fue más grande (243 %) que el aumento de dosis (30 %). Si bien ha sido postulado para el DPA un fenómeno de saturación de los sitios de unión de las proteínas plasmáticas, esta no debería ser la razón para el incremento en la concentración salival (si esta se correlaciona con la libre). La droga libre puede distribuirse fuera del compartimento plasmático hacia los tejidos, pero también grandes cantidades de droga libre estarán presentes en los tejidos de eliminación y esto sólo conduce a un aumento transitorio de droga libre.

El nivel medio de DFH se incrementó en forma significativa ($p < 0.001$). El DPA compete por los sitios ácidos de unión a albúmina y puede desplazar a la DFH de estos sitios de unión y producir un aumento en los niveles de la droga desplazada. Pero este aumento de la concentración de DFH libre debe ser transitorio ya que rápidamente el fármaco se distribuye a los tejidos y el aumento de los niveles libres determina un aumento en la fracción de eliminación. Este hecho se puede observar en la Figura 4.3 y 4.4, en las

cuales después de una dosis de DPA hay aumento transitorio en la concentración salival de DFH. Lo que se modifica es el perfil de la curva de DFH (droga desplazada) pero no se tendría que modificar el valor medio de sus niveles en estado estacionario.

Ya está estudiado en animales la modificación producida por el DPA del riego sanguíneo esplácnico y renal, o sea que el aumento de la concentración media de DFH podría explicarse por una redistribución de sangre desde órganos eliminadores al resto del organismo.

En cuanto al aumento desproporcional de las concentraciones de DPA en saliva podría deberse de algún modo a un aumento de los transportadores de eflujo en saliva, como se explicará en otros capítulos de la tesis.

Figura 4.3. Paciente A.D.R.

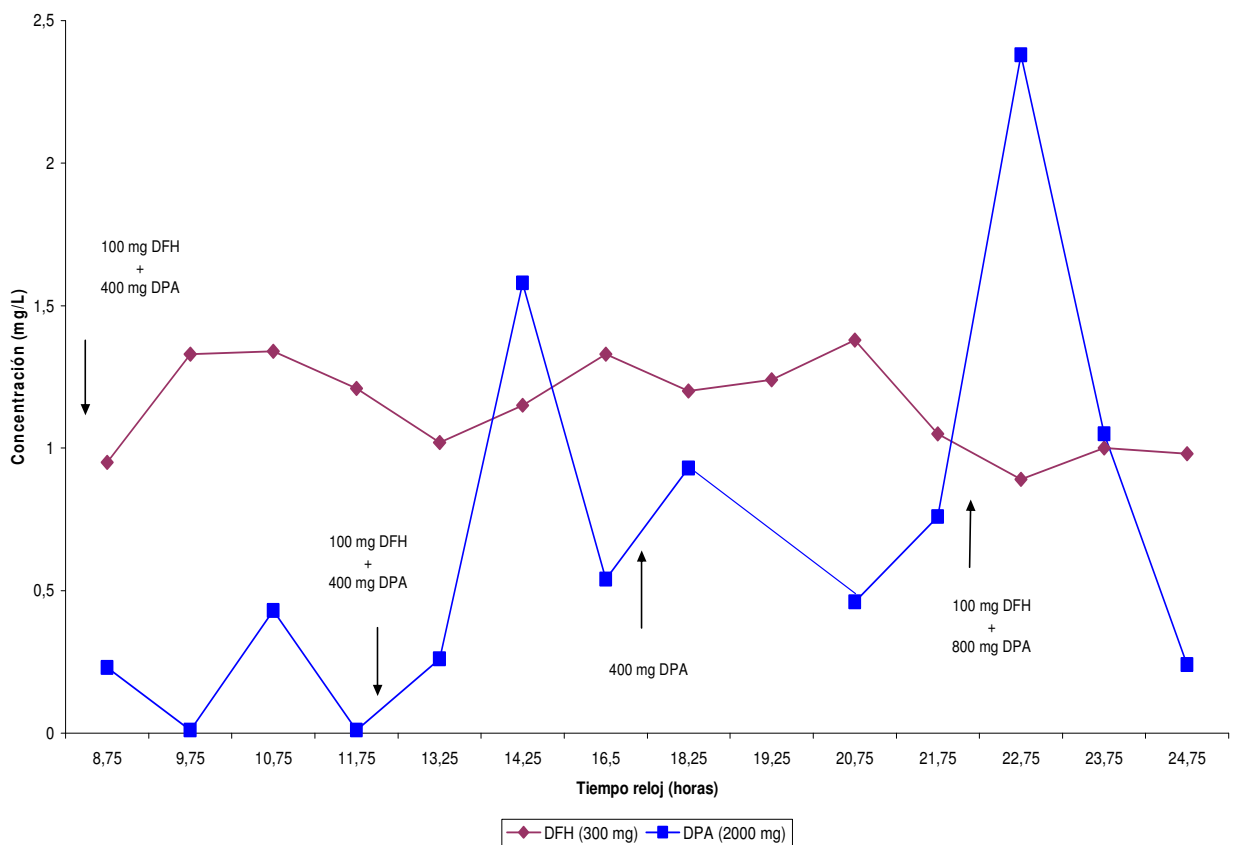
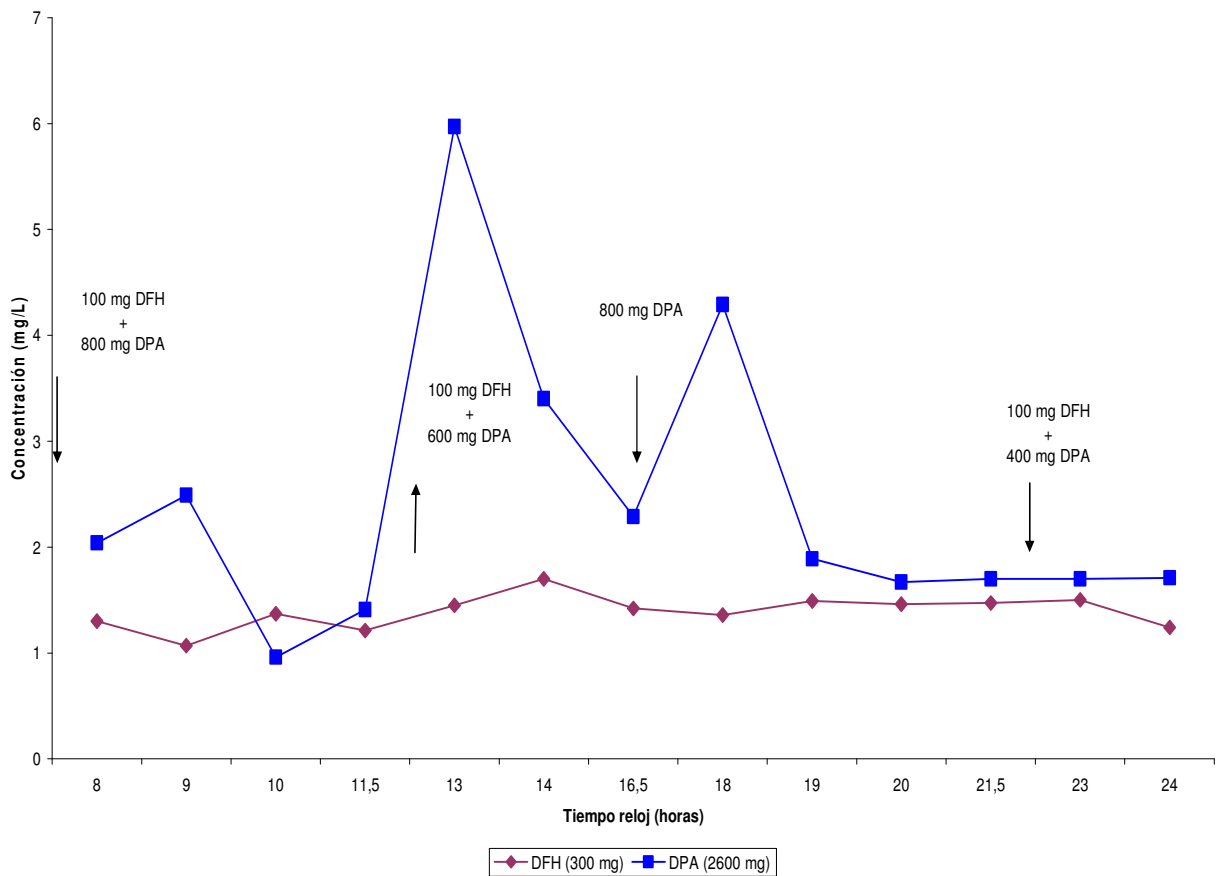


Figura 4.4. Paciente A.D.R.



Paciente S.M.

Paciente de 10 años de edad portador de parálisis cerebral secundaria a patología perinatal. Hemiplejia derecha y epilepsia de difícil control, convulsiones generalizadas, tónico-clónicas, crisis parciales simples y motoras y otras con generalización secundaria. Pasó por múltiples medicaciones instalándose fenómenos de somnolencia, inestabilidad e hipotonía con las mismas.

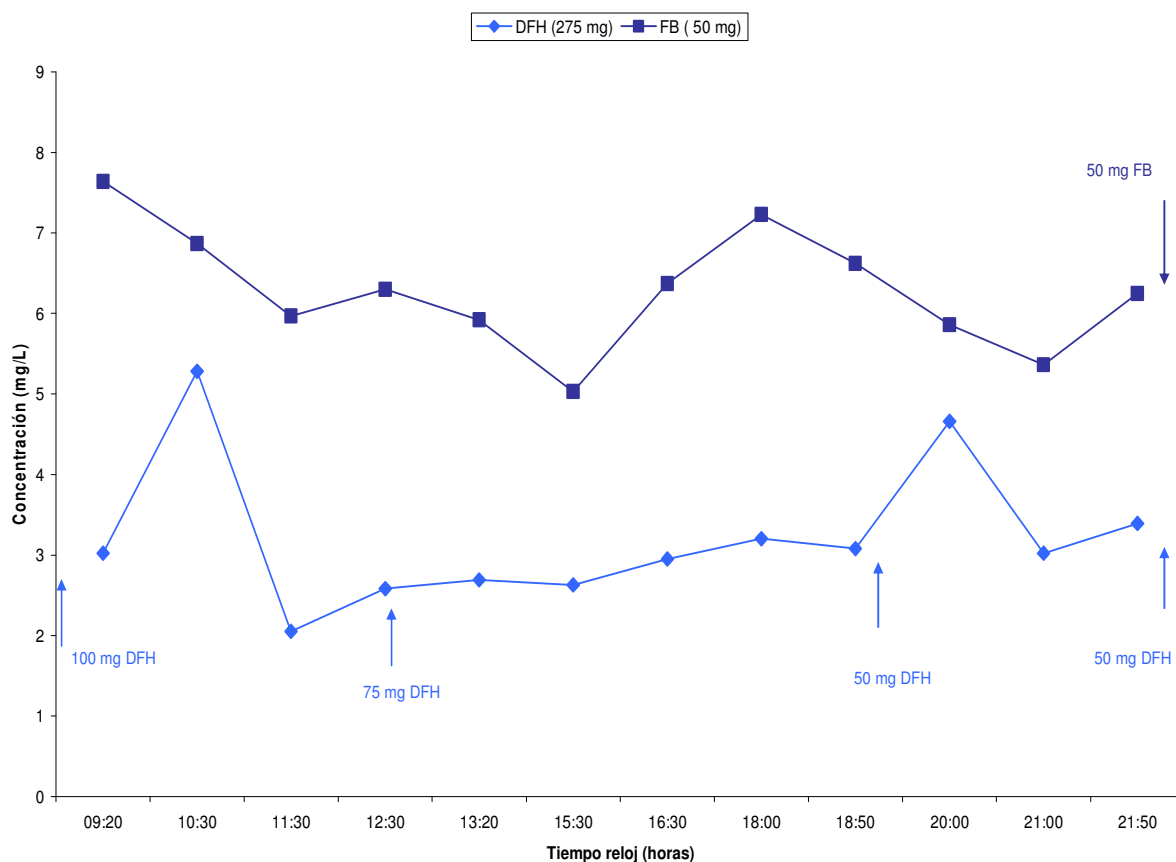
A la fecha de realización de la curva salival (Figura 4.5) recibía 275 mg de DFH por día (100 mg-08:30; 75 mg-12:30; 50 mg-19:00 y 50 mg-22:00 hs) y 50 mg de FB por día (50 mg-22:00 hs).

El paciente con estas medicaciones no presenta crisis pero sí ataxia y vómitos.

La concentración media de FB en el intervalo estudiado es de 6.2 (\pm 0.7) mg/L y el de DFH es de 3.0 (\pm 0.7) mg/L. Esta concentración de DFH puede ser la responsable de los efectos secundarios que presenta este paciente. A su vez la misma puede estar elevada porque el FB y DFH compiten por la misma enzima para su metabolización.

Se descendió la dosis de DFH discretamente y se atenuaron los problemas en el equilibrio corporal y vómitos, manteniendo los efectos terapéuticos.

Figura 4.5. NIVELES SALIVALES DE FENITOÍNA Y FENOBARBITAL.
Paciente S.M. 17/06/02



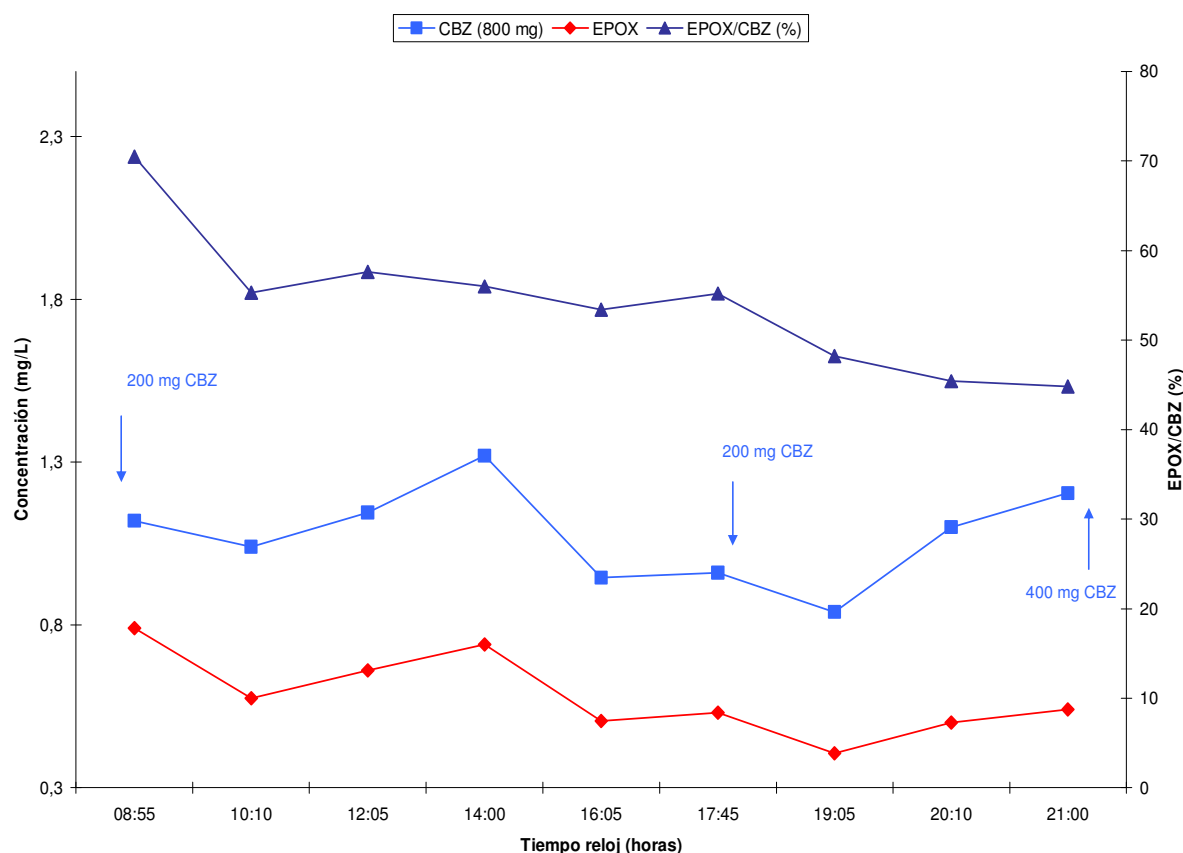
Paciente S.P.

Paciente de 7 años de edad y con crisis febriles. En el momento de la curva salival (Figura 4.6) la paciente estaba recibiendo 800 mg de CBZ (200 mg-08:50; 200 mg-17:50 y 400 mg-21:00 hs) y 437.5 mg de Primidona cuyo metabolito activo es el FB (62.5 mg-08:50; 125 mg-17:50 y 250 mg 21:00 hs). La paciente presentaba cefaleas.

La concentración salival media de FB fue de $8.8 (\pm 0.8)$ mg/L, la concentración media para la CBZ es de $1.1 (\pm 0.2)$ mg/L y para el EPOX es de $0.6 (\pm 0.1)$ mg/L y la media del cociente metabólico ($[EPOX]/[CBZ]$) es de $54.0 (\pm 7.8)$ %. Este cociente metabólico es superior al que se obtiene en monoterapia (34 ± 13 %) indicando un mayor nivel de EPOX en presencia de inductores enzimáticos como lo es el FB. Esto puede significar que el FB induzca más el metabolismo de la CBZ que la del EPOX o que induzca en forma similar pero que el FB incrementa la biodisponibilidad del EPOX.

Cualquiera sea la explicación los niveles de EPOX están elevados ante la presencia de FB y esto puede traer aparejado efectos adversos. Se propuso disminuir la dosis de FB a 375 mg de Primidona por día y volver a realizar curva salival.

Figura 4.6. CARBAMACEPINA Y EPÓXIDO EN SALIVA. Paciente S.P. mayo/02



Paciente M.C.

Paciente de 3 años de edad con síndrome de Lennox- Gastaut. Se lo trata con 30 mg de FB a las 21:00 hs. y DPA 400 mg por día (160 mg-09:00; 80 mg-17:00 y 160 mg-21:00 hs). El paciente presenta hiperactividad marcada. Se realiza curva salival (Figura 4.7) y la concentración media de FB es de $9.5 (\pm 0.8)$ mg/L y la de DPA es de $1.7 (\pm 0.9)$ mg/L en el intervalo de tiempo estudiado. El paciente sigue con crisis que se presentan alrededor de las 17:00 hs que corresponden a niveles bajos de DPA. El nivel salival de FB quizás se puede correlacionar con el efecto de hiperactividad que presenta este paciente. Se decide aumentar la dosis de DPA a 480 mg por día (160 mg-07:00; 160 mg-09:30; 160 mg-20:00 hs) y se le va retirando el FB de la terapia. Se realiza nueva curva salival (Figura 4.8). En este momento el paciente tenía sus crisis controladas y no se mostraba hiperactivo. La concentración media salival de DPA fue de $5.8 (\pm 2.4)$ mg/L. Otra vez más estamos ante un aumento de concentración salival de DPA (230 %) desproporcionado con el aumento de dosis (20 %), lo que se podría explicar por transportadores de eflujo. También se debe tener en cuenta que el FB es inductor enzimático por lo tanto cuando se estaban administrando juntos los niveles de DPA pudieron ser más bajos debido a una mayor metabolización del mismo. Una vez retirado el FB y habiendo subido la dosis de DPA los niveles pudieron haber subido en forma notoria.

Figura 4.7. ÁCIDO VALPROICO Y FENOBARBITAL EN SALIVA.
Paciente M.C. 09/04/01

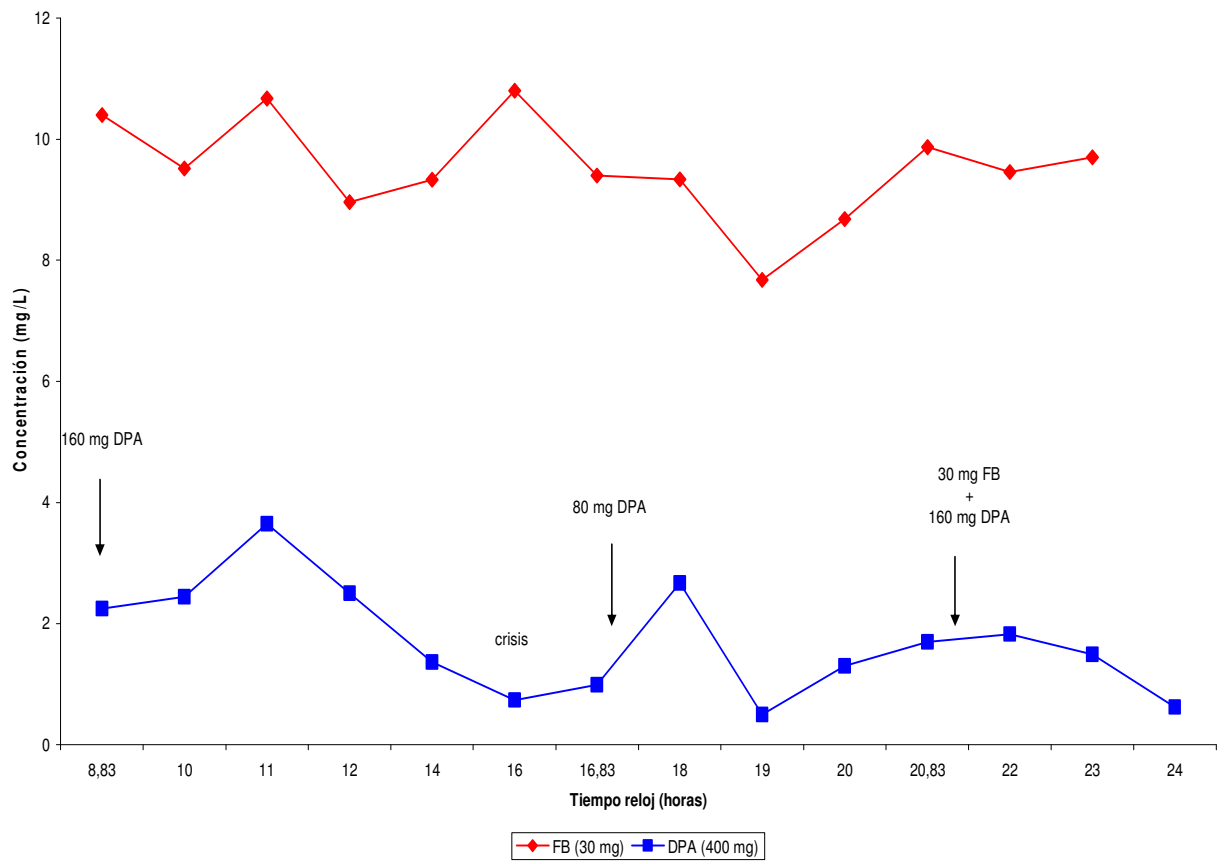
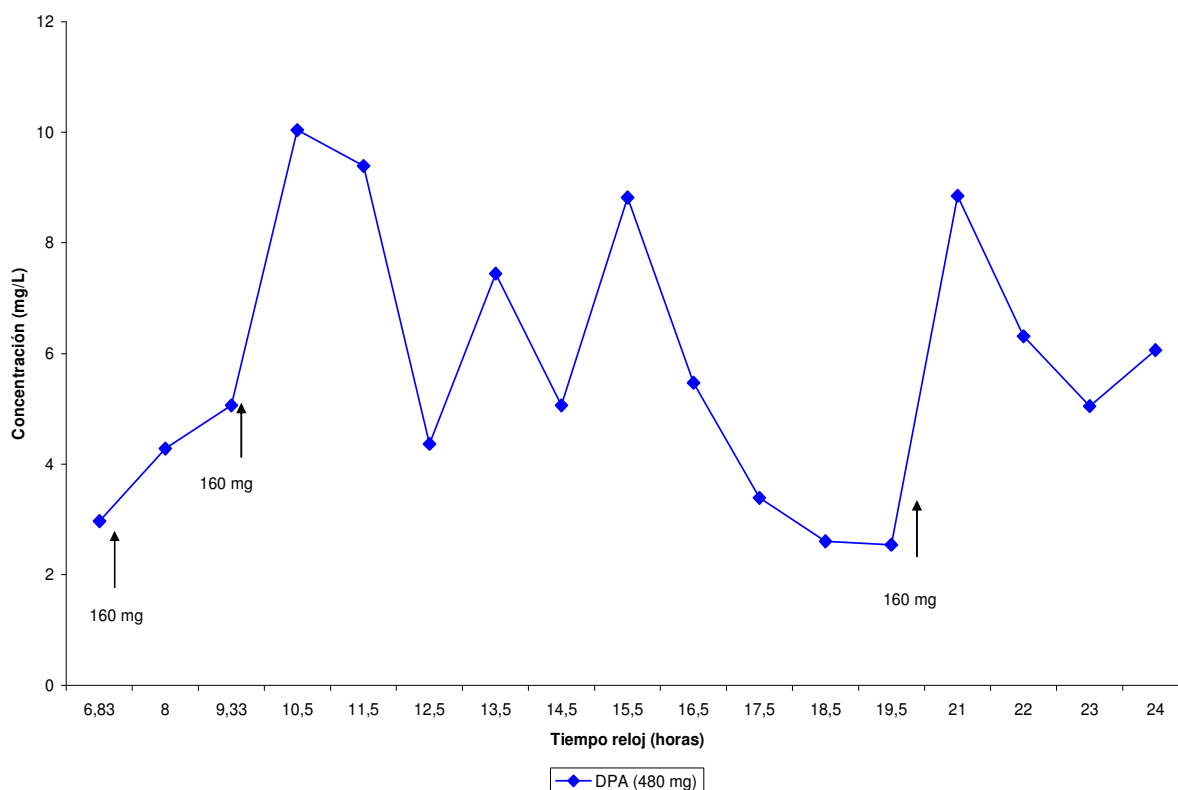


Figura 4.8. ÁCIDO VALPROICO EN SALIVA.
Paciente M.C. 05/08/01



Paciente G.M.

Paciente epiléptico de 16 años de edad con crisis parciales complejas y crisis parciales complejas secundariamente generalizadas (tónico-clónicas), fue mantenido con una dosis constante de CBZ de 1200 mg/día (400 mg-08:00; 200 mg-13:00; 400 mg-18:00; 200 mg-22:00 hs). A pesar de esta terapia, el paciente continuó con crisis ocasionales a las 09:00 y 16:00 hs (ver Figura 4.9 curva azul). Los resultados revelaron bajos niveles salivales durante los episodios de crisis. El médico decide aumentar la dosis diaria a 1600 mg (400 mg-08:00; 400 mg-13:00; 400 mg-18:00 y 400 mg-22:00 hs).

Tres meses más tarde el paciente volvió a consulta, refiriendo dolores de cabeza intolerables en el período tarde-noche. Sus crisis estaban controladas. Se realizó nueva curva y las concentraciones más altas salivales correspondieron al período donde se observaron efectos secundarios (Figura 4.9, curva roja, y Figura 4.10). Se redujo la dosis a 1400 mg/día (de 400 a 200 mg a las 18:00 hs). Con esta posología, el paciente mejora sus cefaleas pero sus crisis no están controladas.

El médico decide agregar otro fármaco anticonvulsivante a la terapia (DPA) ya que un incremento de la dosis de CBZ se acompaña de efectos secundarios o no deseados.

Se realiza una nueva curva salival de CBZ y su metabolito y DPA (Figura 4.11). En ese momento el paciente estaba recibiendo 1400 mg de CBZ (400 mg-08:00; 400 mg-13:00; 200 mg-18:00 y 400 mg-22:00 hs) y 1000 mg de DPA (500 mg-13:00 y 500 mg-22:00 hs).

La concentración media de CBZ es de 2.2 (\pm 0.3) mg/L, para el EPOX es de 0.7 (\pm 0.1) mg/L y para el DPA de 0.9 (\pm 0.4) mg/L. Los niveles de EPOX pueden estar elevados ya que el DPA inhibe la enzima que metaboliza al EPOX. Hay crisis esporádicas pero

mejoran. Esto se puede deber a la introducción de DPA a su terapia o el efecto terapéutico del EPOX. La decisión médica será de aumentar el DPA de 1000 mg a 1200 mg por día. Al tomar esta decisión se debe realizar una nueva curva y determinar el metabolito activo pues el mismo puede llegar a estar muy aumentado y ser responsable de efectos secundarios.

Figura 4.9. NIVELES SALIVALES DE CARBAMACEPINA.
Paciente G.M.

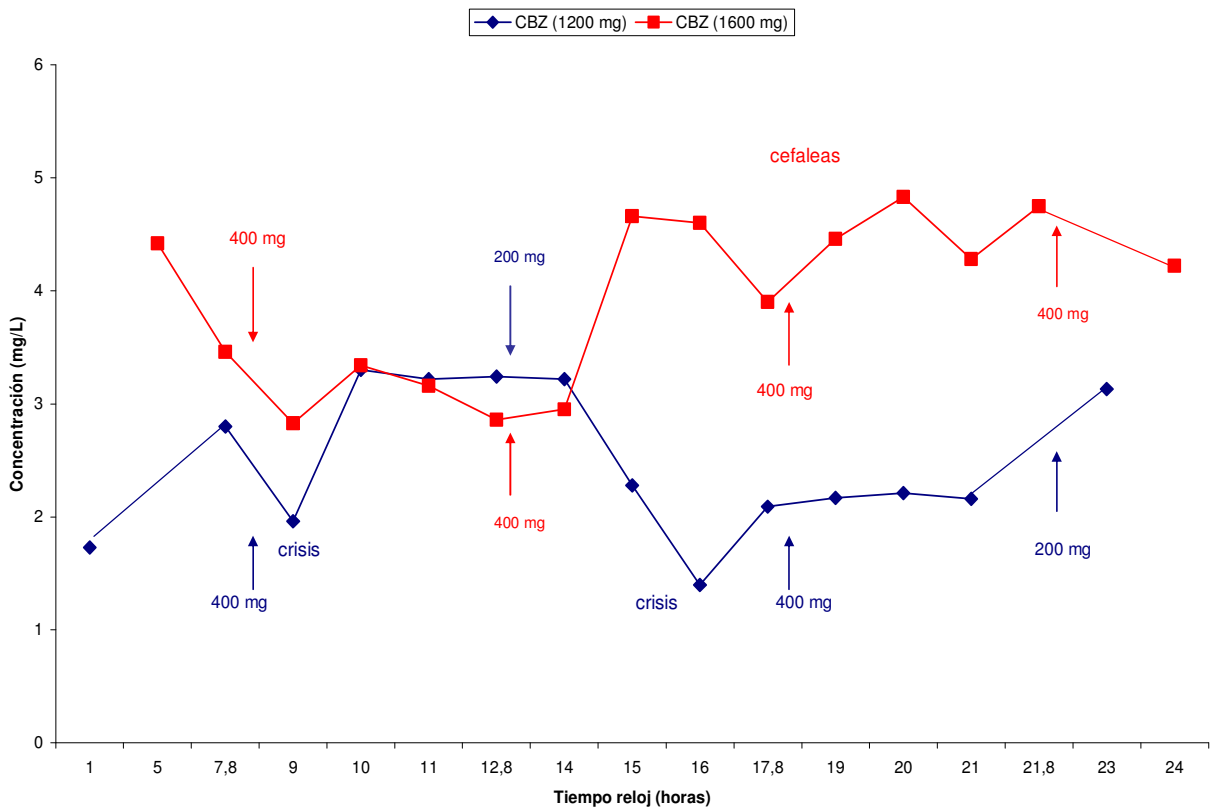


Figura 4.10. SITUACIÓN CLÍNICA Y CONCENTRACIÓN SALIVAL DE CARBAMACEPINA.
(Paciente G.M.)

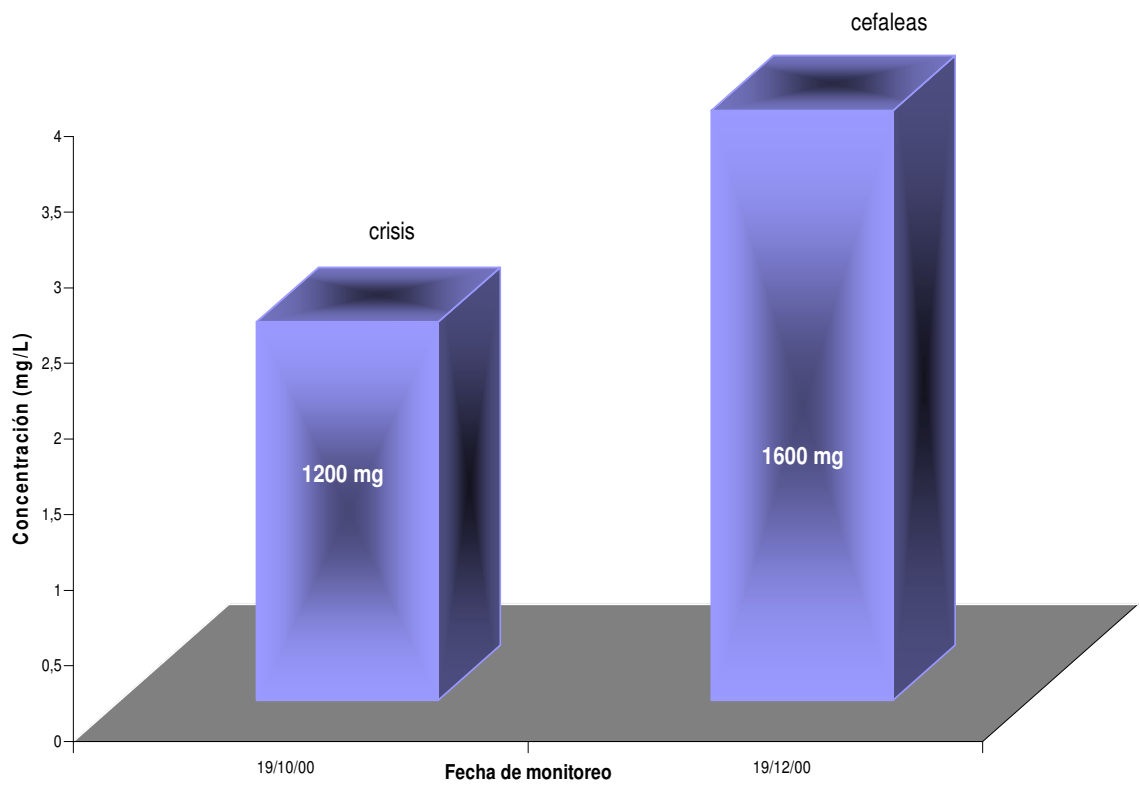
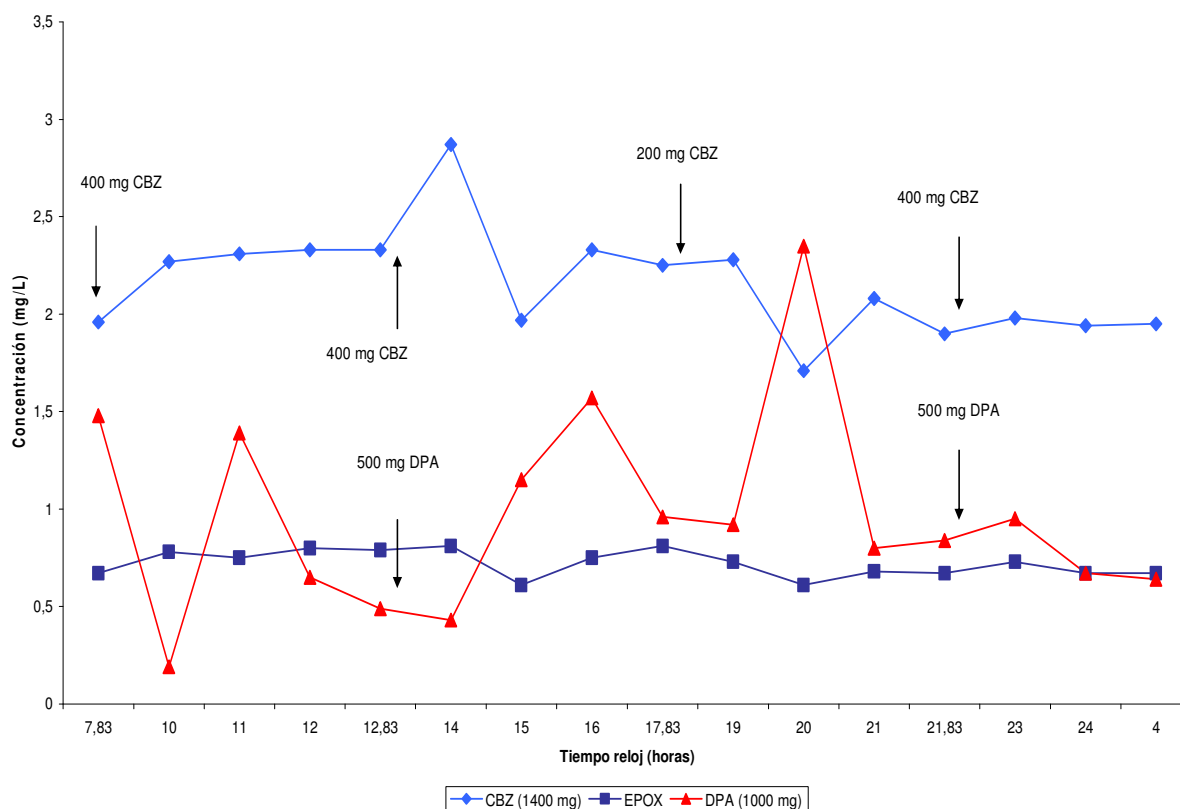


Figura 4.11. CARBAMACEPINA Y ÁCIDO VALPROICO EN SALIVA.
Paciente G.M. 29/07/01



Paciente V.C.

Paciente de 8 años de edad con crisis tónico-clónicas y crisis tónicas generalizadas. Estaba recibiendo 125 mg por día de FB (50 mg-13:00 y 75 mg a las 21:00 hs) y 1000 mg de CBZ por día (200 mg-09:00; 300 mg-13:00; 200 mg-17:00; 300 mg – 21:00 hs). Presentaba crisis en la mañana (hora 9:00; 10:00 y 12:00). El 08/02/99 se determina CBZ y FB en sangre y saliva a predosis. Los resultados fueron los siguientes:

FB en sangre: 30.3 mg/L
 FB en saliva: 9.8 mg/L
 S/P = 0.3

CBZ en sangre: 8.2 mg/L
 CBZ en saliva: 2.1 mg/L
 S/P = 0.3

La unión a proteínas plasmáticas (UPP) para este paciente de CBZ coincide con datos bibliográficos. En esta paciente la UPP para la CBZ es de 70%. Con respecto al FB, hay

que considerar que la relación S/P coincide con estudios realizados en la UMM para lactantes y niños.

Antes de ajustar la terapia, el médico decide realizar una curva salival, la cuál reveló una caída de las concentraciones de CBZ en el momento de las crisis (Figura 4.12), con una concentración media de CBZ de $2.5 (\pm 0.6)$ mg/L y $9.6 (\pm 0.5)$ mg/L para el FB. La dosis de CBZ se incrementó a 1100 mg por día (300 mg-08:00; 200 mg-13:30; 200 mg-17:30; 400 mg- 24:00 hs) de forma de reforzar el período en el cual las crisis no estaban controladas. Se realizó nueva curva salival (Figura 4.13) y las concentraciones medias salivales de CBZ y FB fueron $2.8 (\pm 0.4)$ mg/L y $7.5 (\pm 1.1)$ mg/L respectivamente.

Un hecho a destacar es el cambio en la concentración salival de FB ya que no hubo cambio de dosis entre ambas ocasiones. Si bien la CBZ además de autoinductora, induce el metabolismo de otros fármacos, no parece ser la causa del descenso en la concentración de FB al aumentar la dosis de CBZ en tan sólo 100 mg. Este hecho podría deberse a una falta de cumplimiento de la posología de FB en ese período o un cambio de la marca comercial a una de menor biodisponibilidad. La madre una vez interrogada admite administración irregular de FB y cambios de marcas comerciales.

La paciente estaba atáxica con crisis bimensuales y se le decide disminuir la dosis de CBZ a 800 mg por día (400 mg-07:00; 200 mg-13:00; 200 mg-23:00 hs) y la de FB a 100 mg a la hora 23:00. La paciente presenta crisis en la mañana (en el entorno de las 06:00 hs). Se realiza curva el 19/10/00 (Figura 4.14). Las concentraciones salivales de CBZ fueron más bajas en ese entorno. La concentración media salival de CBZ fue de $1.5 (\pm 0.4)$ mg/L y la de FB fue de $6.2 (\pm 0.9)$ mg/L. Se decide aumentar la dosis de CBZ a 1100 mg por día reforzando el período de la mañana (400 mg-07:00; 200 mg-13:00; 500 mg-21:00 hs) y se realiza curva salival el 10/12/00 (Figura 4.15). La concentración media salival de CBZ fue de $2.6 (\pm 0.4)$ mg/L y la de FB fue de $7.9 (\pm 0.9)$ mg/L en esta oportunidad. Mejoran las crisis pero continúa la inestabilidad en la marcha. Se decide disminuir la dosis de CBZ a 1000 mg. Se realiza nueva curva salival el 23/04/01 (Figura 4.16). La concentración media de CBZ fue de $2.8 (\pm 0.3)$ mg/L y la de FB fue de $10.2 (\pm 0.4)$ mg/L. Si se compara con la curva anterior, los resultados son superiores, lo que plantea nuevamente el interrogante del correcto cumplimiento de la posología.

Se realiza nueva curva el 26/05/01 (Figura 4.17), pero se decide aumentar la dosis de CBZ a 1200 mg por día ya que la paciente había tenido crisis con estado febril. La concentración media salival de CBZ fue de $2.9 (\pm 0.3)$ mg/L y la de FB fue de $6.7 (\pm 0.3)$ mg/L.

Ya que estas dosis de CBZ llegan a controlar las crisis pero el paciente presenta efectos secundarios, se decide disminuir la dosis de CBZ a 600 mg por día para empezar a retirar este fármaco de la terapia y se le decide añadir DFH 250 mg por día. Se realiza nueva curva el 14/07/01 (Figura 4.18). La concentración media de CBZ fue de $1.2 (\pm 0.2)$ mg/L; la de FB fue de $9.3 (\pm 0.9)$ mg/L y la de DFH fue de $2.7 (\pm 0.3)$ mg/L. La paciente mejora con la introducción de DFH a su terapia.

Figura 4.12. CARBAMACEPINA Y FENOBARBITAL EN SALIVA. Paciente V.C. 10/03/99

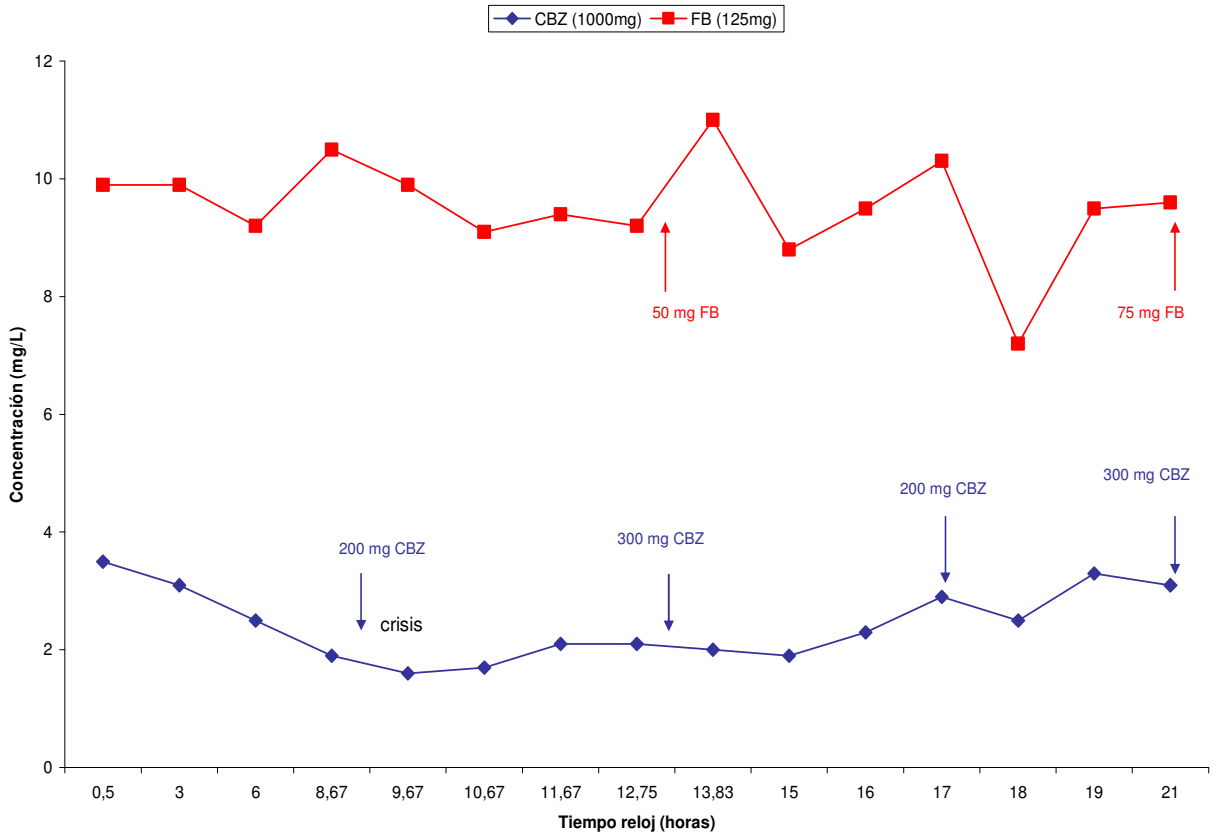


Figura 4.13. CARBAMACEPINA Y FENOBARBITAL EN SALIVA. Paciente V.C. 12/04/99

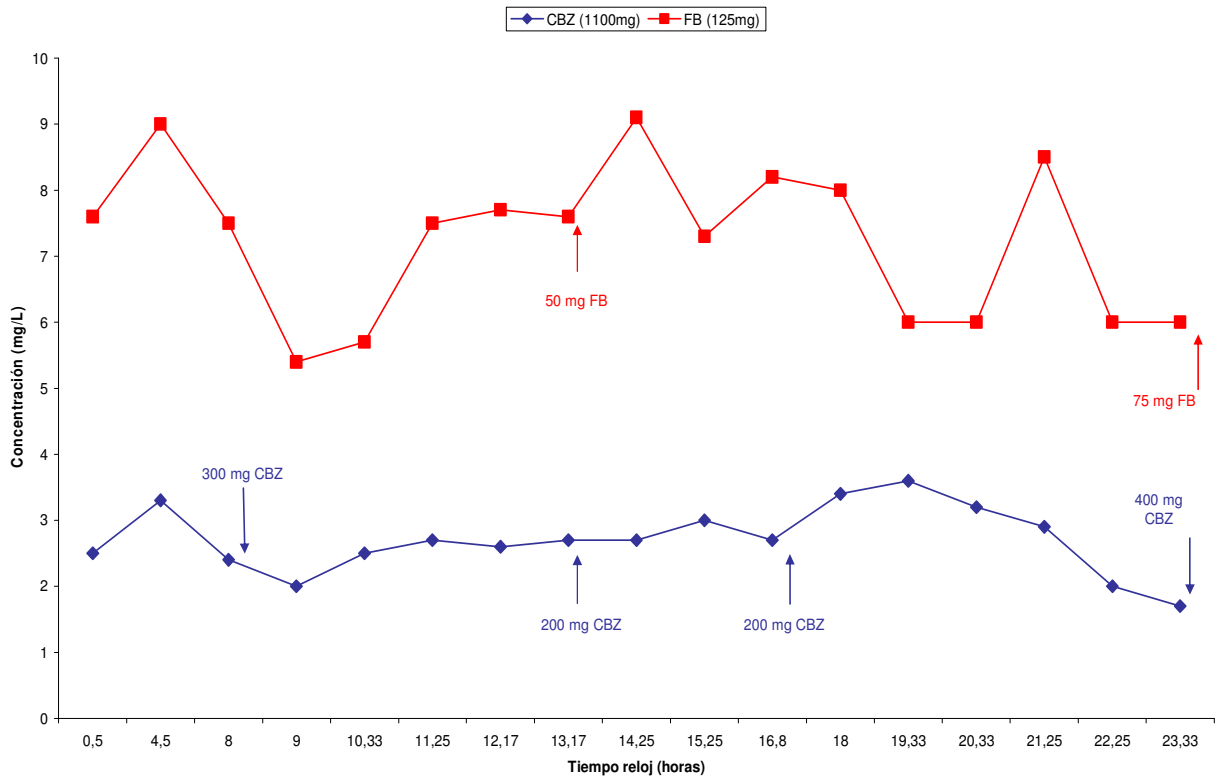


Figura 4.14. CARBAMACEPINA Y FENOBARBITAL EN SALIVA.
Paciente V.C. 19/10/00

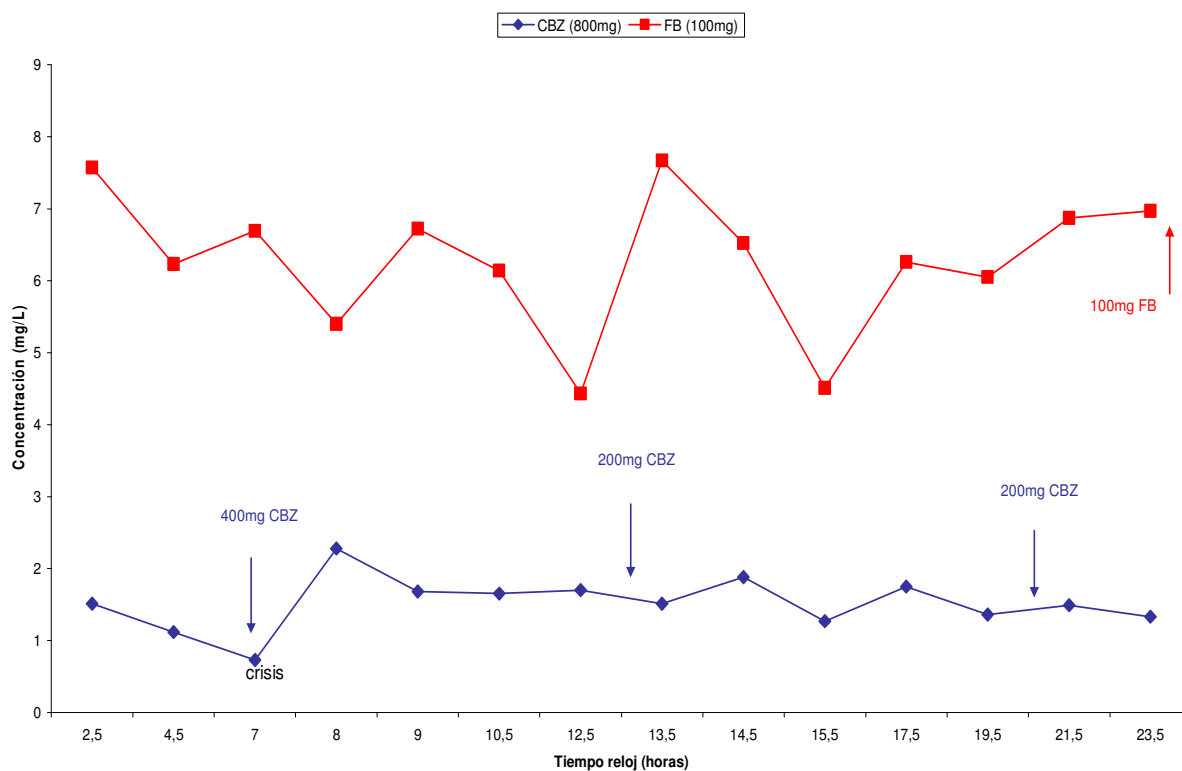


Figura 4.15. CARBAMACEPINA Y FENOBARBITAL EN SALIVA.
Paciente V.C. 10/12/00

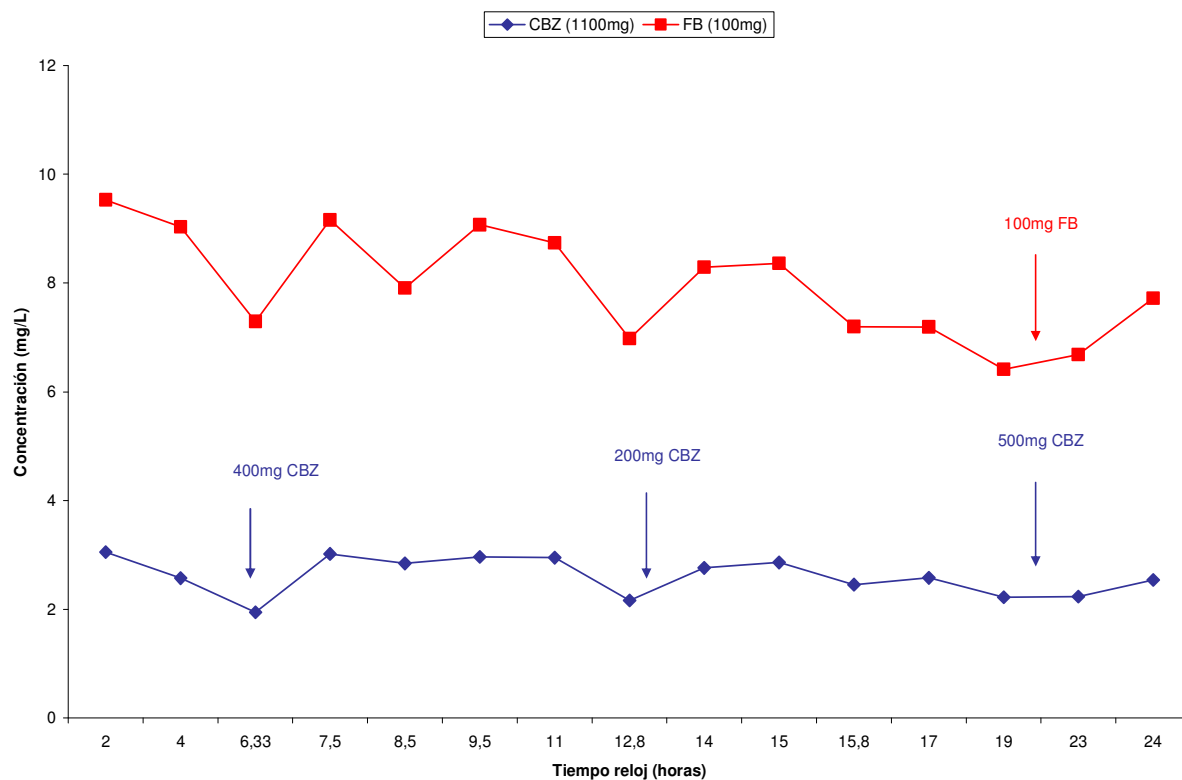


Figura 4.16. CARBAMACEPINA Y FENOBARBITAL EN SALIVA.
Paciente V.C. 23/04/01

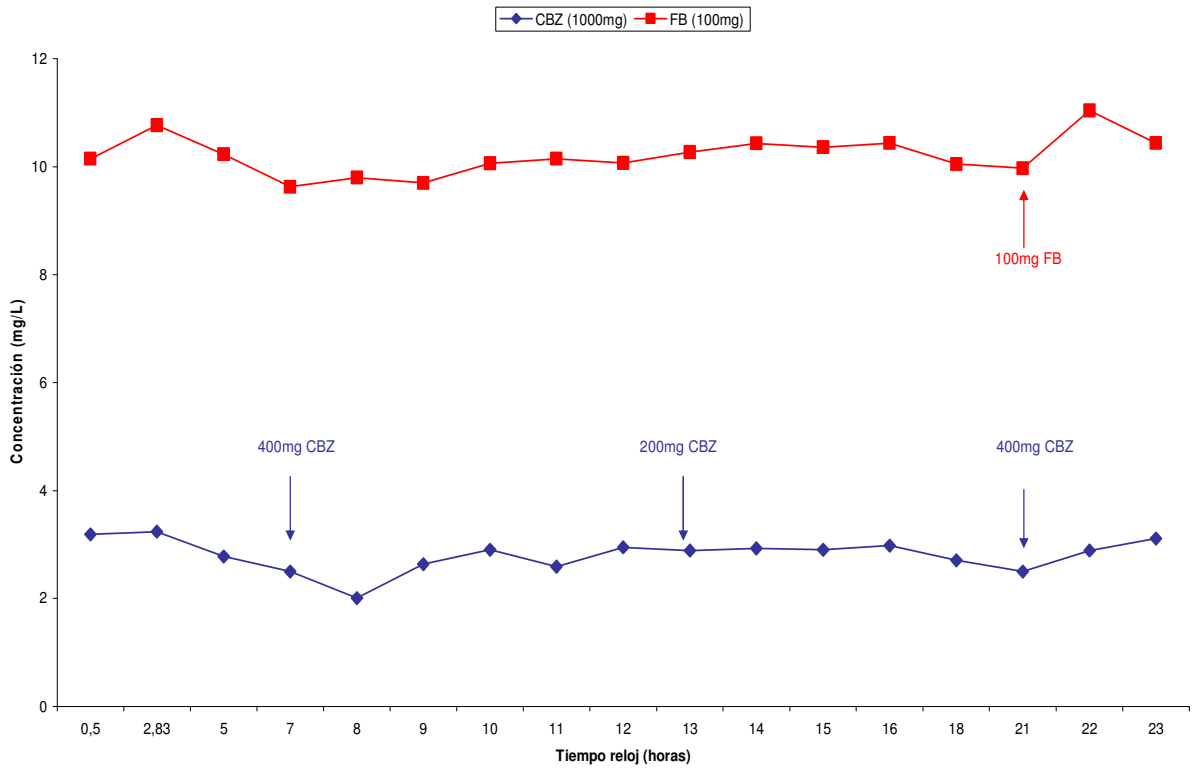


Figura 4.17. CARBAMACEPINA Y FENOBARBITAL EN SALIVA.
Paciente V.C. 26/05/01

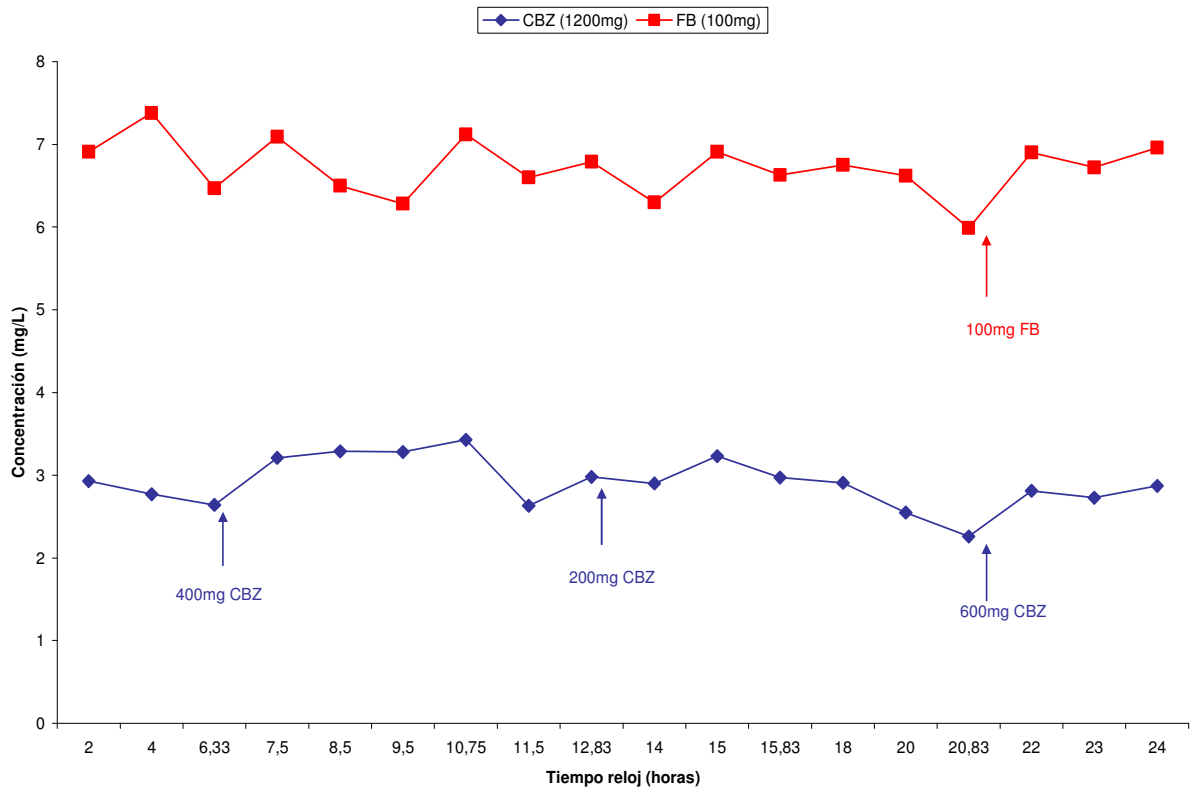
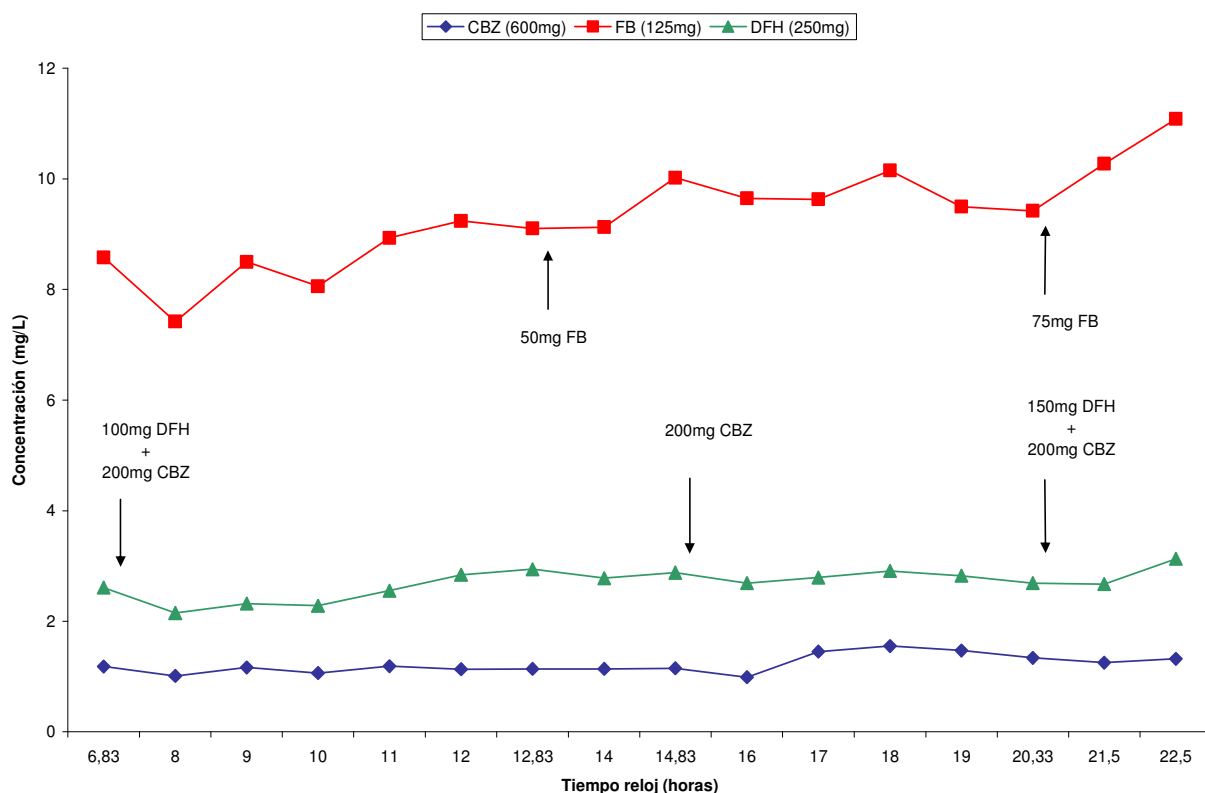


Figura 4.18. CARBAMACEPINA, FENITOÍNA Y FENOBARBITAL EN SALIVA.
Paciente V.C. 14/07/01



Paciente J.R.

Paciente de 9 años de edad con epilepsia focal fronto temporal derecha secundaria a una displasia cortical del lóbulo frontal derecho. Cuando se realiza curva el 26/02/02 la paciente recibía 800 mg de CBZ por día (200 mg-07:00; 200 mg-14:30; 400 mg-20:30 hs) y 1250 mg de DPA (500 mg-07:00; 250 mg-14:30; 500 mg-20:30 hs). La paciente presentaba crisis nocturnas y en primeras horas de la mañana y cefaleas frecuentes.

La concentración media salival de CBZ fue de 2.6 (\pm 0.9) mg/L y la de DPA fue de 2.7 (\pm 1.3) mg/L. Los niveles de DPA como se pueden observar en la Figura 4.19 son más bajos en las primeras horas de la mañana. Los niveles de CBZ aumentan en la mañana. No se pudo realizar el EPOX pero este puede estar elevado ya que el DPA inhibe la enzima que metaboliza al EPOX y tanto la CBZ y el EPOX pueden ser responsables de las cefaleas de este paciente.

Se decide aumentar el DPA a 1750 mg por día (500 mg-06:00; 250 mg-12:00; 500 mg-18:00; 500 mg-24:00 hs) reforzando la noche y mantener la dosis total de CBZ (200 mg-06:00; 200 mg-16:00; 400 mg-24:00 hs). Se realiza nueva curva salival el 29/07/02 (Figura 4.20), la concentración media salival de DPA fue de 4.2 (\pm 2.1) mg/L y la concentración media de CBZ fue de 1.6 (\pm 0.2) mg/L. Es de extrañar el descenso de concentración de CBZ de una curva a otra cuando se estaba administrando la misma dosis.

Se sospecha incumplimiento de la medicación.

Figura 4.19. NIVELES SALIVALES DE CARBAMACEPINA Y ÁCIDO VALPROICO. Paciente J.R. 26/02/02

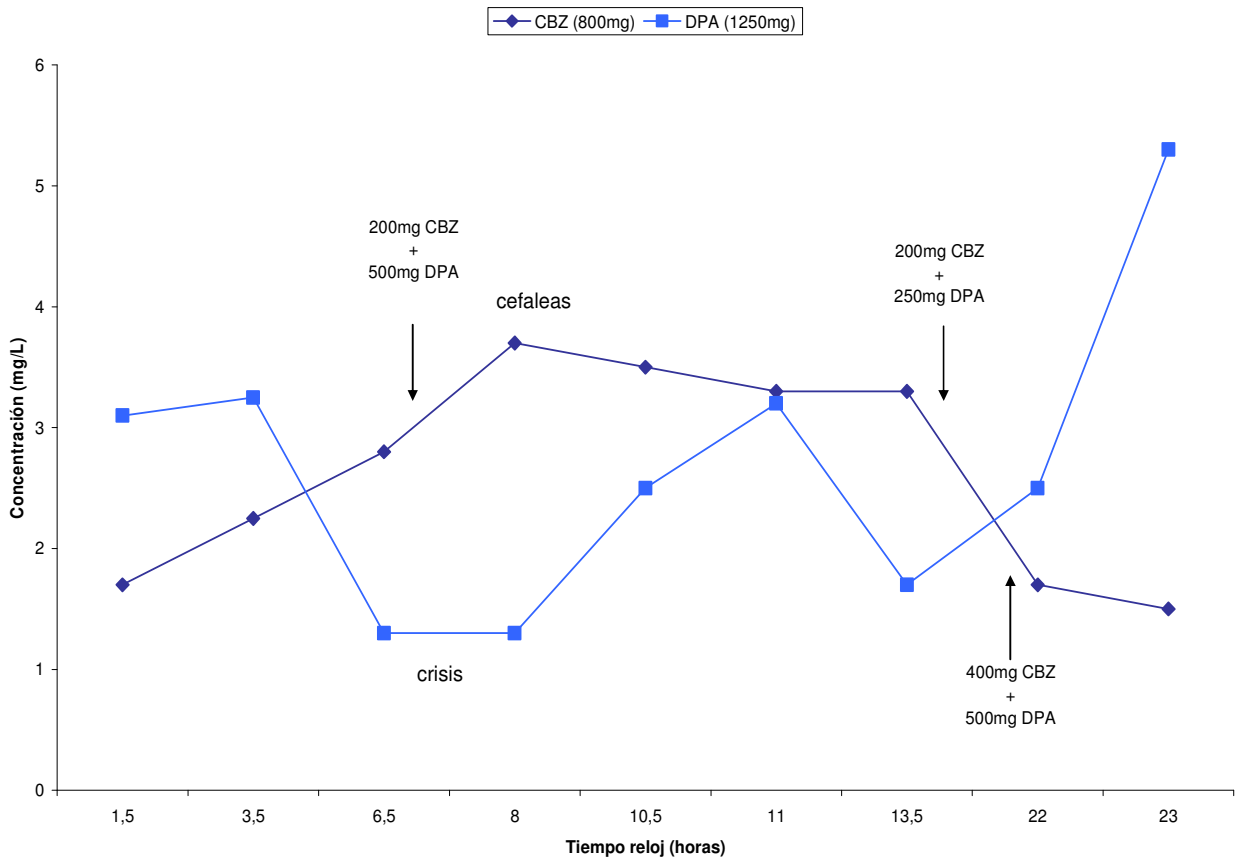
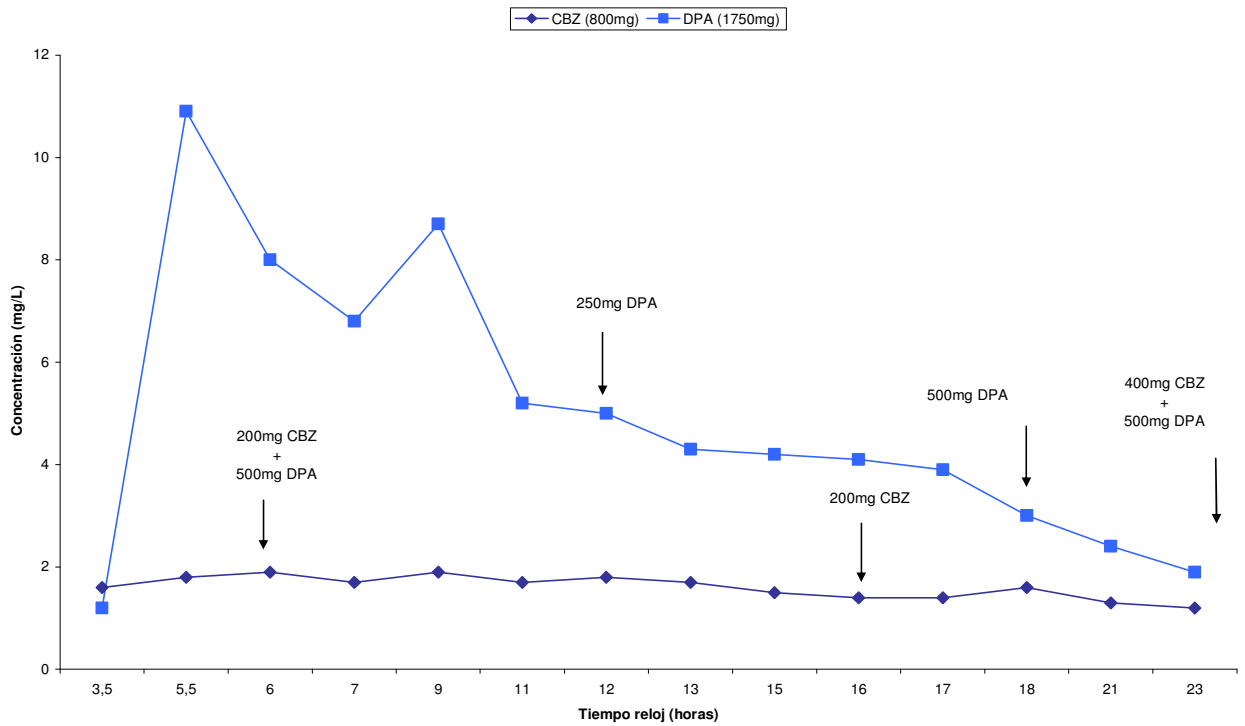


Figura 4.20. NIVELES SALIVALES DE CARBAMACEPINA Y ÁCIDO VALPROICO. Paciente J.R. 29/07/02



Paciente S.B.

Paciente de 6 años de edad que recibe 600 mg de OXC (150 mg-07:30; 150 mg-12:00; 150 mg-18:00; 150 mg-22:00 hs); 400 mg de DPA (200 mg-07:30; 200 mg-21:30 hs) y 150 mg de DFH (75 mg-07:30 y 75 mg-21:30 hs). Se realiza curva salival en junio de 2002.

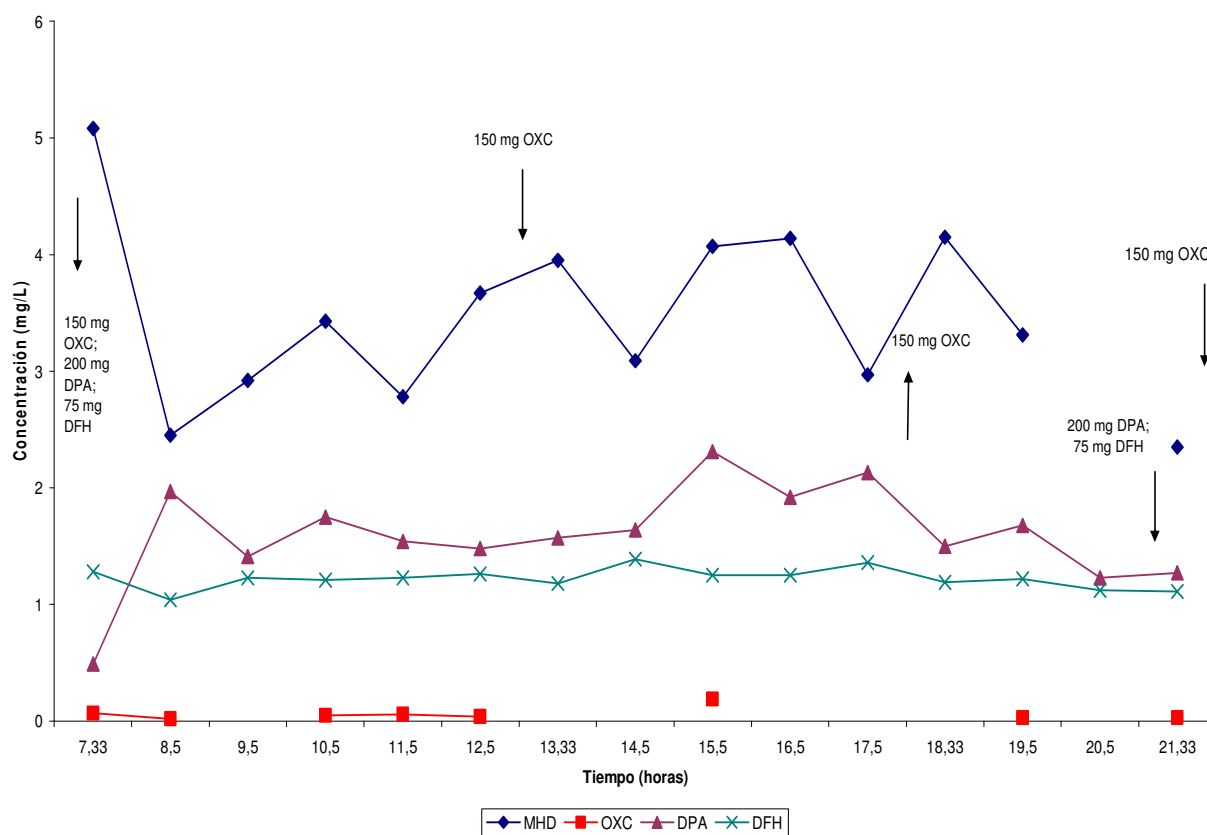
La concentración media salival de DPA fue de 1.6 (\pm 0.4) mg/L, la de DFH fue de 1.2 (\pm 0.1) mg/L y la de MHD es de 3.5 (\pm 0.8) mg/L. (Figura 4.21)

Se está retirando de su terapia el DPA y DFH para mantener sólo la OXC debido a la mejoría del paciente con esta droga antiepiléptica.

En otros casos, se ha visto además la curva de OXC (droga madre) y se observa que a medida que disminuye la concentración de droga madre, empieza a acumularse el metabolito. Estos correspondían a pacientes que recibían una dosis total diaria de OXC elevada. Dichos gráficos no se presentan en esta tesis, ya que amerita profundizar el estudio, tanto en saliva como en plasma, de la farmacocinética de este fármaco.

El paciente S.B. presentado, es un típico caso de paciente medicado con OXC en politerapia anticonvulsivante con DFH y DPA.

Figura 4.21. MONOHIDROXIDERIVADO (MHD) DE OXCARBACEPINA (OXC) EN SALIVA. PACIENTE S.B. JUNIO/02. Dosis 600 mg (OXC)/día.



4.4 CONCLUSIONES

A) Se observa correlación entre los niveles salivales y el estado clínico del paciente. Es claro que cuando los niveles salivales son altos aparecen síntomas de toxicidad. Es posible entonces utilizar saliva como fluido para realizar rutinas de determinaciones de concentraciones de fármacos antiepilépticos cuyos fines pueden ser realizar ajustes posológicos o control del cumplimiento del tratamiento. Se observaron efectos tóxicos con concentraciones salivales de DFH superiores a 3.1 mg/L, de FB de 13.1 mg/L, de DPA de 6.3 mg/L y de CBZ y de EPOX de 1.6 mg/L y de 0.57 mg/L respectivamente.

B) En el caso de epilepsia refractaria, la monitorización de drogas antiepilépticas, durante un periodo de tiempo prolongado del día, permitió ajustar la dosis de estos fármacos en el lapso durante el cual se producía algún evento, ya sea patológico (presencia de crisis) o por efectos no deseados del fármaco. Esto presenta una ventaja, frente al aumento total de la dosis diaria dado que la modificación en la dosis, se hace más específica porque se trata de corregir la concentración del medicamento en un periodo de tiempo menor a 24 horas.

De los pacientes seleccionados, se han destacado M.M.C., ya que debido a una redistribución del flujo sanguíneo, provocada por un incremento en la actividad física, se produjo un aumento en las concentraciones de CBZ y de su metabolito activo con la consiguiente persistencia en los efectos secundarios.

En A.D.R. y M.C. se pudo constatar un aumento en los niveles de DPA superior al incremento en la dosis total diaria de este fármaco. Este tema se profundizará en el Capítulo 6.

En A.D.R., se observó, además, un aumento en la concentración de DFH, que podría explicarse en principio por una redistribución del flujo sanguíneo desde órganos eliminadores hacia el resto del organismo.

En algunos pacientes, se han presentado interacciones farmacológicas, acompañada de la aparición de efectos no deseados (S.M., S.P.), o con mejoría de sus crisis, como es el caso del paciente G.M. frente al agregado de DPA a su terapia, donde por inhibición del metabolismo del EPOX por parte del DPA, puede haberse presentado control de las crisis por acción del EPOX o por el DPA.

CAPÍTULO 5

CONVERSIÓN SISTÉMICA Y PRE-SISTÉMICA DE LA CARBAMACEPINA A CARBAMACEPINA-10,11-EPÓXIDO EN TRATAMIENTO PROLONGADO.

5.1. INTRODUCCIÓN

La conversión de la CBZ a EPOX por el citocromo P-450 (CYP)3A4 como ruta metabólica mayoritaria utiliza una masa de un 30 a un 50% de la dosis administrada a pacientes en tratamiento antiepiléptico con CBZ (*Spina E. et al., 1996; Pelkonen O. et al., 2001*). Existe una fuerte evidencia de una eliminación dosis-dependiente de la CBZ, teniendo en consideración su capacidad autoinductiva (*Bernus I. et al., 1996*).

Un reciente trabajo publicado por Battino et al (*Battino D. et al., 2003*), ha mostrado que la edad del paciente y la dosis administrada de CBZ tiene una correlación significativa con el clearance de la droga:

- a) clearance disminuido en los adultos mayores (edad > 65 años) comparado con adultos jóvenes (edad promedio: 35 años);
- b) incremento del clearance con el aumento de la dosis diaria para ambos grupos etarios.

La biodisponibilidad oral de la CBZ en monoterapia antiepiléptica es incompleta, como se muestra en el estudio llevado a cabo por algunos investigadores (*Garg S.K. et al., 1998*) observando un incremento del 40% en la absorción cuando la droga era administrada con jugo de pomelo. Se ha encontrado algunos ingredientes en el jugo de pomelo tales como derivados de cumarinas o flavonoides que pueden ser responsables de la inhibición de la enzima metabolizadora de la CBZ (CYP3A4), ubicada en el enterocito y/o la proteína transportadora de la droga que bombea droga fuera del lumen intestinal (MRP2).

Ambas CYP3A4 y MRP2 sufren autoinducción por CBZ en el tratamiento crónico (*Giessmann T. et al., 2004*).

Como el clearance aparente es un híbrido entre el clearance sistémico real (CL) y la biodisponibilidad (F), no queda claro si la causa de los hallazgos de Bernus et al. (*Bernus I. et al., 1996*) y Battino et al. (*Battino D. et al., 2003*) fue exclusivamente un incremento en el clearance sistémico o si una biodisponibilidad que disminuye con la dosis contribuye significativamente a la cinética dosis-dependiente de la droga. Los resultados de Garg et al. (*Garg S.K. et al., 1998*) nos permitieron inferir que al menos el 70% de la dosis de CBZ es biodisponible ($0.7 = [1.4]^{-1}$). Como las otras enzimas involucradas en el metabolismo de la CBZ (CYP1A2, glucuronil transferasa) no son

relevantes en el intestino (*Gibbs M.A. & Hosea N.A., 2003*), la biotransformación presistémica intestinal por CYP3A4 podría ser responsable tanto de la biodisponibilidad de la droga así como de la formación de su principal metabolito, EPOX.

Un gran número de pacientes provenientes del Hospital Universitario “Dr. Manuel Quintela” y del Centro Hospitalario Pereira Rossell (adultos y niños respectivamente) tratados con CBZ se monitorizaban rutinariamente en la Unidad de Monitoreo de Medicamentos del Hospital de Clínicas, para determinar la concentración sérica del fármaco. Las concentraciones plasmáticas de CBZ y EPOX de pacientes crónicos en monoterapia con CBZ fueron analizadas para conocer la importancia de la formación presistémica del EPOX durante la autoinducción de CBZ considerando la dosis diaria administrada.

5.2. MÉTODOS

Se seleccionaron para este estudio, muestras sanguíneas de pacientes epilépticos y estabilizados con CBZ en monoterapia por más de un mes, y que estaban recibiendo la misma dosis y marca comercial. Además del monitoreo de rutina por inmunofluorescencia de luz polarizada (FPIA, TDx Abbott Laboratories), las muestras plasmáticas seleccionadas se analizaron por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC) para la determinación de CBZ y del EPOX. La técnica por HPLC fue publicada previamente (*Olano I. et al., 1998; Olano I., 1998*), ver en el capítulo 3, sección 3.2.3.

Datos como edad, peso, dosis diaria, comedición y otra información relevante fueron obtenidos de la hoja de Solicitud de Análisis de Antiepilépticos de la Unidad de Monitoreo de Medicamentos. Las muestras fueron obtenidas previo a la dosis matinal del fármaco y las concentraciones expresadas en mg/L, y la dosis diaria de CBZ (D) en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$.

Las concentraciones plasmáticas medias de CBZ y del EPOX y D en adultos y en niños fueron comparadas usando el test t-Student para series no apareadas. La dispersión en los datos fue evaluada por el coeficiente de variación ($\text{CV} = 100 \times \text{desviación standard}/\text{media}$). Para cada grupo, las concentraciones de CBZ, EPOX y el cociente de concentraciones EPOX/CBZ se graficaron versus D. Un test de ANOVA para la regresión fue usado para verificar la significancia de la regresión lineal. La intercepción en el eje y fue comparada a cero por un test t-Student. Las pendientes e intercepciones de las regresiones lineales entre los dos grupos fueron comparadas utilizando un test t-Student.

5.3 RESULTADOS

La población final consistió de 40 adultos (12 hombres y 28 mujeres) con una edad media de 28 años (rango 14-47) y 29 niños (14 del sexo masculino y 15 del femenino) con una edad media de 9 años (rango 4-13). No se encontraron diferencias significativas entre las dosis de CBZ para los dos grupos (adultos: $13.4 \text{ mg.kg}^{-1}\text{día}^{-1} \pm \text{CV}=49\%$; niños: $12.8 \text{ mg.kg}^{-1}\text{día}^{-1} \pm \text{CV}=22\%$).

Las concentraciones de CBZ en adultos fueron significativamente mayores ($6.6 \text{ mg/L} \pm \text{CV}=33\%$) que las encontradas en niños ($4.3 \text{ mg/L} \pm \text{CV}=36\%$) con $p<0.001$. El mismo comportamiento fue observado para las concentraciones de EPOX (adultos: $1.0 \text{ mg/L} \pm \text{CV}=49\%$ y niños: $0.67 \text{ mg/L} \pm \text{CV}=45\%$ con $p<0.01$). Ver Tablas 5.1 y 5.2.

En el grupo de adultos se obtuvieron regresiones lineales significativas ($p<0.001$) para: a) concentraciones de CBZ versus D, Fig. 5.1, b) concentraciones de EPOX versus D, Fig. 5.2 y c) cociente de concentraciones EPOX/CBZ versus D, Fig. 5.3. Las regresiones lineales a) y c) mostraron interceptos que difieren de cero mientras que la regresión lineal b) evidenció un comportamiento lineal (la intercepción no difiere de cero).

Por lo tanto se comprueba una dependencia no lineal de las concentraciones de CBZ con las dosis en estado estacionario (concentraciones valle en nuestro estudio, Fig. 5.1) para nuestros adultos. Como ejemplo, una concentración de CBZ de 5.9 mg/L fue obtenida con dosis de $10 \text{ mg.kg}^{-1}\text{día}^{-1}$, mientras que una concentración de 8.1 mg/L fue el resultado luego de una dosis de $20 \text{ mg.kg}^{-1}\text{día}^{-1}$.

Figura 5.1 CONCENTRACIÓN DE CARBAMACEPINA vs DOSIS DE CARBAMACEPINA. ADULTOS

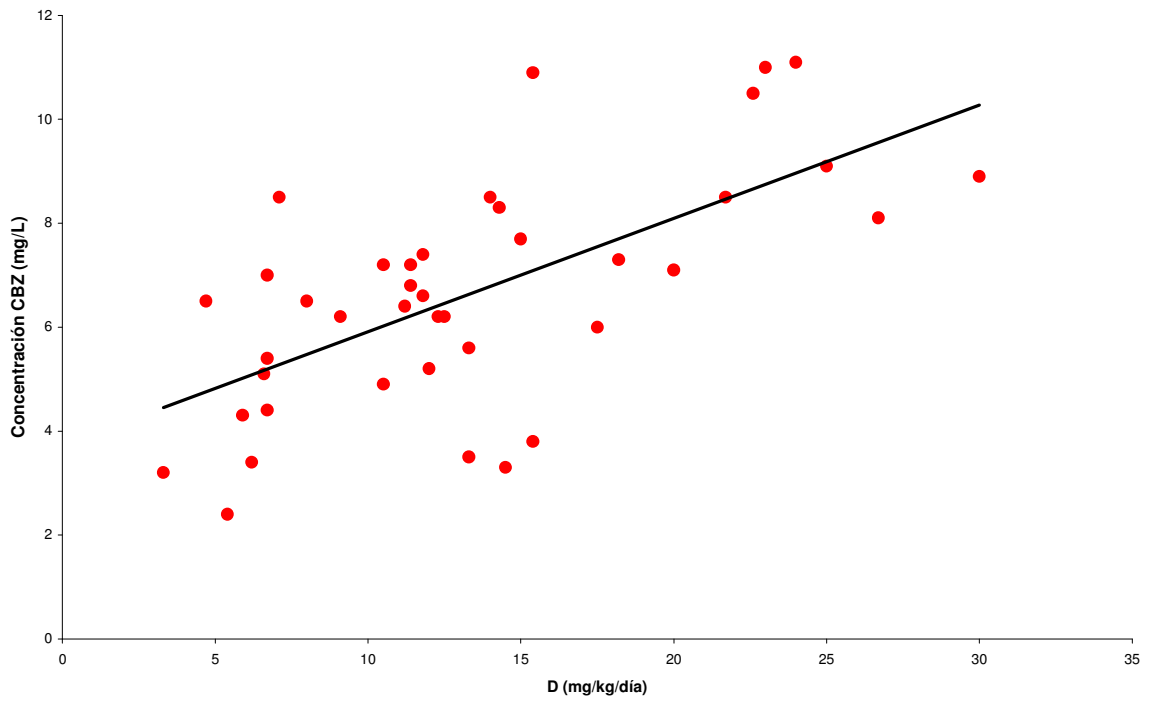


Figura 5.2 CONCENTRACIÓN DE EPÓXIDO vs DOSIS DE CARBAMACEPINA. ADULTOS

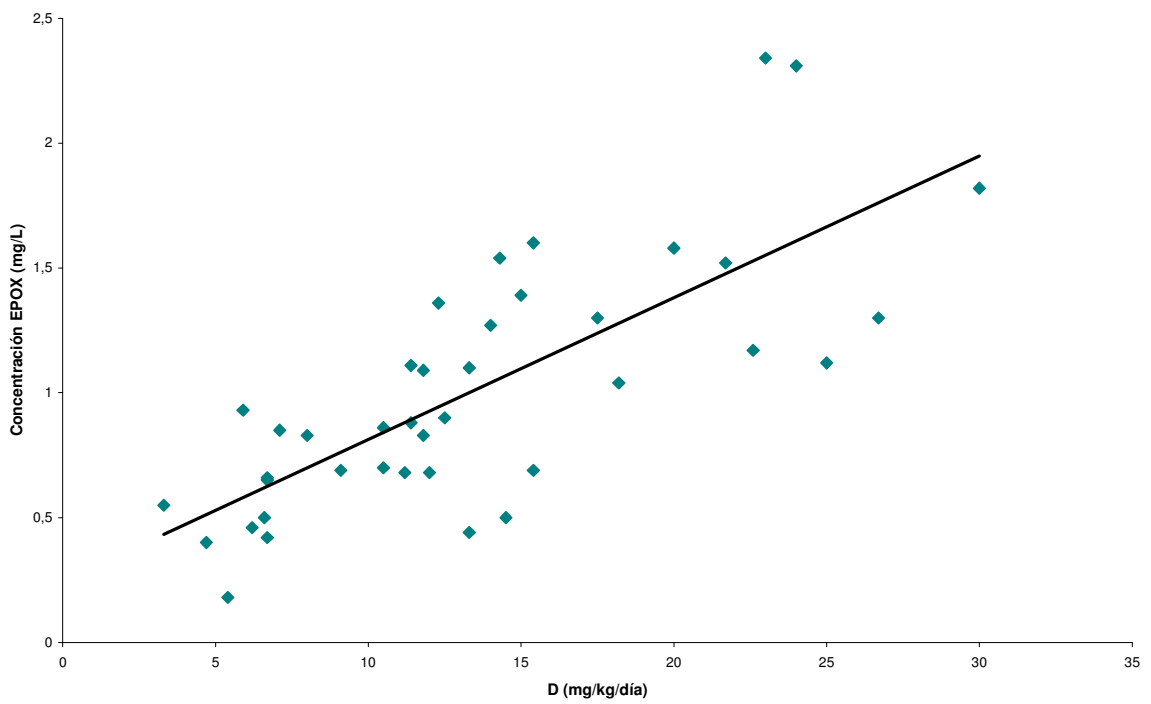
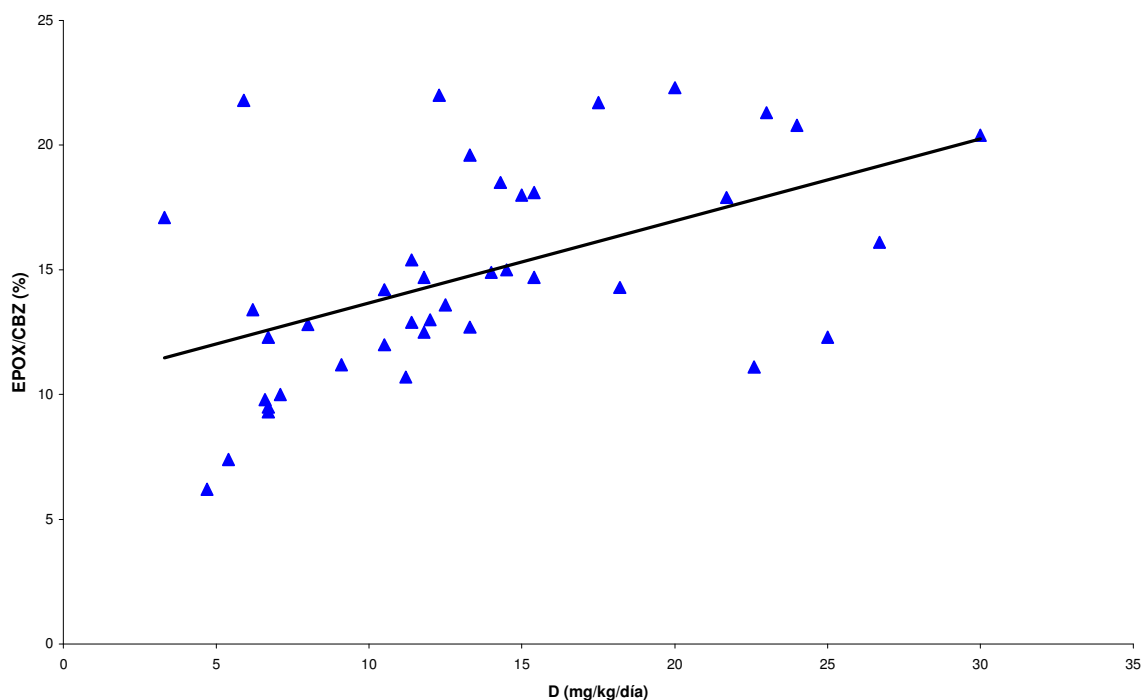


Figura 5.3 COCIENTE METABÓLICO vs DOSIS DE CARBAMACEPINA. ADULTOS



Para el grupo de los niños, se observó una regresión lineal significativa ($p < 0.01$) para el cociente de concentraciones EPOX/CBZ versus D, Fig. 5.6, mientras que las concentraciones de CBZ and EPOX versus D mostraron la misma tendencia que en adultos pero sin una significancia estadística (no-lineal para CBZ pero lineal para EPOX), Fig. 5.4 y 5.5 respectivamente. Quizás, la gran variabilidad interindividual y/o el pequeño rango de D en este grupo etario fueron los responsables en este hecho.

Figura 5.4 CONCENTRACIÓN DE CARBAMACEPINA vs DOSIS DE CARBAMACEPINA. NIÑOS

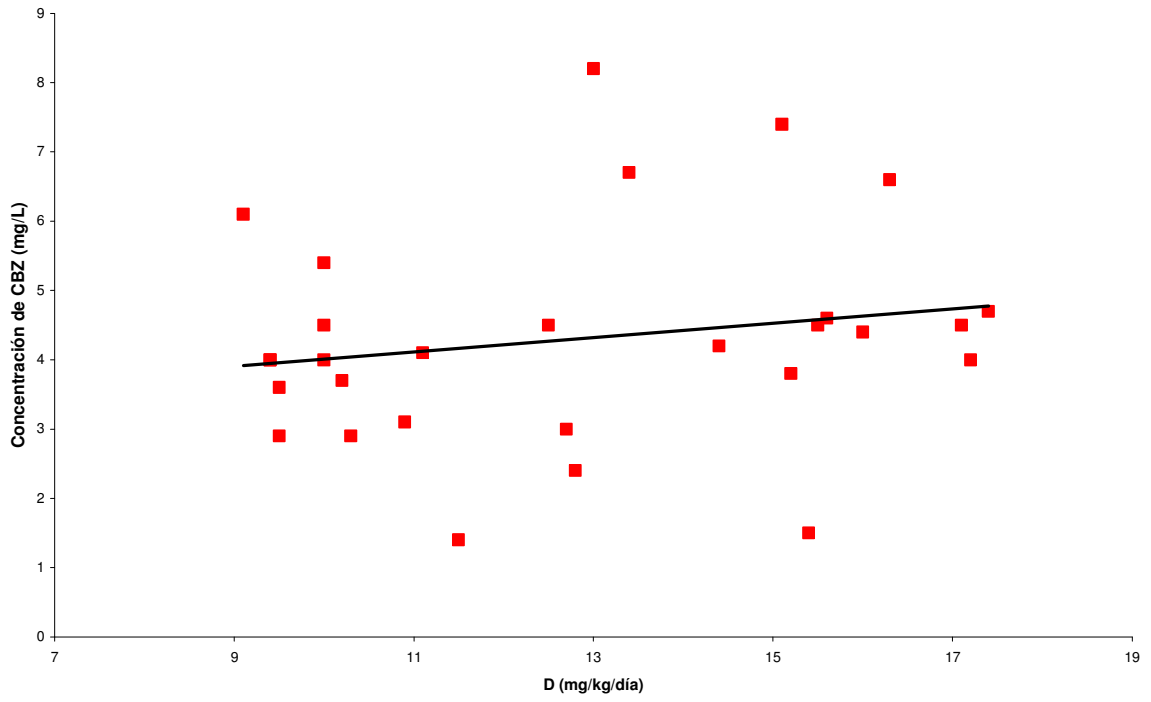


Figura 5.5 CONCENTRACIÓN DE EPÓXIDO vs DOSIS DE CARBAMACEPINA. NIÑOS

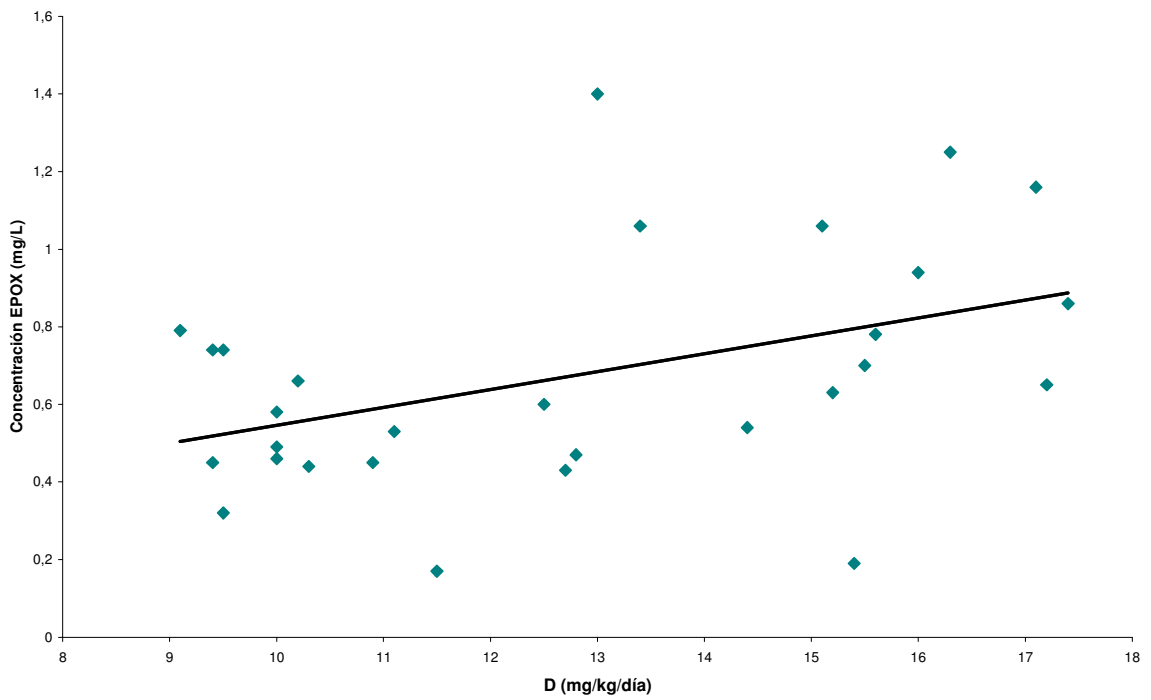
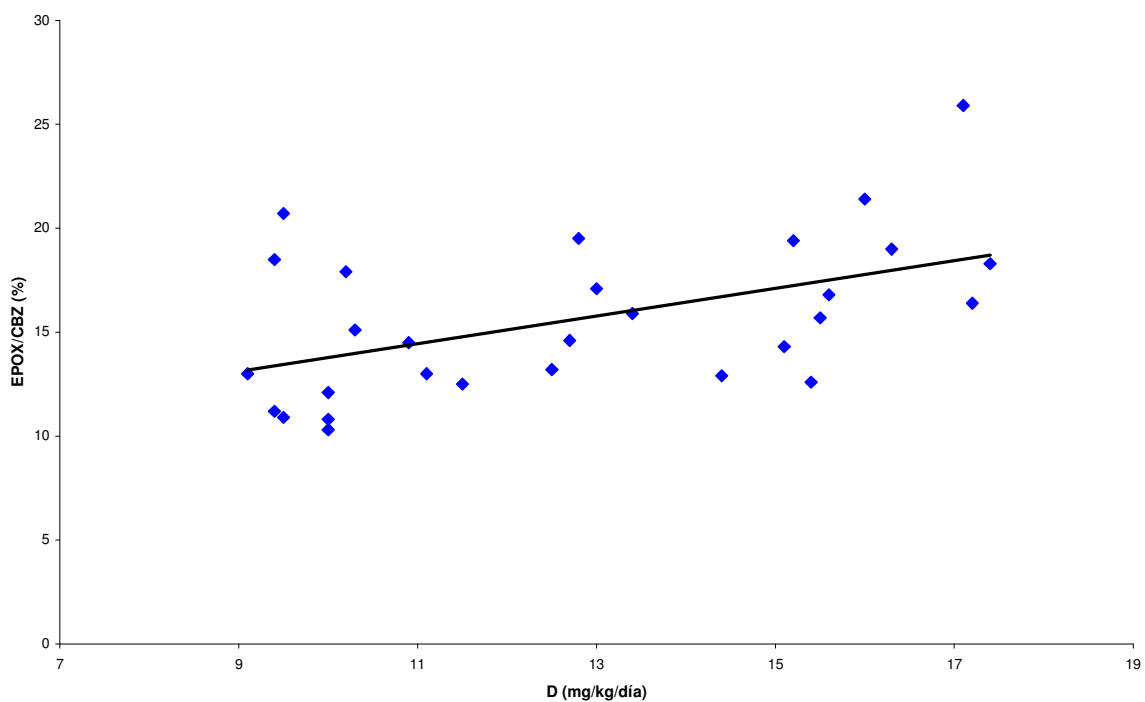


Figura 5.6 COCIENTE METABÓLICO vs DOSIS DE CARBAMACEPINA.NIÑOS



Como el gráfico EPOX/CBZ–D en niños revela pendiente e intercepción no diferentes a las obtenidas en adultos, todos los datos plasmáticos se agruparon (adultos más niños) dando la siguiente regresión lineal y estadísticos:

$$\text{EPOX/CBZ} \times 100 = 0.36 (\pm \text{error standard} = 0.08) \times D + 10 (\pm \text{error standard} = 1)$$

$$n=69, r=0.476, F^1_{67}=19.6 (p<0.001)$$

la Figura 5.7 muestra la correlación entre el cociente de concentraciones EPOX/CBZ (cociente metabólico) versus D.

Tabla 5.1. Pacientes tratados con CBZ en monoterapia, adultos. Resultados experimentales.

<i>Edad (años)</i>	<i>Sexo</i>	<i>Dosis (mg/kg/día)</i>	<i>[CBZ] (mg/L)</i>	<i>[EPOX] (mg/L)</i>	<i>[EPOX]/[CBZ] (%)</i>
14	F	20.0	7.1	1.58	22.3
15	F	7.1	8.5	0.85	10.0
15	F	14.5	3.3	0.5	15.0
16	M	6.6	5.1	0.5	9.8
16	F	11.2	6.4	0.68	10.7
16	F	30.0	8.9	1.82	20.4
16	M	6.2	3.4	0.46	13.4
17	F	14.3	8.3	1.54	18.5
18	F	3.3	3.2	0.55	17.1
18	F	15.4	10.9	1.6	14.7
18	M	18.2	7.3	1.04	14.3
18	M	6.7	5.4	0.66	12.3
18	F	15.0	7.7	1.39	18.0
19	M	6.7	4.4	0.42	9.5
20	M	26.7	8.1	1.3	16.1
21	M	23.0	11.0	2.34	21.3
24	F	13.3	3.5	0.44	12.7
24	F	9.1	6.2	0.69	11.2
24	F	12.0	5.2	0.68	13.0
25	F	5.9	4.3	0.93	21.8
25	F	24.0	11.1	2.31	20.8
27	F	25.0	9.1	1.12	12.3
30	F	12.3	6.2	1.36	22.0
30	F	8.0	6.5	0.83	12.8
31	F	12.5	6.2	0.9	13.6
32	F	11.8	6.6	0.83	12.5
33	F	22.6	10.5	1.17	11.1
33	F	5.4	2.4	0.18	7.4
36	F	6.7	7.0	0.65	9.3
36	M	4.7	6.5	0.4	6.2
41	F	10.5	7.2	0.86	12.0
41	F	14.0	8.5	1.27	14.9
41	F	10.5	4.9	0.7	14.2
43	M	11.4	7.2	1.11	15.4
43	M	13.3	5.6	1.1	19.6
44	M	11.4	6.8	0.88	12.9
44	F	17.5	6.0	1.3	21.7
44	F	21.7	8.5	1.52	17.9
44	F	15.4	3.8	0.69	18.1
47	M	11.8	7.4	1.09	14.7

Tabla 5.2. Pacientes tratados con CBZ en monoterapia, niños. Resultados experimentales.

<i>Edad (años)</i>	<i>Sexo</i>	<i>Dosis (mg/kg/día)</i>	<i>[CBZ] (mg/L)</i>	<i>[EPOX] (mg/L)</i>	<i>[EPOX]/[CBZ] (%)</i>
10	M	13.4	6.7	1.06	15.9
8	F	9.1	6.1	0.79	13.0
12	F	16.3	6.6	1.25	19.0
12	F	13.0	8.2	1.4	17.1
7	M	15.1	7.4	1.06	14.3
8	M	14.4	4.2	0.54	12.9
12	M	9.4	4.0	0.45	11.2
7	M	15.4	1.5	0.19	12.6
8	F	10.2	3.7	0.66	17.9
8	F	10.3	2.9	0.44	15.1
11	M	10.0	4.5	0.46	10.3
9	F	12.5	4.5	0.6	13.2
6	F	12.7	3.0	0.43	14.6
12	F	10.9	3.1	0.45	14.5
6	M	9.5	3.6	0.74	20.7
12	M	17.1	4.5	1.16	25.9
9	F	9.4	4.0	0.74	18.5
10	M	15.5	4.5	0.7	15.7
13	M	10.0	5.4	0.58	10.8
12	F	11.5	1.4	0.17	12.5
6	F	9.5	2.9	0.32	10.9
12	M	10.0	4.0	0.49	12.1
6	F	16.0	4.4	0.94	21.4
10	M	15.2	3.8	0.63	19.4
10	M	15.6	4.6	0.78	16.8
10	F	11.1	4.1	0.53	13.0
6	F	12.8	2.4	0.47	19.5
12	F	17.2	4.0	0.65	16.4
4	M	17.4	4.7	0.86	18.3

5.4. DISCUSIÓN

La siguiente ecuación explica la relación entre la concentración en estado estacionario de una sustancia X y la dosis administrada (D: dosis):

$$[X]_{ss} = \frac{F_x \cdot D}{CL_x}$$

Siendo F_x la biodisponibilidad de la dosis administrada (como X o como precursor), y CL_x el clearance sistémico de la sustancia.

Los resultados obtenidos confirman la cinética no-lineal de la CBZ. En otras palabras, F_{CBZ}/CL_{CBZ} decrece a medida que aumenta la dosis diaria. En contraste, la linealidad observada para el EPOX ($F_{EPOX}/CL_{EPOX} = \text{constante}$) indicaría que el efecto de heteroinducción de la CBZ sobre el EPOX (*Bernus I. et al., 1996*), es compensado por un aumento en la biodisponibilidad del EPOX.

Algunos investigadores (*Spina E. et al., 1991*) encontraron que la semivida de eliminación del EPOX se reducía en forma importante con la administración concomitante de fenobarbital. Basada en la consideración anterior, el efecto de la inducción enzimática era principalmente sobre el clearance sistémico. Un comportamiento similar debería esperarse con la heteroinducción de la CBZ sobre la degradación del EPOX (*Bernus I. et al., 1996*) y consecuentemente el incremento de la biodisponibilidad del EPOX debería ser importante de manera de compensar y obtener un clearance aparente constante.

El modelo mostrado en la Figure 5.8 resume en una forma simple la probable absorción y disposición de la CBZ y el EPOX. Este modelo sugiere dos vías de formación del EPOX a partir de la CBZ: a) presistémica y b) sistémica. Si esto es asumido, de acuerdo a la información aportada en la Introducción de este capítulo, que en monoterapia $F_{CBZ} = 0.7$ y $F_{EPOX} = 0.4$ (un promedio de 30 y 50% de biodisponibilidad), podemos concluir que la formación sistémica de EPOX representa solo un 10% de la dosis de CBZ.

Noventa por ciento de nuestros cocientes metabólicos fueron obtenidos con dosis comprendidas entre 6 y 23 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$. De acuerdo a la regresión lineal experimental, cocientes metabólicos borderline serían de 12 y 18 %. En otras palabras, el cociente metabólico se mueve desde un valor a otro 50% mayor mientras la dosis incrementa desde 6 to 23 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$. Asumiendo que para la media de la dosis (13 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) F_{CBZ} y F_{EPOX} eran 0.7 y 0.4 respectivamente, sería interesante deducir a partir del modelo la extensión de la biodisponibilidad y el cambio en el clearance sistémico. Para realizar esto, tenemos que considerar que la autoinducción y la heteroinducción operan de igual manera sobre todas las rutas metabólicas de CBZ y EPOX. Esta presunción es posible y confiable teniendo en cuenta lo comentado previamente sobre drogas inductoras como la CBZ

Para lograr un incremento del 50% en el cociente metabólico, como se observó experimentalmente, iteraciones en torno de $F_{CBZ} = 0.7$ fueron ejecutadas manteniendo la fracción del clearance sistémico de CBZ responsable de la formación del EPOX y el cociente entre los clearance sistémicos de CBZ/EPOX constante. De aquí que, F_{CBZ} debiera haberse movido de 0.75 a 0.65 y consecuentemente F_{EPOX} de 0.35 a 0.45.

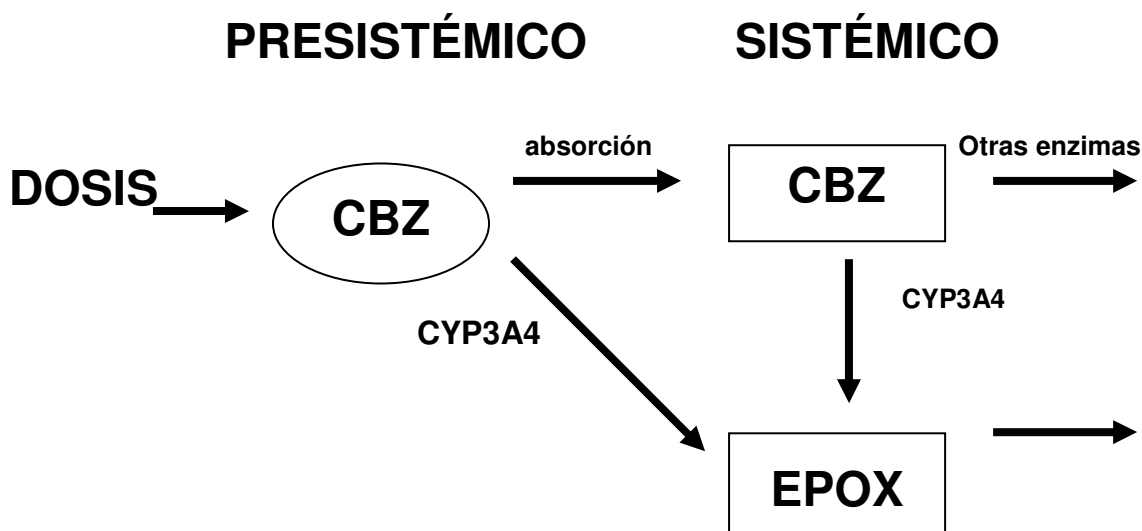


Figura 5.8. Diagrama del modelo para describir la formación sistémica y presistémica del EPOX.

Considerando los resultados de esta iteración y las suposiciones arriba mencionadas, CL_{EPOX} y CL_{CBZ} debería haber aumentado un 28 % ($[0.45/0.35 - 1] \times 100$). Por lo tanto, la autoinducción del metabolismo de la CBZ durante el tratamiento prolongado en monoterapia implica no solo un incremento en el clearance sistémico (estimado en un 28%), pero también una reducción en biodisponibilidad (estimada en un 13%, $[1 - 0.65/0.75] \times 100$).

Otro resultado de este estudio fue un clearance aparente aumentado de CBZ y del EPOX en niños en comparación con la población adulta. Como las dosis diarias de CBZ fueron similares para ambos grupos (adultos y niños), así como los cocientes metabólicos, se esperaba que el clearance aparente más alto observado pudiera ser atribuido a diferencias en el clearance sistémico pero no en la biodisponibilidad.

Esta presunción está apoyada por la anatomía de los niños. Comparado a los adultos, la masa muscular en los niños es menor en relación con el tamaño del hígado y la región esplácnica. En otras palabras, la relación entre los órganos metabolizadores y la masa corporal es mayor en niños. Nosotros no creemos, en una mayor capacidad metabólica (más actividad enzimática o más contenido de enzimas) por masa de órgano metabolizador o en una alteración del patrón metabólico de la CBZ en esta franja etaria. Lo último debería ser más complicado de evaluar teniendo en cuenta la pequeña diferencia de edad entre ambos grupos (promedio de 9 y 28 años en niños y adultos respectivamente). Además un mayor metabolismo presistémico debería haber arrojado diferentes cocientes metabólicos en comparación con los adultos.

La autoinducción y heteroinducción de la CBZ no parecen estar relacionada con la concentración sistémica de la droga. No se encontró correlación entre el cociente metabólico y la concentración plasmática de CBZ para niños y adultos. Por lo tanto, la cantidad de CBZ que invade el enterocito y hepatocito luego de cada administración

debería ser responsable del proceso de inducción, sin correlación con la concentración sistémica pero si con la dosis.

En suma, nuestro estudio confirma la autoinducción metabólica con la administración crónica de CBZ y provee más elementos para sustentar una fuerte contribución de biodisponibilidad dosis-dependiente, además del clearance sistémico en la cinética no lineal de CBZ.

Finalmente, quisiéramos expresar algunos breves comentarios relacionados con el control de calidad farmacéutico y procedimientos regulatorios. Debido a la biodisponibilidad incompleta de la CBZ, ya reportado por diferentes investigadores, y por todo lo inferido en nuestros resultados experimentales, debería ser incorrecto continuar clasificando a la CBZ como una droga altamente permeable (biodisponibilidad >90%) de acuerdo al sistema de clasificación biofarmacéutico (*Amidon G.L. et al., 1995*)

CAPÍTULO 6

NIVELES SALIVALES DE ÁCIDO VALPROICO EN NIÑOS CON MONOTERAPIA ANTIEPILEPTICA

6.1 INTRODUCCIÓN

El DPA es un fármaco ampliamente utilizado por su espectro de actividad frente a distintos tipos de crisis epilépticas (crisis de ausencias, parciales simples y complejas, crisis generalizadas convulsivas, mioclonias, etc.), además de su frecuente aplicación en cuadros psiquiátricos. Si bien su espectro de actividad es amplio, un hecho a destacar, es la hepatotoxicidad que produce sobre todo en la población infantil lo que constituye un riesgo particular.

Debe reconocerse que cuando se compara el DPA con otros fármacos antiepilépticos, se posee poca información en lo que respecta a la disposición del mismo.

Es un fármaco altamente unido a las proteínas plasmáticas: albúmina (90 a 95%) y se elimina casi en su totalidad por el sistema citocromo P-450 hepático.

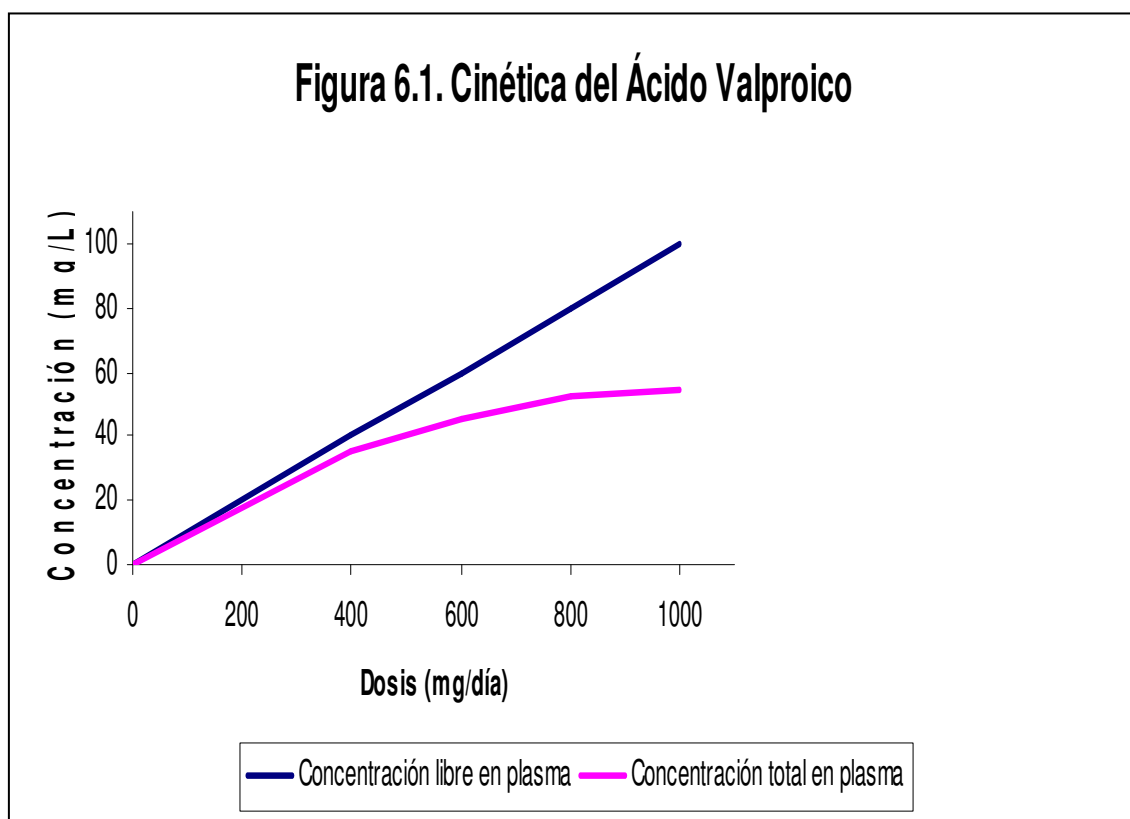
Presenta una cinética no lineal (ver Figura 6.1) debido a saturación de su unión a las proteínas plasmáticas (UPP), hecho que se constata a concentraciones terapéuticas, resultando que a medida que se aumenta la dosis se aumenta en forma no proporcional la concentración total y la fracción libre .

Por ejemplo: el porcentaje libre es de 10% cuando la concentración plasmática es aproximadamente de 40 mg/L, mientras que para una concentración plasmática de alrededor de 130 mg/L el porcentaje libre es de 18.5%. (*Cloyd J.C. & Leppik Ll.E., 1981*).

Sí se grafica la concentración plasmática libre en estado estacionario versus la dosis total diaria (mg/kg/día), la curva que se obtiene es tal que la pendiente (F/Cl_{libre} , siendo Cl_{libre} : el clearance de la droga libre circulante en plasma) es constante, o sea, la relación es lineal. (Figura 6.1)

Un aumento circunstancial de la concentración libre que se produce por aumento de dosis rápidamente se distribuye a los tejidos y se elimina de tal forma que la relación concentración libre versus dosis se mantendrá lineal e independiente de la fracción libre de droga (*Fagiolino P, 1999a*).

El monitoreo de drogas en saliva ha sido desaconsejado para el DPA debido a la variabilidad del cociente saliva/plasma (S/P). Esta variabilidad, es debida principalmente, a la variable unión a las proteínas plasmáticas del DPA y al variable pH salival



El pH salival varía normalmente entre 6.5 y 7.2 (*Matin S.B. et.al, 1974; Huffman D.H., 1975*), a pesar de que puede ser extendido de 5.8 a 7.1 (*Fagiolino, P, 1999b*) o a 5.9 a 7.8 (*Schmidt-Nielsen B., 1946*) mientras que el pH plasmático es 7.4.

Sí se estimula la salivación, el pH de la glándula salival difiere menos entre los pacientes, además trabajando con la saliva estimulada el pH salival y la concentración salival de droga, son similares al pH plasmático y a la concentración libre plasmática de droga en estado estacionario respectivamente. De esta manera, se disminuye la variabilidad interindividual y se aumenta la reproducibilidad de las mediciones de DPA en saliva.

6.2 METODOLOGÍA

Los sujetos seleccionados para este trabajo eran niños epilépticos (edad: 1 a 13 años), pacientes provenientes de la Policlínica de Neuropediatría del Centro Hospitalario Pereira Rossell, que fueron monitorizados rutinariamente en la UMM del Hospital de Clínicas, en un periodo de tres años.

Estos pacientes debían estar tratados con DPA, en monoterapia antiepiléptica y en estado estacionario con una posología propuesta por el médico tratante.

La obtención de la saliva estimulada, se realizó por el agregado de unos cristales de ácido cítrico sobre la lengua por un tiempo no mayor a tres minutos. La muestra debía ser obtenida en condiciones de predosis matinal del fármaco. Una vez colectada la muestra salival, era conservada en el freezer a -20 °C. Al momento del análisis, la

muestra era descongelada y centrifugada. El sobrenadante se procesó en un analizador por inmunofluorescencia de luz polarizada (FPIA, TDx Abbott Laboratories), de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

6.3 RESULTADOS

Para la validación de este método analítico se utilizaron los criterios de validación para el análisis de fluidos biológicos:

- Linealidad: obtenida desde 1mg/L (Límite de Cuantificación, LOQ) a 12.5 mg/L (coincidente con la concentración plasmática del calibrador B para TDx).
- Precisión (CV) y Exactitud (bias relativo): 4 – 8- 10 y 16% para 8.0 – 4.0 – 2.4 y 1.2 mg/L respectivamente.

Inicialmente se estudiaron cerca de 300 pacientes epilépticos, en un periodo de tres años (en la UMM, se monitorizaba asistencialmente en saliva dos días a la semana), pero solo treinta y cinco estaban tratados con DPA en monoterapia, de los cuales treinta y uno, presentaron niveles salivales mayores al LOQ.

Los pacientes que no presentaban control de sus crisis, fueron monitorizados varias veces, para tratar de lograr un ajuste posológico en el cual, experimentarían una mejora clínica. Sus concentraciones de DPA, mostraron un CV = 40%, que podría ser explicado por el variable tiempo transcurrido entre la última dosis ingerida y el momento de la obtención de la muestra, y por cambios en la distribución de la dosis diaria cuando el ajuste posológico era llevado a cabo.

En la mayoría de los pacientes incluidos en este estudio, la dosis total diaria, fue distribuida en tres dosis al día.

Los resultados pueden observarse en las siguientes figuras:

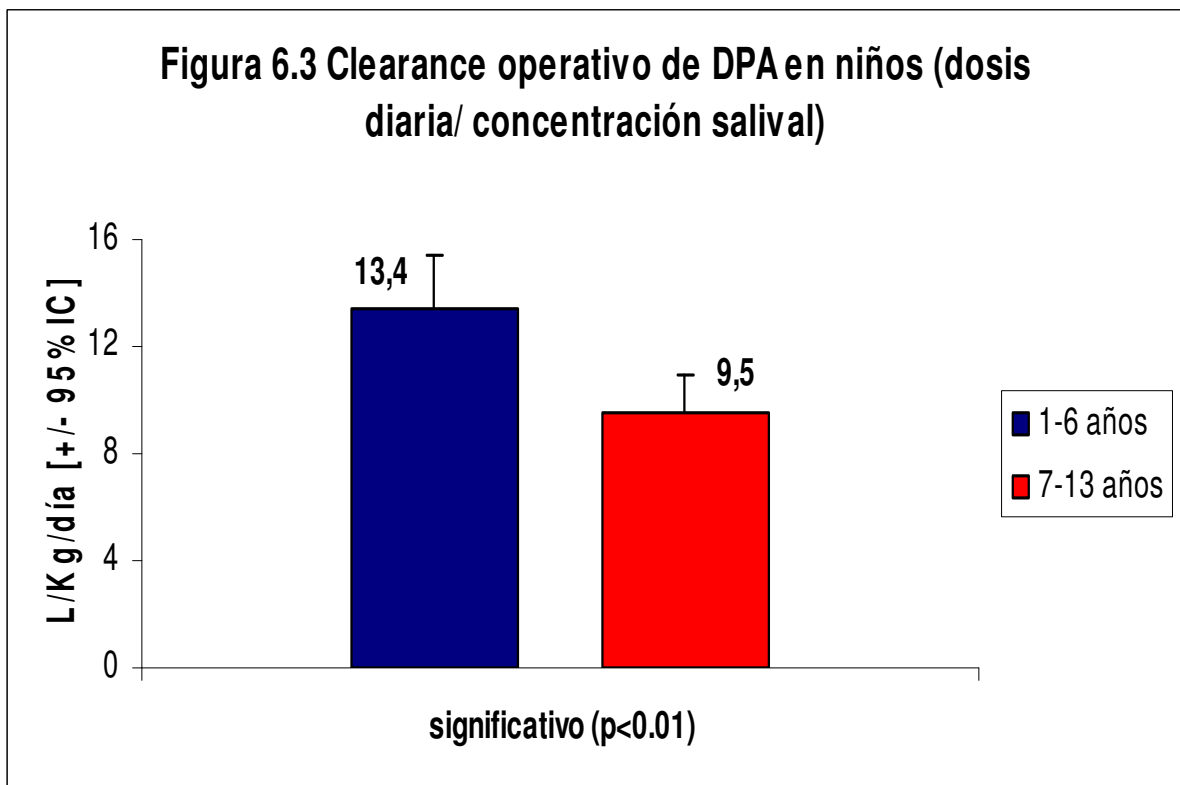
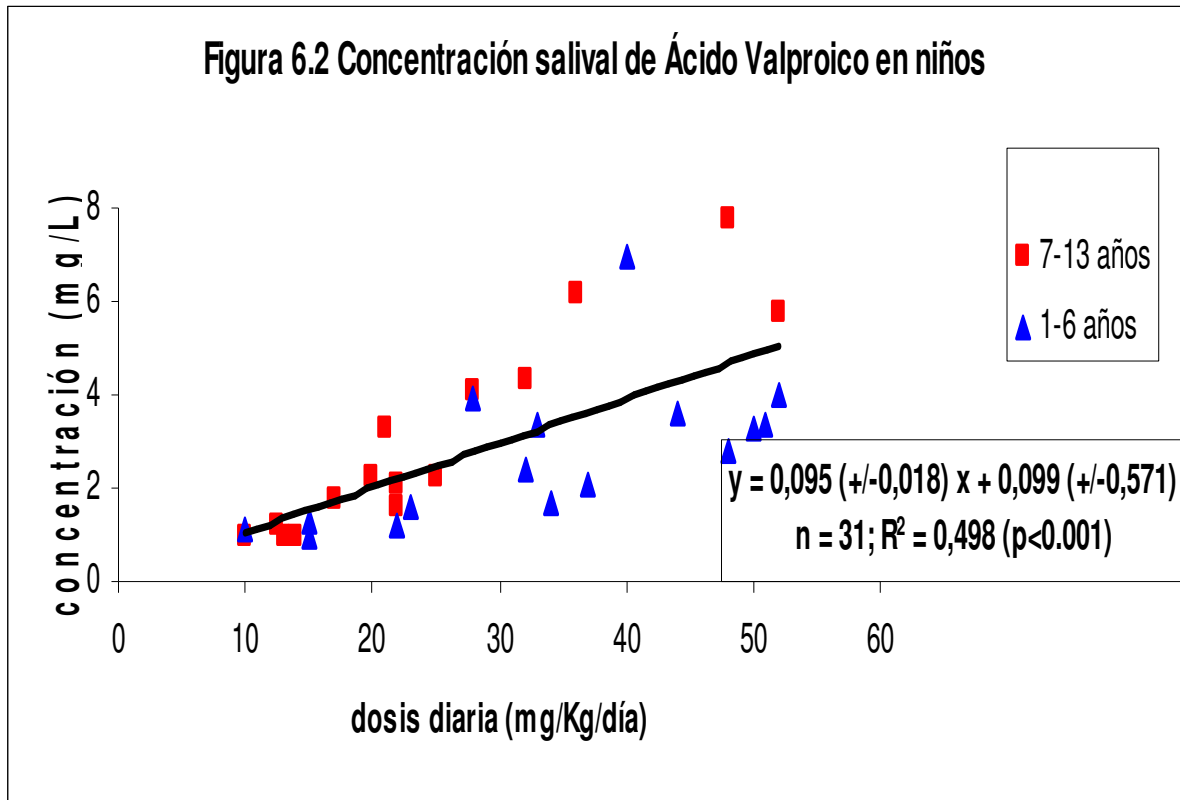


Figura 6.4 Concentración salival de Ácido Valproico en niños

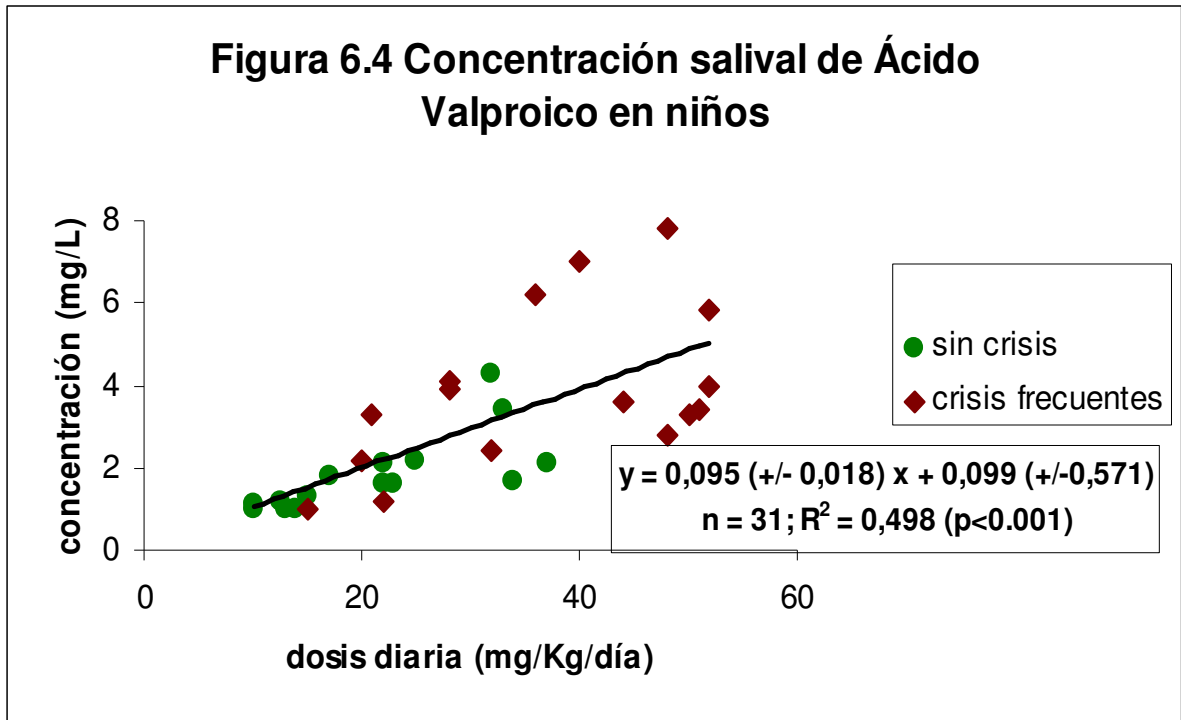
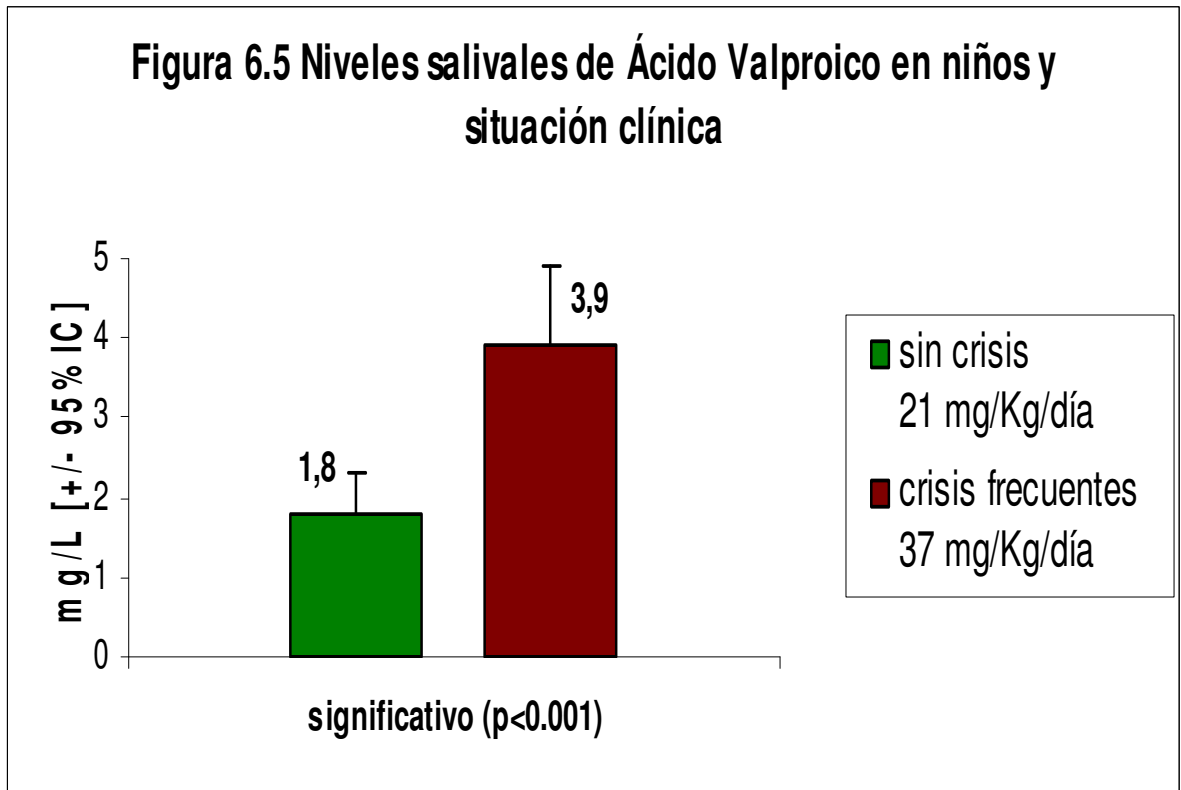
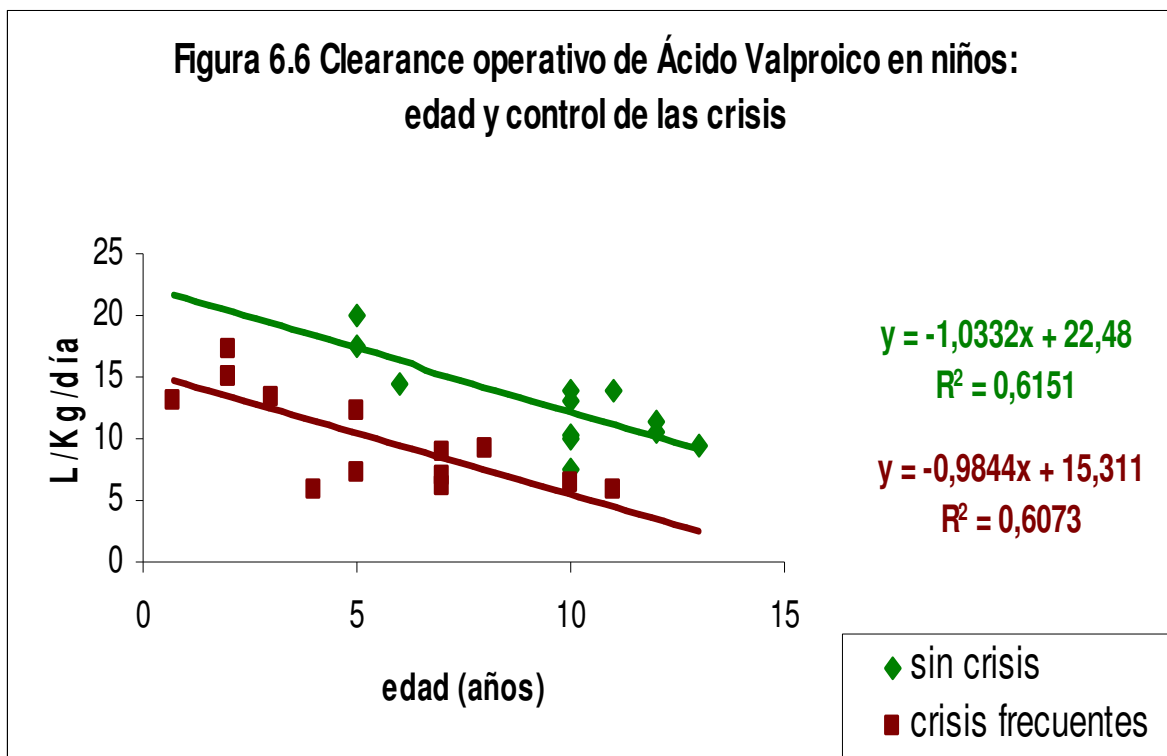


Figura 6.5 Niveles salivales de Ácido Valproico en niños y situación clínica





6.4 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De la Fig. 6.2, se puede observar que existe una relación lineal entre las concentraciones salivales de DPA y la dosis diaria, como ya se ha referenciado previamente para los niveles libres plasmáticos.

Una vez obtenidos los niveles salivales de DPA, se calculó el clearance, llamado clearance operativo como el cociente entre la dosis diaria y los niveles salivales de DPA.

De la Fig. 6.3, se desprende que los clearances salivales de DPA decrecen con la edad de los niños, lo cual es coherente, ya que el tamaño de los órganos en relación al tamaño corporal, como por ejemplo, el hígado, es mayor en niños más pequeños, por lo que la concentraciones serían más bajas y por consiguiente los clearances más elevados.

Sí se observan los gráficos de las Fig. 6.2 y Fig. 6.4, son la misma curva, pero en la Fig.6.4, se compara sí los pacientes presentan control de sus crisis o por sí el contrario presentan crisis frecuentes. Además en la Fig. 6.5, se puede apreciar que la media de la dosis diaria de DPA para el grupo de niños controlados es de 21 mg/kg/día, mientras que el grupo con crisis frecuentes, la media de la dosis diaria es de 37 mg/kg/día, representa un incremento del 76.2%. Debería esperarse el mismo comportamiento para las concentraciones, pero en cambio la media de los niveles salivales de DPA para el grupo de pacientes con crisis muestra un incremento de un 116.7%, respecto al grupo de

pacientes controlados. Entonces, cuando se tiene en cuenta la situación clínica de los pacientes, la relación concentración – dosis, se vuelve no lineal.

Se obtuvieron niveles salivales más elevados de DPA, en pacientes en los cuales el no control de las crisis era frecuente.

La Fig. 6.6, resulta como consecuencia de las anteriores.

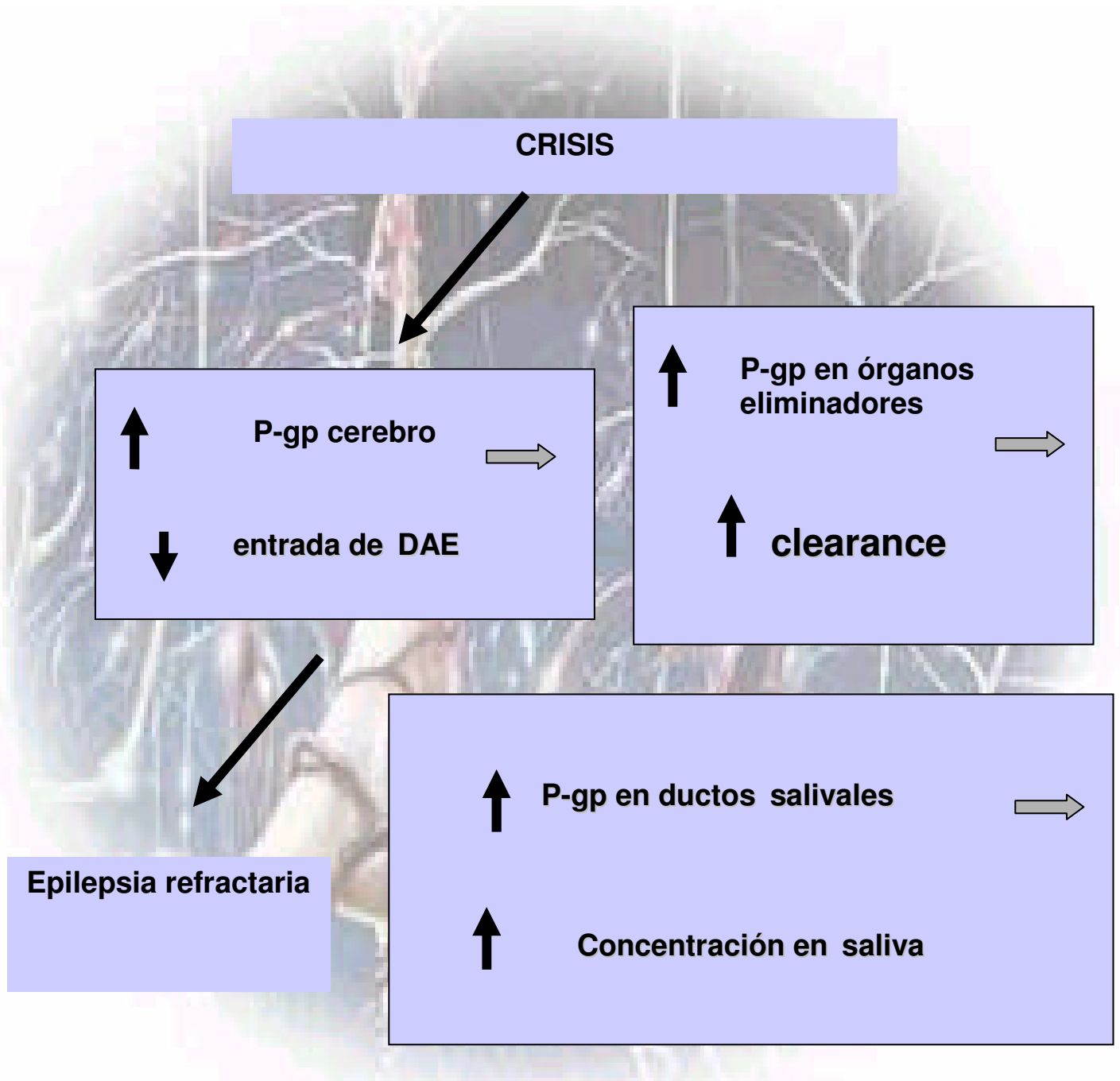
Considerando ambas: la media en la edad de 6 años y la media en la dosis diaria de 30 mg/kg/día, debería esperarse que la concentración salival de DPA aumentara dos veces en niños en los cuales las crisis son frecuentes (diarias o semanales) en relación con el grupo de niños sin crisis. Se ha postulado que la epilepsia refractaria, podría estar asociada con una sobre-expresión de los transportadores de eflujo (*Lazarowski, A. et al. 2006*). Si los transportadores se sobre-expresan a todo nivel, se estaría dando lo que se esquematiza en la Figura 6.7: niveles más bajos en el sitio de acción y niveles plasmáticos más bajos ya que aumentaría el clearance de las drogas anticonvulsivantes al ser sustratos de estas bombas de eflujo. ¿Qué pasaría entonces con los niveles salivales?

Ya han sido descritos transportadores de eflujo (P-glicoproteína, y otras proteínas) a nivel del conducto salival, así como fármacos que pasarían a saliva por medio de los mismos como: Ciclosporina A, Digoxina, Metadona, (*Uematsu T. et al., 2001; Drozdzik M. et al., 2004; Shiran M.R. et al., 2005; Bartnicka L. et al. 2007*) ¿No podría esperarse entonces lo mismo con DPA?

Sí esta hipótesis es la correcta ¿sería la glándula salival un lugar dónde estos transportadores de eflujo se sobre-expresan cuando estamos ante una epilepsia refractaria?

Si esta situación es real entonces los niveles salivales de DPA se incrementarían (ver Figura 6.8, representado con una flecha verde) y en el cerebro (o en el sitio de acción) deberían decrecer y en consecuencia en los pacientes aumentaría la frecuencia de las crisis.

Figura 6.7. Esquema de la acción de la P-glicoproteína sobre las drogas antiepilépticas, en el sitio de acción en la Epilepsia Refractaria



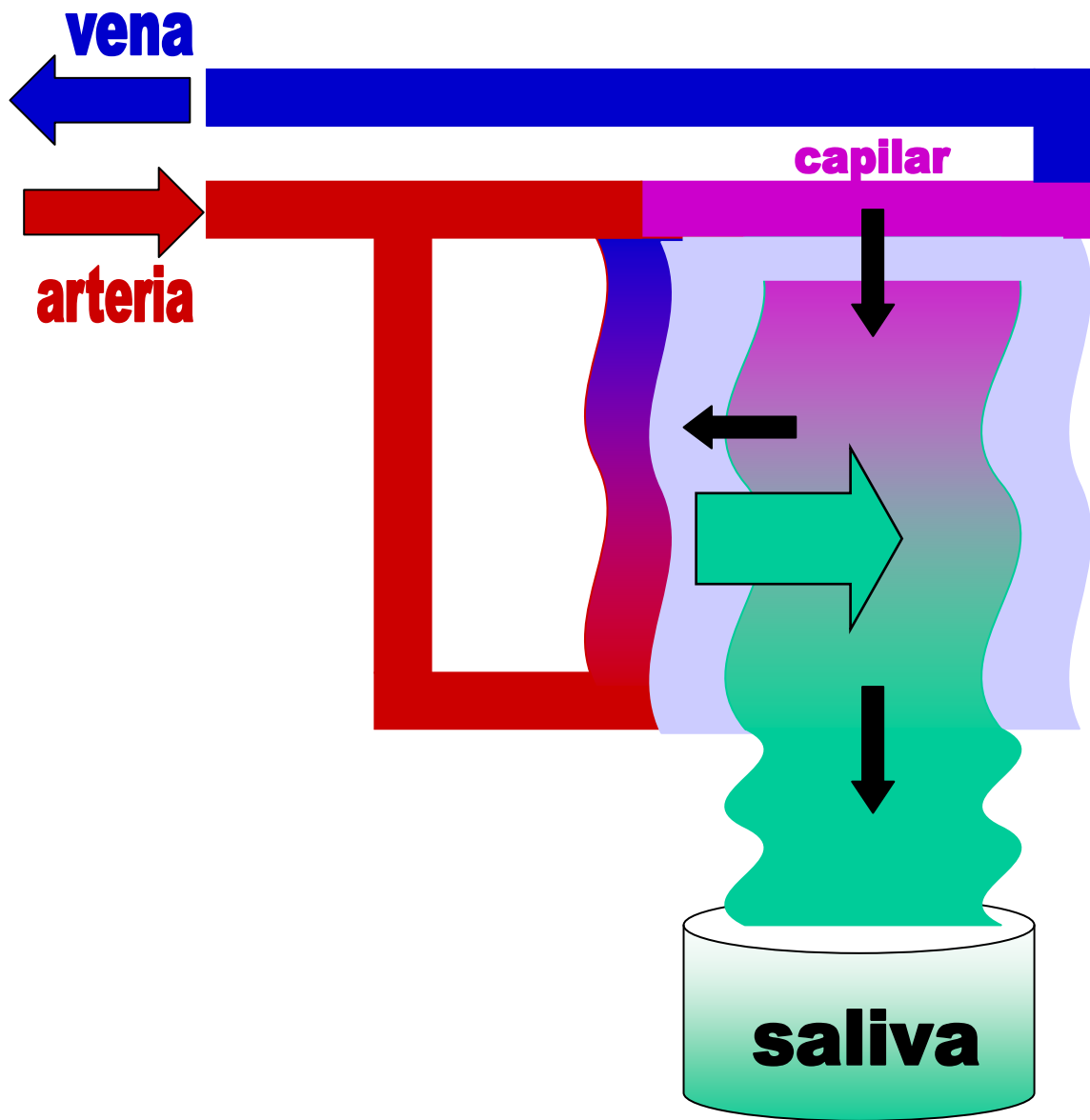


Figura 6.8. Mecanismo de difusión de DPA en la saliva

CAPÍTULO 7

ESTUDIO EN NIÑOS DE LA CONCENTRACIÓN LIBRE DE ACIDO VALPROICO Y SU RELACIÓN CON SALIVA

7.1 INTRODUCCIÓN

Cuando habitualmente se realiza el monitoreo terapéutico de fármacos o drogas, se parte de muestras sanguíneas y las determinaciones se hacen en suero o plasma, por lo que se está midiendo la concentración de droga total, la unida a las proteínas plasmáticas más la libre (o no unida a las proteínas plasmáticas), o sea que el resultado que se estaría obteniendo no es la verdadera concentración que llega al sitio de acción, a la biofase.

Existen diferentes métodos para la obtención de droga libre circulante en plasma siendo uno de ellos mediante ultrafiltración refrigerada del plasma, ver en 7.2.

El método de obtención utilizado para esto es costoso, por lo que no forma parte del equipamiento común en un laboratorio donde se realiza el Monitoreo Terapéutico de Fármacos.

Por lo que sería de interés lograr comparar las concentraciones plasmáticas totales de droga, las concentraciones de droga libre en plasma y las concentraciones salivales de droga, si se lograra correlacionar las concentraciones de droga libre circulante en plasma con las salivales, entonces se podría decir que la saliva es el fluido biológico de elección para la medida de la concentración de droga, siendo un método de bajo costo.

En el capítulo anterior, en la sección 6.1, se menciona la variabilidad del pH salival en comparación con el pH plasmático y la variable unión a las proteínas plasmáticas del DPA.

Pero cuando se estimula la salivación el pH se estabiliza y se hace más constante y difiere menos entre los pacientes.

Si las drogas difundieran a saliva en forma pasiva, los factores determinantes para la excreción salival son la lipofilidad y el grado de ionización de la droga. El último depende del pKa de la droga y su relación con el pH salival y plasmático.

La relación saliva/plasma (S/P) está descrita por la ecuación de Henderson y Hasselbach como sigue:

$$S/P = \left[\frac{1 + 10^{(pH_{saliva} - pK_a)}}{1 + 10^{(pH_{plasma} - pK_a)}} \right] \times \frac{f_p}{f_s}$$

Donde f_p y f_s se refieren a las fracciones no unidas en plasma y saliva respectivamente.

7.2 METODOLOGÍA

Los sujetos incluidos en este estudio, eran pacientes epilépticos, provenientes de la Policlínica de Neuropediatria del Centro Hospitalario Pereira Rossell (CHPR), que se monitorizaban rutinariamente en la UMM del Hospital de Clínicas y niños epilépticos y psiquiátricos tratados en las Policlínicas de Neuropediatria y Psiquiatria Infantil del Banco de Previsión Social (BPS), que se monitorizaban en el Laboratorio de Análisis Clínicos del BPS. Las muestras de estos últimos pacientes seleccionados, se volvían a procesar en la UMM.

Estos pacientes debían estar en monoterapia antiepiléptica con DPA, y en estado estacionario (ss) con la posología propuesta por el médico tratante.

Se diseñó el siguiente plan de trabajo:

- A la semana de empezar el tratamiento, se le extrae a este paciente, una muestra en sangre (por punción de la vena antecubital) y otra en saliva a predosis
- La muestra salival se obtiene por estimulación con ácido cítrico. Ambas muestras (saliva y plasma) se conservan a -20°C previo a su análisis.
- De la sangre se obtiene plasma y ultrafiltrado del plasma por medio de ultrafiltración refrigerada a $25 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ (en una centrífuga refrigerada, modelo 3K 18 Sigma con adaptador para sistema Centrifree Millipore (Amicon) para ultrafiltración).
- La muestra salival, el ultrafiltrado y el plasma, se analizan por inmunofluorescencia de luz polarizada (FPIA, TDx Abbott Laboratories).

La validación del método analítico para DPA en saliva, se discutió en el Capítulo anterior, sección 6.3.

En cuanto al ultrafiltrado de plasma, se utilizó la curva de calibración y demás datos analíticos proporcionados por Abbott.

7.3 RESULTADOS

Los resultados de niveles de DPA en plasma, ultrafiltrado de plasma y saliva así como el pH salival obtenido de la ecuación de Henderson y Hasselbach expuesta en la introducción se observan en la Tabla 7.1

Tabla 7.1 Niveles de DPA en plasma, ultrafiltrado de plasma y saliva en niños en monoterapia

<i>Dosis (mg/día)</i>	<i>[DPA]plasma (mg/L)</i>	<i>[DPA]ult (mg/L)</i>	<i>[DPA]saliva (mg/L)</i>	<i>S/P</i>	<i>ULT/P</i>	<i>UPP (%)</i>	<i>pHs</i>
480	41.5	4.9	1.5	0.036	0.118	88.2	6.88
600	87.5	11.0	3.7	0.042	0.126	87.4	6.92
600	72.7	20.3	6.3	0.087	0.279	72.1	6.89
600	39.7	5.6	1.4	0.035	0.141	85.9	6.79
600	60.8	6.5	3.4	0.056	0.107	89.3	7.11
750	101.9	20.6	7.8	0.077	0.202	79.8	6.98
750	58.4	9.3	3.8	0.065	0.159	84.1	7.01
750	80.9	10.6	4.1	0.051	0.131	86.9	6.99
800	59.4	9.7	2.1	0.035	0.163	83.7	6.73
1000	65.6	9.1	2.8	0.043	0.139	86.1	6.89
1250	116.1	12.4	4.5	0.039	0.107	89.3	6.96
Medias				0.051	0.152	84.8	6.92
DE				0.018	0.050	5.0	0.10

Siendo:

[DPA] = Concentración de DPA

ult = ultrafiltrado de plasma

S/P = relación saliva/plasma

ULT/P = relación ultrafiltrado de plasma/plasma

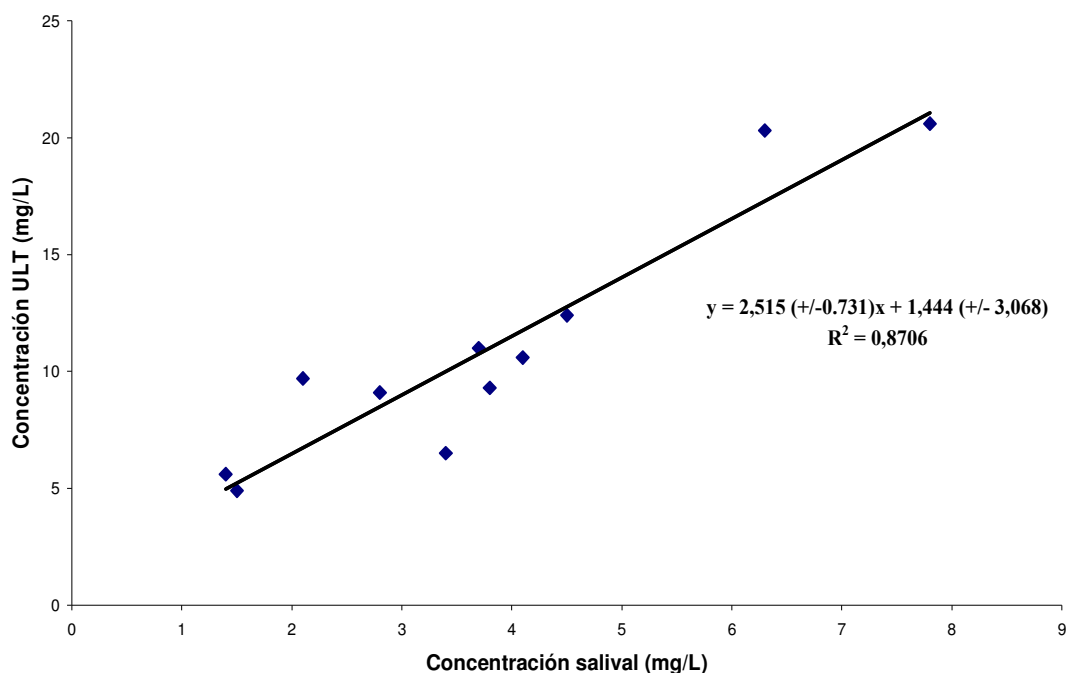
UPP = unión a las proteínas plasmáticas

pHs = pH salivales

DE = desviación standard

Se graficó la concentración de DPA en ultrafiltrado versus la concentración de DPA en saliva (Figura 7.1).

FIGURA 7.1 CONCENTRACIÓN DE DPA EN ULTRAFILTRADO DE PLASMA VERSUS CONCENTRACIÓN DE DPA EN SALIVA



7.4 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De la Tabla 7.1, a pesar del bajo número de pacientes, se puede observar que hay diferentes fracciones libres de DPA, entre los diferentes sujetos.

En la Fig. 7.1, se puede apreciar, que existe una relación lineal entre la concentración de DPA en ultrafiltrado de plasma, o sea droga libre circulante en plasma y la concentración salival de DPA. O sea que la saliva podría ser buen indicador del ultrafiltrado.

A su vez, se puede observar que la relación S/P es siempre menor que la relación ULT/P debido al grado de ionización del DPA con su pKa de 4.8.

El cálculo de pH salival usando la ecuación podría no ser del todo correcto de acuerdo a lo expuesto ya que considera sólo difusión pasiva de droga a saliva y como expusimos anteriormente en otros capítulos de la tesis el DPA es sustrato de transportadores de eflujo y por lo tanto esta ecuación no sería del todo válida. Aún así, parecería ser que la estimulación con cítrico es buena para disminuir la variabilidad de pH.

CAPÍTULO 8

EDUCACIÓN EN EPILEPSIA

8.1 INTRODUCCIÓN

En el año 2002 se realizó el evento “**e(ur)eka**¹ Uruguay, innovación, ciencia y tecnología para crear el futuro”, proyecto concebido inicialmente por el Poder Legislativo y las Facultades de Ciencias y de Ingeniería de la Universidad de la República, a las que luego se sumaron otros organismos públicos y privados vinculados a la innovación, la ciencia y la tecnología. Dentro de los organizadores se cita a la Cámara de Industrias del Uruguay, Dirección Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (DINACYT) –Ministerio de Educación y Cultura, Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Ministerio de Industria, Energía y Minería, Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA), Universidad de la República.

Nuestro grupo de investigación presentó al mismo los resultados obtenidos hasta ese momento del Proyecto C.S.I.C. “*Monitoreo en saliva de las drogas antiepilépticas en pacientes con epilepsias de difícil control. Aplicación de la Historia Computarizada de Epilepsia*”, dirigido por el Prof. Dr. Raúl Ruggia, ex - catedrático de la Cátedra de Neuropediatría, Facultad de Medicina, y co-dirigido por el Prof. Dr. Pietro Fagiolino y la Prof. Agregada Dra. Marta Vázquez de la Cátedra de Farmacología y Biofarmacia de la Facultad de Química.

Resultando nuestro trabajo seleccionado para ser exhibido en el salón “De Los Pasos Perdidos” del Palacio Legislativo.

Dado que los visitantes al evento, eran fundamentalmente alumnos del sistema educativo (primario y medio) y público en general, el formato de exhibición (presentación unitaria, ambientación general, información brindada al público, etc.) debía adecuarse a éste público objetivo. La comunidad científica y tecnológica y los sectores directamente interesados (autoridades, empresarios, industriales, etc.) dispondrían además del ámbito académico (conferencia) y catálogo para el intercambio con los expositores.

Dentro del marco de **e(ur)eka**¹, se trató el tema de Educación en Epilepsia.

8.2. TÍTULO DEL TRABAJO

“Avances tecnológicos en el control de la población afectada por la epilepsia. Investigación sobre el monitoreo en saliva de los fármacos antiepilépticos y uso de la informática (Historia Computarizada de Epilepsia). Proyecto C.S.I.C. Trabajo multidisciplinario: Química, Ingeniería en Computación y Medicina.”

8.3. NOMBRE/S DEL/LOS AUTORES

Dr. Raúl Ruggia. Médico.
Dr. Pietro Fagiolino. Químico Farmacéutico.
Dra. Marta Vázquez. Químico Farmacéutico.
Q.F. Ivette Olano. Químico Farmacéutico.
A/P. Flavia Serra. Analista en Computación.
Dra. Mercedes Castro. Médico.

8.4. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO

Uno de los problemas más importantes que intenta resolver este proyecto, es el manejo de la información clínica y paraclínica (habitualmente abultada) que registran los pacientes epilépticos, permitiendo un fácil y ordenado acceso a la documentación, en cualquier momento de la evolución. Las soluciones pasan por la confección de la Historia Computarizada de Epilepsia.

El otro aspecto trascendente a la consulta de la información por parte del terapeuta, es contar allí con elementos que relacionen con el menor grado de incertidumbre las acciones farmacoterapéuticas con las observaciones clínicas de la evolución de los pacientes. Aquí, la utilización de concentraciones salivales de fármacos cuenta además de ventajas éticas, económicas y prácticas, de un sustento teórico que permite monitorear más estrechamente el nexo entre las acciones de los medicamentos y sus efectos farmacológicos.

Afecta positivamente la calidad de vida de un importante número de ciudadanos, ya que se puede evaluar y planificar mejor la eficacia de los tratamientos. Desde el punto de vista de las Instituciones aplicadas al Área de la Salud, estas nuevas tecnologías están dirigidas a mejorar la relación costo/beneficio, con las consecuencias previsibles.

8.5. IMPORTANCIA PARA EL PAÍS Y/O RELACIONAMIENTO CON EL SECTOR PRODUCTIVO

Relacionamiento con el sector productivo: **Empresas pertenecientes al área de la salud:**

- a) Con los laboratorios. Las técnicas de dosificación en saliva (trabajo original) no invasivas (con relación a las punciones venosas), con mayor uso en la población infantil y su costo, es menor.
- b) Con las Instituciones de Asistencia. La Historia Computarizada (investigación original) permite un mejor control de los pacientes epilépticos por posibilitar un acceso rápido a toda la información registrada, que incluye datos de administración y costos.

Importancia para el país:

Afecta positivamente la calidad de vida de un importante número de ciudadanos, ya que se puede evaluar y planificar mejor la eficacia de los tratamientos. Desde el punto de vista de las Instituciones aplicadas al Área de la Salud, estas nuevas tecnologías están dirigidas a mejorar la relación costo/beneficio, con las consecuencias previsibles.

Importancia para la enseñanza en el tema:

Los resultados de este proyecto multidisciplinario (medicina, química e informática) tendrán una indudable repercusión docente en la:

- Formación de químicos farmacéuticos en Farmacocinética Clínica. Realizando tesis de Doctorado en Farmacia en dicha temática.
- Formación de ingenieros en computación en el área de la salud. En el manejo de la Historia Computarizada de Epilepsia.
- Formación de médicos en el tratamiento de las epilepsias. En especial Neuropediatras, que comprendan la importancia del Monitoreo Terapéutico de Fármacos, como herramienta en el tratamiento de los pacientes y de la recopilación de los datos de estos pacientes en la Historia Computarizada de Epilepsia.

Las presentaciones destinadas a la exhibición “Hablemos de la epilepsia” y a la conferencia “Monitorización en saliva de las drogas antiepilépticas en pacientes con epilepsia de difícil control. Aplicación de la historia computarizada de epilepsia”, están en Power Point, las que se pueden observar en el CD que se anexa a esta Tesis.

La presentación de nuestro grupo, se llevó a cabo en un “stand”. En el mismo se colgaron dos pósters (que habían sido presentados en el II Congreso Latinoamericano de Epilepsia, en Brasil en mayo-junio de 2002), uno de ellos trataba sobre la aplicación de la Historia Computarizada de Epilepsia y el restante se titulaba “Saliva Concentrations of Active Metabolites of Carbamazepine and Oxcarbazepine in Epileptic Children”. Además se tenía una computadora para la emisión en forma continua de “Hablemos de la epilepsia”, presentación en Power Point destinada especialmente al público infantil de nivel escolar, dicha presentación explicaba en palabras sencillas de que se trata la epilepsia, seguida de una historieta “Seizure man”, especie “comic” en el cual se mostraba a un niño con una crisis convulsiva y que debía hacerse al respecto. Y terminaba con una presentación similar a un cuento infantil, donde se mostraba las ventajas de la obtención de muestras salivales frente a las sanguíneas para la medición de las concentraciones de las drogas antiepilépticas (DAEs) y la importancia de la recopilación de la información bajo la Historia Computarizada de Epilepsia. En el stand se contaba también con una televisión con video reproductor, donde exhibía un video de

la LUCE (Liga Uruguaya Contra la Epilepsia), educativo realizado por actores, destinado para el público en general. La participación de nuestro grupo duró casi una semana, dentro de la cual, se asignó un día para la Conferencia, en la cual asistió público interesado en la temática y familiares de pacientes epilépticos.

Nuestro trabajo resultó ser uno de los mejores aceptados dentro del público, debido a la animación y al hecho del uso de la saliva como fluido biológico de medición en el laboratorio de las concentraciones de las DAEs, tal es así que se nos hizo una entrevista para un informativo de un canal de televisión abierta.

CAPÍTULO 9

DISCUSIÓN, CONCLUSIONES GENERALES Y PROYECCIÓN DE LA TESIS

9.1 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES DE LA TESIS

A lo largo del trabajo de tesis, se pudo llegar a las siguientes conclusiones, como se puede observar en el Capítulo 4:

- en la mayoría de los casos y cuando no se trata de epilepsia refractaria existe correlación entre los niveles salivales y el estado clínico del paciente. Por lo que es posible, entonces utilizar saliva como fluido para realizar rutinas de determinaciones de concentraciones de fármacos antiepilépticos cuyos fines pueden ser realizar ajustes posológicos o control del cumplimiento del tratamiento. Se observaron efectos tóxicos con concentraciones salivales de DFH superiores a 3.1 mg/L, de FB de 13.1 mg/L, de DPA de 6.3 mg/L y de CBZ y de EPOX de 1.6 mg/L y de 0.57 mg/L respectivamente.
- en el caso de epilepsia refractaria, la monitorización de drogas antiepilépticas, durante un periodo de tiempo prolongado del día, permitió ajustar la dosis de estos fármacos en el lapso de tiempo en el cual se producía algún evento, ya sea patológico (presencia de crisis) o por efectos no deseados del fármaco. Esto presenta una ventaja, frente al aumento total de la dosis diaria dado que la modificación en la dosis, se hace más específica porque se trata de corregir la concentración del medicamento en un periodo de tiempo menor a 24 horas.
- De los pacientes seleccionados, se han destacado MMC, ya que debido a una redistribución del flujo sanguíneo, provocada por un incremento en la actividad física, se produjo un aumento en las concentraciones de CBZ y de su metabolito activo con la consiguiente persistencia en los efectos secundarios.
- En A.D.R. y M.C. (pacientes con epilepsia refractaria) se pudo constatar un aumento en los niveles salivales de DPA superior al incremento en la dosis total diaria de este fármaco.
- En A.D.R., se observó, además, un aumento en la concentración de DFH, que podría explicarse en principio por una redistribución del flujo sanguíneo desde órganos eliminadores hacia el resto del organismo.
- En algunos pacientes, se han presentado interacciones farmacológicas, acompañada de la aparición de efectos no deseados (S.M., S.P.), o con mejoría de sus crisis, como es el caso del paciente G.M. frente al agregado de DPA a su terapia, donde por inhibición del metabolismo del EPOX por parte del DPA, puede haberse presentado control de las crisis por acción del EPOX o por el DPA.

En el Capítulo 5, se puede apreciar:

- Con los resultados obtenidos se confirma la cinética no-lineal de la CBZ. En otras palabras, F_{CBZ}/CL_{CBZ} decrece a medida que aumenta la dosis diaria. En contraste, la linealidad observada para el EPOX ($F_{EPOX}/CL_{EPOX} = \text{constante}$) indicaría que el efecto de heteroinducción de la CBZ sobre el EPOX (Bernus I. *et al.*, 1996), es compensado por un aumento en la biodisponibilidad del EPOX.
- Algunos investigadores (Spina E. *et al.*, 1991) encontraron que la semivida de eliminación del EPOX se reducía en forma importante con la administración concomitante de fenobarbital. Basada en la consideración anterior, el efecto de la inducción enzimática era principalmente sobre el clearance sistémico. Un comportamiento similar debería esperarse con la heteroinducción de la CBZ sobre la degradación del EPOX (Bernus I. *et al.*, 1996) y consecuentemente el incremento de la biodisponibilidad del EPOX debería ser importante de manera de compensar y obtener un clearance aparente constante.
El modelo mostrado en la Figure 5.8 resume en una forma simple la probable absorción y disposición de la CBZ y el EPOX. Este modelo sugiere dos vías de formación del EPOX a partir de la CBZ: a) presistémica y b) sistémica. Si esto es asumido, de acuerdo a la información aportada en la Introducción de capítulo 5, que en monoterapia $F_{CBZ} = 0.7$ y $F_{EPOX} = 0.4$ (un promedio de 30 y 50% de biodisponibilidad), se puede concluir que la formación sistémica de EPOX representa solo un 10% de la dosis de CBZ.
- Noventa por ciento de nuestros cocientes metabólicos fueron obtenidos con dosis comprendidas entre 6 y 23 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$. De acuerdo a la regresión lineal experimental, cocientes metabólicos borderline serían de 12 y 18 %. En otras palabras, el cociente metabólico se mueve desde un valor a otro 50% mayor mientras la dosis incrementa desde 6 a 23 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$. Asumiendo que para la media de la dosis (13 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$) F_{CBZ} y F_{EPOX} eran 0.7 y 0.4 respectivamente, sería interesante deducir a partir del modelo la extensión de la biodisponibilidad y el cambio en el clearance sistémico. Para realizar esto, tenemos que considerar que la autoinducción y la heteroinducción operan de igual manera sobre todas las rutas metabólicas de CBZ y EPOX. Esta presunción es posible y confiable teniendo en cuenta lo comentado previamente sobre drogas inductoras como la CBZ (ver Capítulo 5)
- Para lograr un incremento del 50% en el cociente metabólico, como se observó experimentalmente, iteraciones en torno de $F_{CBZ} = 0.7$ fueron ejecutadas manteniendo la fracción del clearance sistémico de CBZ responsable de la formación del EPOX y el cociente entre los clearances sistémicos de CBZ/EPOX constante. De aquí que, F_{CBZ} debiera haberse movido de 0.75 a 0.65 y consecuentemente F_{EPOX} de 0.35 a 0.45.
- Considerando los resultados de esta iteración y las suposiciones arriba mencionadas, CL_{EPOX} y CL_{CBZ} debería haber aumentado un 28 % ($[(0.45/0.35) - 1] \times 100$). Por lo tanto, la autoinducción del metabolismo de la CBZ durante el tratamiento prolongado en monoterapia implica no solo un incremento en el

clearance sistémico (estimado en un 28%), pero también una reducción en biodisponibilidad (estimada en un 13%, $[1 - 0.65/0.75] \times 100$).

- Otro resultado de este estudio fue un clearance aparente aumentado de CBZ y del EPOX en niños en comparación con la población adulta. Como las dosis diarias de CBZ fueron similares para ambos grupos (adultos y niños), así como los cocientes metabólicos, se esperaba que el clearance aparente más alto observado pudiera ser atribuido a diferencias en el clearance sistémico pero no en la biodisponibilidad.

Esta presunción está apoyada por la anatomía de los niños. Comparado a los adultos, la masa muscular en los niños es menor en relación con el tamaño del hígado y la región esplácnica. En otras palabras, la relación entre los órganos metabolizadores y la masa corporal es mayor en niños. Nosotros no creemos ya sea, en una mayor capacidad metabólica (más actividad enzimática o más contenido de enzimas) por masa de órgano metabolizador o en una alteración del patrón metabólico de la CBZ en esta franja etaria. Lo último debería ser más complicado de evaluar teniendo en cuenta la pequeña diferencia de edad entre ambos grupos (promedio de 9 y 28 años en niños y adultos respectivamente). Lo anterior no es evidente porque un mayor metabolismo presistémico debería haberse mostrado diferentes cocientes metabólicos comparados con los adultos.

- La autoinducción y heteroinducción de la CBZ no parecen estar relacionada con la concentración sistémica de la droga. No se encontró correlación entre el cociente metabólico y la concentración plasmática de CBZ para niños y adultos. Por lo tanto, la cantidad de CBZ que invade el enterocito y hepatocito luego de cada administración debería ser responsable del proceso de inducción, sin correlación con la concentración sistémica pero si con la dosis.
- En suma, nuestro estudio confirma la autoinducción metabólica con la administración crónica de CBZ y provee más elementos para sustentar una fuerte contribución de biodisponibilidad dosis-dependiente, además del clearance sistémico en la cinética no lineal de CBZ.

Del Capítulo 6 se desprende que:

- en la Fig. 6.2, se puede observar que existe una relación lineal entre las concentraciones salivales de DPA y la dosis diaria igual que sucede con las concentraciones libres de DPA.
- Una vez obtenidos los niveles salivales de DPA, se calculó el clearance, llamado clearance operativo como el cociente entre la dosis diaria y los niveles salivales de DPA.

De la Fig. 6.3, se desprende que los clearances salivales de DPA decrecen con la edad de los niños, lo cual es coherente, ya que el tamaño de los órganos en relación al tamaño corporal, como por ejemplo, el hígado, es mayor en niños más pequeños, por lo que la concentraciones serían más bajas y por consiguiente los clearances más elevados.

- Sí se observan los gráficos de las Fig. 6.2 y Fig. 6.4, son la misma curva, pero en la Fig.6.4, se compara sí los pacientes presentan control de sus crisis o por sí el contrario presentan crisis frecuentes. Además en la Fig. 6.5, se puede apreciar que la media de la dosis diaria de DPA para el grupo de niños controlados es de 21 mg/kg/día, mientras que el grupo con crisis frecuentes, la media de la dosis diaria es de 37 mg/kg/día, representa un incremento del 76.2%. Debería esperarse el mismo comportamiento para las concentraciones, pero en cambio la media de los niveles salivales de DPA para el grupo de pacientes con crisis muestra un incremento de un 116.7%, respecto al grupo de pacientes controlados. Entonces, cuando se tiene en cuenta la situación clínica de los pacientes, la relación concentración – dosis, se vuelve no lineal.
- Se obtuvieron niveles salivales más elevados de DPA, en pacientes en los cuales el no control de las crisis era frecuente.

Considerando ambas: la media en la edad de 6 años y la media en la dosis diaria de 30 mg/kg/día, debería esperarse que la concentración salival de DPA aumentara dos veces en niños en los cuales las crisis son frecuentes (diarias o semanales) en relación con el grupo de niños sin crisis. Se ha postulado que la epilepsia refractaria, podría estar asociada con una sobre-expresión de los transportadores de eflujo (*Lazarowski, A. et al. 2006*). Si los transportadores se sobre-expresan a todo nivel, se estaría dando lo que se esquematiza en la Figura 6.7: niveles más bajos en el sitio de acción y niveles plasmáticos más bajos ya que aumentaría el clearance de las drogas anticonvulsivantes al ser sustratos de estas bombas de eflujo.

- Sí esta hipótesis es la correcta ¿sería la glándula salival un lugar dónde estos transportadores de eflujo se sobre-expresan cuando estamos ante una epilepsia refractaria?
Si esta situación es real entonces los niveles salivales de DPA se incrementarían (ver Figura 6.8, representado con una flecha verde) y en el cerebro (o en el sitio de acción) deberían decrecer y en consecuencia en los pacientes aumentaría la frecuencia de las crisis. Por lo tanto niveles aumentados de fármaco en saliva y aumento de crisis podrían estar determinando una refractariedad de la epilepsia constituyéndose entonces la saliva como fluido biológico indicador de una posible refractariedad.

Del Capítulo 7, se puede observar:

- a pesar del bajo número de pacientes, que hay un cambio en la fracción libre del DPA. (ver Tabla 7.1)
- En la Fig. 7.2, se puede apreciar, que existe una relación lineal entre la concentración de DPA en ultrafiltrado de plasma, o sea droga libre circulante en plasma y la concentración salival de DPA. O sea que la saliva podría ser buen indicador del ultrafiltrado

- A su vez, se puede observar que la relación S/P es siempre menor que la relación ULT/P debido a el grado de ionización del DPA con su pka de 4.8.
- El cálculo de pH salival usando la ecuación de Henderson y Hasselbach podría no ser del todo correcto de acuerdo a lo expuesto ya que considera sólo difusión pasiva de droga a saliva y como expusimos anteriormente en otros capítulos de la tesis el DPA es sustrato de la P-gp y por lo tanto esta ecuación no sería del todo válida. Aún así, parecería ser que la estimulación con cítrico es buena para disminuir la variabilidad de pH.
- Por lo que con este resultado (a pesar del bajo número de pacientes obtenidos en este trabajo) se podría inferir que la saliva, es un buen fluido biológico, en el cual, estaríamos midiendo concentraciones que estarían relacionadas con las droga libre, siendo entonces la saliva adecuada para el monitoreo terapéutico de DPA.

9.2 PROYECCIÓN DE LA TESIS

De lo investigado en esta tesis, puede sugerirse como posible trabajo a continuar en la línea de investigación del DPA, en cuanto a incrementar el número de pacientes a los que se les determine las concentraciones en ultrafiltrado de plasma, saliva y plasma, para mejorar la correlación entre las concentraciones en ultrafiltrado de plasma y la salival.

En cuanto a la Epilepsia Refractaria o de difícil control, dado lo expuesto en esta tesis, se debe profundizar en el rol de los transportadores de membrana en la terapéutica farmacológica con las DAEs. También sería necesario recurrir a otras disciplinas, para poder fenotipificar isoenzimas del citocromo P-450, implicadas en el metabolismo de las DAEs.

Todas las investigaciones a realizar de aquí en más deben tender a individualizar aun más el binomio paciente-medicamento, para que los resultados a obtener, permitan ayudar al médico tratante poder estudiar mejor cada paciente y ajustar con más detalle las terapias medicamentosas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amidon G.L., Lennernas H., Shah V.P., Crison J.R. “A Theoretical Basis For a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability”. *Pharm Res* 12: 413-420 (1995).
- Armijo J.A. “Fármacos antiepilépticos y anticonvulsivos”. En Flórez J. “Farmacología Humana” 3ª edición, Capítulo 29, pp 493 – 497 (1999)
- Bartnicka L., Kurzawski M., Drozdziak A., Plonska-Gosciniak E., Gornik W., Drozdziak M. “Effect of *ABCB1* (*MDR1*) 3435C >T and 2677G >A, T polymorphisms and P-glycoprotein inhibitors on salivary digoxin secretion in congestive heart failure patients”. *Pharmacological reports* 59: 323 – 329 (2007)
- Battino D, Croci D, Rossini A, Messina S, Mamoli D, Perucca E. “Serum carbamazepine concentrations in elderly patients: a case-matched pharmacokinetic evaluation based on therapeutic drug monitoring data”. *Epilepsia* 44(7): 923-929 (2003)
- Bernus I, Dickinson RG, Hooper WD, Eadie MJ. “Dose –dependent metabolism of Carbamazepine in humans”. *Epilepsy Res* 24(3): 163-172 (1996)
- Cardot J.M., Degen P., Flesch G., Menge P., Dieterle W. “Comparison of plasma and saliva concentrations of the active monohydroxy metabolite of oxcarbazepine in patients at steady state”. *Biopharm. Drug Disp.* 16: 603 – 614 (1995)
- Cloyd J.C.; Leppik L.I.E. “Valproic Acid Therapeutic Use and Serum concentration Monitoring”. In Taylor W.J.; Finn A.L. (editors). *Individualizing Drug Therapy. Practical Applications of Drug Monitoring.* GROSS, TOWNSEND, FRANK, INC. Vol 2 pp 87-108 (1981)
- Drozdziak M., Mysliwiec K., Lewinska-Chelstowska M., Banach J., Drozdziak A., Grabarek J. “P-glycoprotein drug transporter *MDR1* gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival overgrowth”. *J Clin Periodontol* 31: 758-763 (2004)
- Eichelbaum M., Tomson T., Tybring G., Bertilsson L. “Carbamazepine metabolism in man. Induction and pharmacogenetic aspects”. *Clin. Pharmacokinet.* 10: 80 – 90 (1985)
- Fagiolino P. “Farmacocinética y Terapéutica”. Asociación Pro-Fundación para el Progreso de la Química (FUNDAQUIM), 1999a.

- Fagiolino P. “Monitorización de Fármacos en saliva: Aplicaciones biofarmacéuticas, farmacocinéticas y terapéuticas”. Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC). Universidad de la República Oriental del Uruguay, 1999b
- Flesch G. “Overview of the clinical pharmacokinetics of oxcarbazepine”. *Clin. Drug Investig.* 24(4): 185 – 203 (2004)
- Garg SK, Kumar N, Bhargava VK, Prabhakar SK. “Effect of grapefruit juice on carbamazepine bioavailability in patients with epilepsy”. *Clin Pharmacol Ther.* 64(3):286-288 (1998)
- Gibbs MA, Hosea NA. “Factors affecting the clinical development of cytochrome P450 3A substrates”. *Clin Pharmacokinet* 42(11): 969-984 (2003)
- Giessmann T, May K, Modess C, Wegner D, Hecker U, Zschiesche M, Dazert P, Grube M, Schroeder E, Warzok R, Cascorbi I, Kroemer HK, Siegmund W. “Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans”. *Clin Pharmacol Ther.* 76(3):192-200 (2004)
- Gourlay S.G. & Benowitz N.L. “Arteriovenous differences in plasma concentration of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine nasal spray, and intravenous nicotine”. *Clin. Pharmacol. Ther.* 62: 453 – 463 (1997)
- Huffman D.H. “Relationship between Digoxin concentrations in serum and saliva”. *Clin. Pharmacol. Ther.* 17(3): 310 – 312 (1975)
- Korinthenberg R., Haug C., Hannak D. “The metabolization of carbamazepine to CBZ-10,11-epoxide in children from the newborn age to adolescence”. *Neuropediatrics.* 25: 214-216 (1994)
- Lam G. & Chiou W.L. “Determination of the steady-state volume of distribution using arterial and venous plasma data from constant infusion studies with procainamide”. *J. Pharm. Pharmacol.* 34: 132 - 134 (1982)
- Lazarowski A., Sevlever G., Taratuto A., Massaro M. and Rabinowicz A. “Tuberous sclerosis associated with MDR1 gene expression and drug-resistant epilepsy”. *Pediatr. Neurol.* 21: 731 – 734 (1999)
- Lazarowski A., Czornyj L., Lubieniecki F., Vázquez S., D’Giano C., Sevlever G., Taratuto A.L., Brusco A. & Girardi E. “Multidrug-Resistance (MDR) Proteins Develops Refractory Epilepsy Phenotype: Clinical and Experimental Evidences”. *Current Drug Therapy*, Vol. 1, N° 3, 291 – 309 (2006)

- Leppik I.E. “Contemporary Diagnosis and Management of the Patient with Epilepsy” Fourth Edition (1998)
- Lindhout D., Hoppener R.J.E.A., Meinardi H. “Teratogenicity of antiepileptic drug combinations with special emphasis on epoxidation (of carbamazepine)”. *Epilepsia* 25: 77-83 (1984)
- Löscher W. & Potschka H. “Role of Multidrug Transporters in Pharmacoresistance to Antiepileptic Drugs”. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 301, Issue 1, 7 – 14 (2002)
- Mac Kichan J.J., Kutt H. “Carbamazepine Therapeutic use and serum concentration monitoring”. In Taylor W.J., Finn A.L. (editors). *Individualizing Drug Therapy. Practical Applications of Drug Monitoring*. GROSS, TOWNSEND, FRANK, INC. Vol. 2 pp 1-25 (1981)
- Maines L.A., Antonetti D.A., Wolpert E.B., Smith C.D. “Evaluation of the Role of P-Glycoprotein in the Uptake of Paroxetine, Clozapine, Phenytoin, and Carbamazepine by Bovine Retinal Endothelial Cells”. *Neuropharmacology* 49:(5): 610-617 (2005)
- Matar K.M., Nicholls P.J., al-Hassan M.I., Tekle A.”Rapid micromethod for simultaneous measurement of oxcarbazepine and its active metabolite in plasma by high-performance liquid chromatography”. *J. Clin. Pharm. Ther.* 20(4): 229 – 234 (1995)
- Matin S.B., Wan S.H., Karam J.H. “Pharmacokinetics of Tolbutamide: prediction by concentrations in saliva”. *Clin. Pharmacol. Ther.* 16: 1052-1058 (1974)
- Olano I, Vázquez M., Fagiolino P. “Chronopharmacokinetics of carbamazepine and its metabolite 10, 11-epoxide”. *J. Pharm. Clin.* 17: 153-156 (1998)
- Olano I. “Estudio de los factores que afectan el metabolismo de los fármacos: Carbamacepina”. Tesis de Magister en Química, Capítulo 3 (1998)
- Ozdemir V. & Godard B. “Crossing the Blood-Brain Barrier: Integrating Scientific Innovation with Socio-Ethical Relection in Predictive Medicine”. *Psychiatric Times*. Vol. 24 N° 10: 1 – 3 (2007)
- Pelkonen O, Myllynen P, Taavitsainen P, Boobis AR, Watts P, Lake BG, Price RJ, Renwick AB, Gomez-Lechon MJ, Castell JV, Ingelman-Sundberg M, Hidestrand M, Guillouzo A, Corcos L, Goldfarb PS, Lewis DF. “Carbamazepine: a 'blind' assessment of CYP-associated metabolism and interactions in human liver-derived in vitro systems”. *Xenobiotica* 31(6): 321-343 (2001)

- Rettenmeier A.W., Gordon W.P., Barnes H. & Baillic T.A. “Studies on the metabolic fate of valproic acid in the rat using stable isotope technique” *Xenobiotica* 17 (10): 1147-1157 (1987)
- Raub T.J. “P-glycoprotein recognition of substrates and circumvention through rational drug design”. *Molecular Pharmaceutics* Vol.3, N° 1: 3 – 25 (2006)
- Rey A. “Epilepsia en la infancia”. En *BiblioMédica Ediciones. Temas de Neurología Infantil*. Delfino A, Scavone C. & González G. pp 77 – 80 (2006)
- Rouan M.C., Decherf M., Le Clanche V., Lecaillon J.B., Godbillon J. “Automated microanalysis of oxcarbazepine and its monohydroxy and transdiol metabolites in plasma by liquid chromatography”. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.* 658(1): 167 – 172 (1994)
- Schaiquevich P., Hermida M. & Rubio M.C. “La glicoproteína-P: implicancia en la farmacocinética y la farmacodinamia de drogas”. *Rev. Farm.* Vol. 148 N° 1:50 – 61 (2006)
- Schmidt-Nielsen B. “The pH in parotid and mandibular saliva”. *Acta Physiol. Scand.* 11: 104 – 110 (1946)
- Shiran M.R., Hassanzadeh-Khayyat M., Iqbal M.Z., Lagundoye O., Seivewright N., Lennard M.S., Tucker G.T., Rostami-Hodjegan A. “Can saliva replace plasma for the monitoring of methadone?” *Ther Drug Monit* 27: 580 - 586 (2005)
- Sisodiya S.M., Heffernan J. and Squier M.V. “Over-expression of P-glycoprotein in malformations of cortical development”. *Neuroreport* 10: 3437-3441 (1999)
- Sisodiya S.M., Lin W.R., Squier M.V. and Thom M. “Multidrug-resistance protein 1 in focal cortical dysplasia”. *Lancet* 357: 42 – 43 (2001)
- Sisodiya S.M., Lin W.R., Harding B.N., Squier M.V., Keir G. and Thom M. “Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy”. *Brain* 125: 22 – 31 (2002)
- Spina E, Martines C, Fazio A, Trio R, Pisani F, Tomson T. “Effect of Phenobarbital on the pharmacokinetics of Carbamazepine-10,11-epoxide, an active metabolite of Carbamazepine”. *Ther Drug Monit.* 13 (2): 109-112 (1991)
- Spina E, Pisani F, Perucca E. “Clinical significant pharmacokinetic drug interactions with carbamazepine. An update”. *Clin Pharmacokinet* 31(3): 198-214 (1996)
- Trileptal Novartis Pharmaceuticals Corporation. East Hanover, New Jersey 07936 (2005)

- Uematsu T., Yamaoka M., Matsuura T., Doto R., Hotomi H., Yamada A., Hasumi-Nakayama Y., Kayamoto D. “P-glycoprotein expression in human major and minor salivary glands”. *Arch Oral Biol* 46: 521 – 527 (2001)
- Yu H.Y. & Shen Y.Z. “Dose-dependent distribution volumes of total and unbound valproate in guinea-pigs: consequence of non-linear plasma protein binding”. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 17: 237-247 (1996)